

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Přírodovědecká fakulta**

**Fytolitová analýza v archeobotanickém výzkumu.  
Výpovědní hodnoty a limity metod na příkladu  
lokality Vestec u Chrudimi.**

Bakalářská práce

**Michaela Jirsová**

Školitel: Jaromír Beneš, doc. PhDr. Ph.D.

Konzultant: Mgr. Lenka Lisá, Ph.D., Mgr. Petra Houfková,  
Mgr. Jana Janáková

České Budějovice 2014

Jirsová, M. (2014): Fytolitová analýza v archeobotanickém výzkumu. Výpovědní hodnoty a limity metod na příkladu lokality Vestec u Chrudimi. [Phytolith analysis in archaeobotanical research. Values and limits of methods on the locality of Vestec u Chrudimi, Bc. Thesis, in Czech] - 54 p, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Anotace:**

Archaeobotanical studies and information about phytoliths are presented in the first part of the bachelor thesis. The infill of the Early Medieval storage pit was studied in the second part as the case study. Phytoliths were extracted from 8 layers of the infill and various morfotypes of the bulk phytoliths were observed. The concentrations of the phytoliths were counted across the layers. The morfotypes of the phytoliths of the Poaceae family were found. As a comparison with bulk phytoliths the thin section of the bottom of the pit was studied. Long cells phytoliths were predominantly observed in the thin section. Different phytoliths concentrations were utilized to interpret the origin of pit layers.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 12. 12. 2014

.....  
Michaela Jirsová

## **Poděkování**

Především bych chtěla poděkovat mému školiteli Jaromíru Benešovi, jenž si mě vzal pod svá ochranná křídla a poskytl mi skvělé zázemí a prostředky pro můj výzkum. Dále bych chtěla poděkovat Petře Houfkové, která byla vždy ochotná mi pomoci naprosto se vším. Janě Janákové děkuji za rady ohledně fytolitové extrakce. Lence Lisé patří můj dík za odbornou pomoc při pozorování výbrusů. Samozřejmě bych chtěla poděkovat členům mé rodiny, kteří mě vždy podporovali v tom, co dělám. Můj velký dík patří Tomáškoví, za jeho neutuchající podporu a motivaci.

## Obsah:

|   |    |
|---|----|
| 1. Úvod .....   | 1  |
| 2. Cíle práce .....   | 1  |
| 3. Literární rešerše .....                                  | 2  |
| 3.1 Historie výzkumu fytolitů .....                         | 2  |
| 3.2 Obecná charakteristika fytolitů .....                   | 3  |
| 3.3 Tvorba fytolitů v rostlinách.....                       | 4  |
| 3.4 Výskyt fytolitů napříč rostlinami a jejich orgány ..... | 5  |
| 3.5 Depozice fytolitů v půdě (tafonomie) .....              | 6  |
| 3.6 Morfologie fytolitů trav .....                          | 7  |
| 3.7 Systematika a nomenklatura fytolitů.....                | 9  |
| 3.8 Využití fytolitů v archeobotanice.....                  | 10 |
| 3.8.1 Zubní opotřebení, strava .....                        | 11 |
| 3.8.2 Keramika, artefakty .....                             | 12 |
| 3.8.3 Kultivace a domestikace plodin, jejich fytolity ..... | 13 |
| 3.8.4 Proměna a vývoj krajiny, různá prostředí.....         | 16 |
| 3.9 Extrakce fytolitů ze sedimentů.....                     | 17 |
| 3.10 Výbrus a fytolity .....                                | 18 |
| 3.11 Tvorba výbrusu .....                                   | 19 |
| 4. Metodika.....  | 20 |
| 4.1 Popis lokality.....                                     | 20 |
| 4.2 Odebrání vzorků, popis vrstev .....                     | 20 |
| 4.3 Extrakce fytolitů ze sedimentu.....                     | 23 |
| 4.4 Pozorování a rozřazení fytolitů .....                   | 24 |
| 5. Výsledky.....  | 26 |
| 5.1 Vzorky z profilu zásobnice .....                        | 26 |
| 5.2 Koncentrace fytolitů ve vzorcích .....                  | 28 |
| 5.3 Výbrus.....   | 29 |
| 6. Diskuze .....  | 30 |
| 7. Závěr.....   | 34 |
| 8. Přílohy .....  | 44 |

# 1. Úvod

Tato práce představuje první krok k mému odhalování světa fytolitů. Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. Teoretická část v podobě literární rešerše se věnuje obecným a známým informacím o fytolitech. Dále obsahuje přehled výzkumů, jež jsou spjaty s fytolity a fytolitovou analýzou. Praktická část se zabývá prvotním pozorováním a určováním morfotypů volných fytolitů a fytolitů *in situ* ve výbrusu v profilu raně středověké zásobnice z lokality Vestec u Chrudimi. V diskuzi jsou poté shrnuty výpovědní hodnoty a limity pozorování.

## 2. Cíle práce

1. Provést literární rešerši stávajících výzkumů rostlinných fytolitů v oblasti archeobotaniky.
2. Popsat jednotlivé metody separace volných fytolitů ze sedimentu, popsat metodu tvorby výbrusu.
3. Naučit se fytolitovou extrakci, pozorování a rozřazení fytolitů podle nalezených morfotypů na příkladu výplně jednoho objektu na lokalitě Vestec u Chrudimi.

### 3. Literární rešerše

#### 3.1 Historie výzkumu fytolitů

Struktury fytolitů byly badatelům známy již od první poloviny 19. století. G. A. Struve se v roce 1835 jako první zabýval fytolity v živých rostlinách. Důležitý německý vědec, který se zasloužil o klasifikaci a vymezení názvu fytolity (phytolitharia – rostlinný kámen) byl C. G. Ehrenberg v roce 1845. Z celého světa mu byly dovezeny půdní vzorky, ve kterých pozoroval křemičité útvary. Tomuto vědci dokonce poslal vzorky prachu obsahujícího fytolity Charles Darwin z jeho cest poblíž Kapverdských ostrovů (Prychid et al. 2003).

Začátek 20. století znamenal rozmach studia fytolitů v Německu. Několik německých autorů získalo fytolity z těl živých rostlin a začali studovat morfologii, tvorbu a taxonomii těchto struktur. Badatelé označili a popsali fytolity z kapradin, trav, kopřiv a jiných dvouděložných rostlin (Powers 1992). V roce 1908 v ruské oblasti Tell Anau provedl H. C. Schellenberg první fytolitovou analýzu pro archeologické účely (Gol'jeva 2001). H. C. Schellenberg a F. Netolitzky byli schopni rozeznat fytolity takových kulturních plodin jako je ječmen (*Hordeum* spp.), pšenice (*Triticum* spp.) a proso (*Panicum* spp.) v keramických nádobách a v depozitech popela. S příchodem druhé světové války se výzkum, stejně jako v ostatních odvětvích, zastavil (Piperno 2006).

Po druhé světové válce se výzkumem morfologie fytolitů a využitím při paleoenvironmentálních rekonstrukcích začali zabývat badatelé z anglofonních zemí - USA, Velká Británie, Austrálie (Parry & Smithson 1964; Powers 1992). Twiss et al. 1969 představil 4 hlavní skupiny morfotypů vyskytujících se v 17 druzích čeledi Poaceae z oblastí Velkých prérií. Díky těmto skupinám a jejich srovnání s nalezenými fytolity ze sedimentů a ze vzdušného prachu dokázal určit vzdálenost k místu uložení zkoumaných fytolitů. V roce 1971 I. Rovner vydal publikaci, jež představila fytolity co by nástroj pro paleoekologické rekonstrukce. Postupně se začaly identifikovat fytolity z listnatých a jehličnatých stromů (Twiss 1987).

V 80. letech minulého století se hlavně v Severní Americe pracovalo na detailnějším poznávání a srovnávání fytolitů mezi širokou škálou rostlinných taxonů. O fytolitech jako ukazatelích historie prostředí, domestikace a využití rostlin uvažovali S. Bozarth (1987), D. R. Piperno (1984) a D. M. Pearsall (1989). Stálou tvorbu fytolitů v kapradinách, jednoděložných a dvouděložných rostlinách poznatelných do nižších taxonů

dokazují studie probíhající v těchto obdobích. Badatelé také zjistili, že plody a semena tvoří taxonomicky významné fytolity, které se nevyskytují na jiných místech rostlin. Studie se detailně zabývaly rozeznáváním fytolitů úrodných amerických bylin jako například kukuřice (*Zea mays*), tykev (*Cucurbita* spp.) a maranta (*Maranta arudinacea*), (Piperno 2006).

V této době se rozbíhal výzkum neotropické oblasti Střední a Jižní Ameriky z pohledu spojitosti mezi paleoekologií pravěkých sídel a fytolitových pozorování v archeologii (Piperno & Becker 1996; Piperno 1998). V 90. letech bylo zřejmé, že fytolity jsou velmi přínosné nejen v rekonstrukci vegetačního krytu daných oblastí, ale i v interpretaci využití rostlin člověkem. V dalších letech až do současnosti dochází k detailnějšímu zkoumání a klasifikování fytolitů po celém světě (Alexandre et al. 1997; Kelly et al. 1991).

### 3.2 Obecná charakteristika fytolitů

Slovo „phytolith“ pochází z řeckého „rostlinný kámen“ a značí neorganickou složku rostlin. Tyto složky mohou být tvořeny z mineralizovaných látek jako například sloučeniny křemíku nebo vápníku. Nejčastější sloučeninou je amorfní oxid křemičitý ( $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Mezi mnoha skupinami se tvoří i vápenaté fytolity, a to konkrétně ze šťavelanu vápenatého ( $\text{Ca}(\text{COO})_2$ ) nebo z uhličitanu vápenatého ( $\text{CaCO}_3$ ) (Danielson & Reinhard 1998; Simpson & Volcani 1981). Piperno 2006 uvádí, že křemičité fytolity jsou známy pod mnoha různými názvy, např. opálové fytolity, rostlinné opály, rostlinné krystaly a opálový oxid křemičitý.

Fytolity jsou tedy anorganická tělesa tvořená v buněčném lumenu, podél buněčných stěn, v mezibuněčných prostorech epidermu, mezofylu nebo v epidermálních elementech rostlin. Mohou být tvořeny napříč všemi orgány mnoha taxonů rostlin (Bonnet 1972; Epstein 1994; Alexandre et al. 1996).

Velikost fytolitů se pohybuje mezi 5-200  $\mu\text{m}$ , většina z nich má průměr 10-30  $\mu\text{m}$ . Jejich hustota činí 1,5-2,3  $\text{g}/\text{cm}^3$ . Díky obsahu i jiných prvků než pouze křemíku v buňkách, jsou tyto prvky (hliník, železo, mangan, hořčík, fosfor, dusík, měď a uhlík) začleněny do kostry fytolitů. Přítomnosti izotopů uhlíku (nestabilní  $^{14}\text{C}$ , stabilní  $^{12}\text{C}$  a  $^{13}\text{C}$ ) se využívá při radiokarbonových datacích (Kelly et al. 1991; Piperno 2006).

### 3.3 Tvorba fytolitů v rostlinách

Křemík je v půdě zastoupen v průměrné koncentraci 0,1 – 0,6 mM. Koncentrace se může lišit díky odlišnému prostředí půd, minerálnímu složení půd a jiným neživým faktorům. Biotické faktory se také podílí na variabilní koncentraci křemíku v půdě (Epstein 1994). Křemičitany jsou v půdě rozloženy na kyselinu křemičitou ( $\text{Si(OH)}^4$ ), anebo záporné ionty kyseliny křemičité ( $\text{Si(OH)}^3^-$ ), (Currie & Perry 2007).

Tyto látky si rostliny sbírají z půdního prostoru pomocí kořenů (Vuorela 1991) a díky vzestupnému proudu jsou dopravovány do nadzemních orgánů rostlin, nejčastěji do buněk jejich epidermu (Simpson & Volcani 1981). Zde za příznivých podmínek dochází k polymerizaci kyseliny křemičité na amorfni oxid křemičitý ( $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Polymerizace je nevratná, tudíž vytvořený oxid křemičitý je dále přemístován a ukládán v této formě. Po smrti rostliny amorfni oxid nabírá tvaru buněk a mezibuněčných prostor a odráží tak anatomii a morfologii rostliny (Currie & Perry 2007; Vuorela 1991).

Vápenaté fytolity jsou tvořeny ze sloučenin šťavelanu vápenatého (oxalát) a uhličitanu vápenatého. Obsah vápníku je v rostlině ovlivněn díky pH půdy a dostupností  $\text{Ca}^{2+}$  v půdním prostoru (Bauer et al. 2011). Ionty vápníku se dostávají do xylému kořene přes cytoplazmu buněk a mezibuněčné prostory. Transpirační proud poté vynáší vápník do stonku a listů (White & Broadley 2003).

Šťavelan vápenatý je přítomný v buňce zvané idioblast, kde je ukládán ve vakuole nebo v buněčné stěně. Idioblasty se většinou nachází v epidermis a parenchymu nejčastěji listů a stonků. Idioblasty mohou nabývat různých tvarů, jakými jsou například rafidy, styloidy drúzy, krystalický písek a hranolovitý tvar. Oxaláty se vyskytují například u čeledí Polygonaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae (Mullholand & Rapp 1992a; Bauer et al. 2011). Šťavelan v rostlině vzniká buď oxidací glycinu z oxalacetátu (meziprodukt Krebsova cyklu) nebo z glykolátu (White & Broadley 2003).

Uhličitan vápenatý tvoří tzv. cystolity. Mají podobu krystalů, které jsou uchyceny v buňce lithocystu. Lithocysty jsou vytvářeny již v děložních lístcích při klíčení rostliny. Nejvíce se vyskytují v epidermálních buňkách. Lithocysty se vyskytují u čeledí Acanthaceae, Urticaceae, Moraceae, Boraginaceae, Cucurbitaceae a Canabaceae (Bauer et al. 2011).



### 3.4 Výskyt fytolitů napříč rostlinami a jejich orgány

Jak již bylo řečeno, vytvořené fytolity odrážejí tvar buňky nebo elementu, ve kterém se křemík vyskytoval. Reflektují tak skladbu pletiv rostliny (Mulholland & Rapp 1992a). Fytolity se vyskytují v širokém spektru taxonů rostlin. Mohou být tvořeny napříč všemi rostlinnými orgány a částmi. Výskyt fytolitů napříč rostlinami nemá podle badatelů žádný daný model produkce, avšak co se velikosti fytolitů týče, Golokhvast a kol. (2014) tvrdí, že primitivnější typy rostlin (řasy, lišejníky) mají větší fytolity než složitější a vývojově pokročilejší typy.

V důsledku putování křemíku do listů díky transpiračnímu proudu a následné transpiraci vody z listů rostliny, je většina fytolitů tvořena právě v listech. Fytolity se samozřejmě vyskytují i v ostatních orgánech, ale ve výrazně se lišících množstvích (Rovner 1971). Mezi jednotlivými orgány rostlin dochází k úměrné přítomnosti fytolitů. Obecný výskyt fytolitů mezi orgány rostliny je následovný. Nejvíce fytolitů se, jak již bylo řečeno, vyskytuje v listech. Ve stoncích může být tvořeno až dvakrát méně fytolitů než v listech. V kořenech jsou fytolity vytvářeny minimálně, avšak v hlízách a rhizomech mohou být přítomné identifikačně významné fytolity (Piperno & Pearsall 1998). U krytosemenných rostlin, jež mají vysoký obsah fytolitů ve vegetativních orgánech, se fytolity vyskytují i v generativních orgánech, i v semenech a plodech. V generativních orgánech se povětšinou vyskytují jiné tvary fytolitů než v listech, a proto mají vysoký taxonomický význam (Piperno et al. 2002).

Produkcí fytolitů mezi rostlinnými taxony velmi dobře shrnula Piperno (2006). U kaprad'orostů, jež mají značnou míru silicifikace, se vyskytují fytolity elongátního a sférického typu a mohou být rozeznatelné do rodů i druhů. Nahosemenné rostliny nemají tak vysokou míru silicifikace. Diagnostické fytolity se vyskytují v jehlicích, naopak v epidermu se vyskytují fytolity podobné dlouhým buňkám trav. Čeleď Pinaceae může být rozpoznána na základě fytolitů tracheid s otisky dvojteček ve stěnách (Bozarth 1993). Výskyt fytolitů u taxonů bazálních jednoděložných se různí. Čeleď Amborellaceae a taxony vodních lilí v naprosté většině nejsou silicifikované. Naopak diagnostické sférické, elongátní a nepravidelné fytolity se vyskytují u čeledí Magnoliaceae a Annonaceae (Piperno 2006). Primitivní jednoděložné rostliny produkují nevelké množství fytolitů. Ve skupinách odvozených jednoděložných rostlin se začalo formovat velké množství diagnostických fytolitů. Tyto typy fytolitů se v naprosté většině nevyskytují u

dvouděložných rostlin. U dvouděložných rostlin dochází k tvorbě fytolitů hlavně v trichomech a bázích trichomů, v semenech a plodech. Dvouděložné rostliny také produkují fytolity sklerenchymu a sklerenchymových vláken (Rudall et al. 2014).

### **3.5 Depozice fytolitů v půdě (tafonomie)**

Rostliny po své smrti podléhají rozkladným procesům v půdě. Tyto procesy mohou ovlivnit nejen nahromadění a uložení fytolitů v půdě, ale i jejich morfologii (Madella & Lancelotti 2012). Mezi tafonomické procesy řadíme nekrolýzu, biostratinomii a fosilní diagenезi. Průběh těchto procesů je zobrazen na Obr. 1. Nekrolýza zahrnuje rozklad odumřelé rostliny na části a dezintegraci mrtvé rostlinné hmoty. Biostratinomie představuje procesy po odumření rostliny a predepozici stávk. Fosilní diagenезi se rozumí chemické, fyzikální a biologické vlivy působící na půdní prostředí a ovlivňující fytolitové uložení (Madella & Lancelotti 2012; Osterrieth et al. 2007).

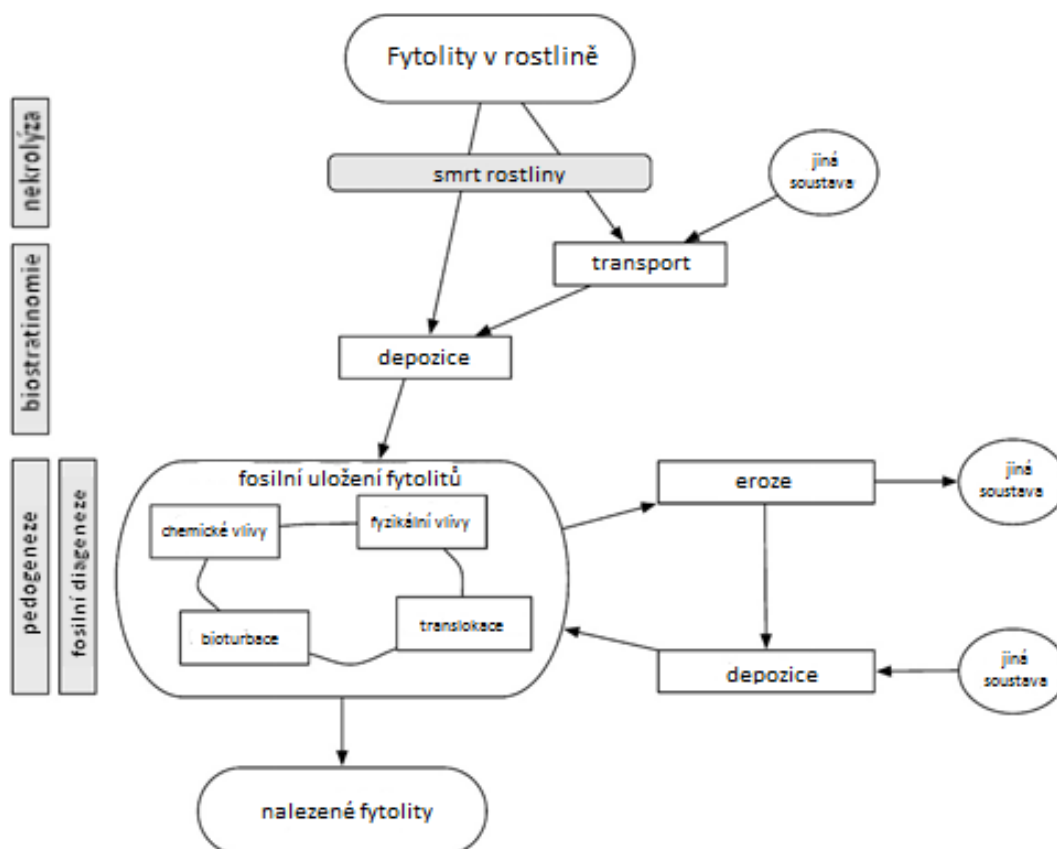
Fytolity se v půdním profilu nezachovávají ve stoprocentním stavu, často bývají pozměněny, nebo úplně zničeny (Cabanes et al. 2011). Na této skutečnosti se podílí mnoho faktorů, například chemismus půdy. Fytolity jsou schopné odolat velkému rozpětí pH v prostředí. Avšak alkalické pH (8-10) se pro ně stává neúnosným, tudíž se v tomto prostředí začínají rozpouštět. Ionty obsažené v půdním roztoku také zasahují do přeměny podoby fytolitů. Ionty vápníku, draslíku, železa a sodíku vytvářejí na povrchu fytolitů nerovnosti a způsobují jejich větší náchylnost ke zvětrávání. Wu a kol. (2014) provedli analýzu, při které dokázali, že obsah určitých prvků (vápník, draslík a hořčík) ve fytolitech z rýže ovlivňuje deformaci jejich povrchu při extrémních teplotách. Čím méně křemíku je obsaženo ve fytolitech, tím mají větší rozpustnost (degradace povrchu při >700°C).

Chemické látky působí na fytolity v brzké době po uložení a s půdní hloubkou jejich činnost klesá (Osterrieth et al. 2007; Cabanes et al. 2011). Osterrieth a kol. při svém výzkumu v roce 2007 v jihoamerických pampách dokázali, že fytolity s většími rozměry jsou více náchylné na poškození než fytolity s menším povrchem.

Vodní prostředí je také velice důležité při zachování fytolitů. Cabanes a kol. (2011) uvádí, že rozpouštění fytolitů závisí na přítomnosti vody napojené na fytolity. Fytolity s navázanými molekulami vody se rozpouští pomaleji, než fytolity v prostředí bez vody.

Půdní mikroorganismy jako například houby a bakterie mohou napomoci k rozvolnění fytolitů z nahlučených epidermů a agregátů (Watteau et al. 2001).

Stabilitu a konzervaci fytolitů také ovlivňuje míra silicifikace. Rostliny během své smrti nemusí mít buňky zcela silicifikované. Tyto buňky poté snadněji podléhají negativním vlivům (Albert et al. 2006).

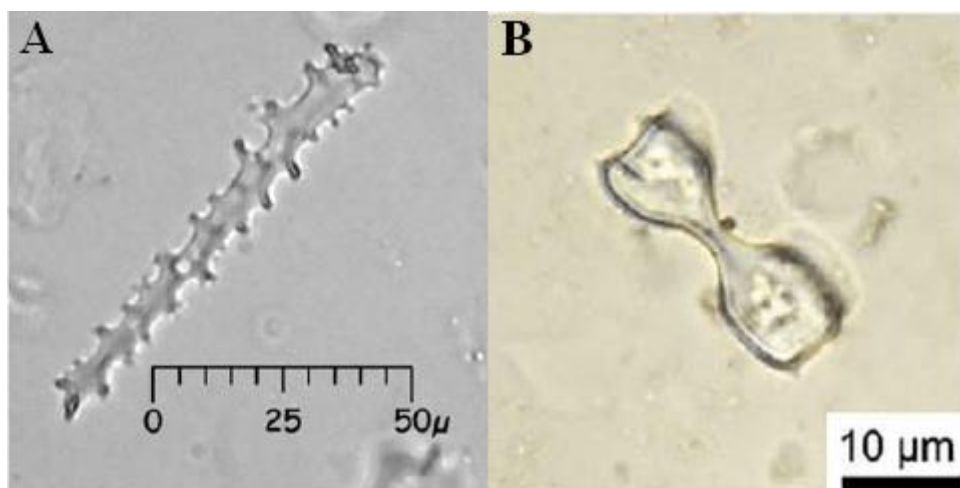


Obr. 1: Schéma tafonomických procesů v půdním prostoru (upraveno podle Madella & Lancelotti 2012).

### 3.6 Morfologie fytolitů trav

V dnešní době nejkoumanějšími fytolity jsou fytolity z čeledi Poaceae (Prychid et al. 2003). V epidermu taxonů trav jsou tvořeny dvě morfologické skupiny fytolitů: dlouhé buňky - LC (long cells, elongate cells) a krátké buňky - SC (short cells, silica bodies). Příklady podob těchto fytolitů jsou zobrazeny na Obr. 2. Obě skupiny fytolitů jsou tvarově velmi variabilní (Pearsall 1989; Twiss 1969; Piperno 2006). Krátké buňky jsou taxonomicky klíčovými fytolity. Tyto fytolity se vyskytují převážně v prostoru mezi dlouhými buňkami.

Dlouhé buňky jsou obecně považovány za identifikačně méně důležité, jelikož se vyskytují u naprosté většiny taxonů nejen trav, a to v těžko od sebe rozpoznatelných detailech. Dlouhé buňky mají obvykle tvar podlouhlého kvádrů. Mohou mít vlnkovaný, ostnatý, zoubkovaný nebo hladký povrch a jejich okraje jsou buď zakulacené, rovné, šikmé nebo konvexního tvaru (Pearsall 1989; Twiss et al. 1969). Mezi dlouhé buňky jsou také řazeny buliformní buňky neboli „bulliform, fan-shape cells“, dále buňky trichomů, trnů, papil a průduchů.



Obr. 2: A) LC - spiny, B) SC – dumbbell, bilobate (upraveno podle Pearsall et al. 2003, Neumann et al. 2009).

S první významnou a dosud v určité míře používanou systematikou fytolitů trav přišel P. C. Twiss v roce 1969. Analýzou 17 druhů préríjních trav Severní Ameriky určil čtyři hlavní kategorie morfotypů, jež obsahovaly 26 typů fytolitů. Tyto kategorie jsou Panicoid, Festucoid, Chloridoid, Elongate class. První tři kategorie jsou tvořeny morfotypy krátkých buněk a podle autora odráží tři dominantní podčeledi Poaceae.

Skupiny morfotypů podle Twiss a kol. (1969):

Panicoid je skupina fytolitů vyskytujících se u taxonů podčeledi Panicoideae. Morfotypy této skupiny jsou typy „cross“, „crenate“ a různé modifikace tvaru „bilobate“ (dumbbell). Taxony jsou teplomilné a vlhkomilné rostliny s C<sub>4</sub> metabolismem.

Festucoid zahrnuje fytolity taxonů podčeledi Festucoideae neboli Pooideae. Do této skupiny byly zařazeny morfotypy „circular“, „rectangular“, „elliptical“ a „oblong“. Podle

P. C. Twisse taxony z této skupiny tedy mají společnou ekologii vlhkých a studenějších stanovišť a patří mezi C<sub>3</sub> rostliny.

Chloridoid skupina je tvořena morfotypy z podčeledi Chloridoideae, jejíž morfotypy jsou „saddle-shaped“. Tyto taxony mají C<sub>4</sub> metabolismus a vyskytují se v suchých až semiaridních oblastech.

Elongate class je tvořena morfotypy dlouhých buněk vyskytujících se u všech zkoumaných trav.

Vymezení těchto skupin a jim odpovídajících morfotypů není ale úplně přesné. Twissova studie nezahrnovala všechny známé taxony z čeledi Poaceae. Během dalších studií bylo zjištěno, že existuje mnoho deviací od Twissova rozdělení, respektive že některé morfotypy z určité skupiny (např. bilobates ze skupiny Panicoid) se vyskytují i v jiné skupině (ve skupině Festucoid i Chloridoid), (Piperno & Pearsall 1998; Kerns 2001). Kvůli tomuto faktu se nynější autoři snaží o přesnější charakteristiku fytolitů rodů a druhů trav pomocí morfometrických vlastností a metody diskriminační analýzy (Piperno 2006).

### 3.7 Systematika a nomenklatura fytolitů

Klasifikace a nomenklatura fytolitů dodnes nemá pevně ustanovený systém. Badatelé od minulého století velmi pokročili v pojmenování a určování fytolitů z mnoha taxonů rostlin, ačkoliv celkové možnosti a výpovědi fytolitové analýzy jsou neustále odhalovány (Ball et al. 2009). První klasifikace byly prováděny podle náčrtů tvarů nalezených fytolitů v epidermu listů rostlin. Většina autorů se soustředila na fytolity jednoděložných rostlin, avšak dvouděložné rostliny byly také studovány na přítomnost a variabilitu fytolitů (Twiss 1987). Významný pokrok k určování divokých druhů a domestikovaných variet rodu *Zea* učinili D. R. Piperno a D. M. Pearsall (viz. kapitola 3.8.3.1.).

V roce 2005 Madella a kol. představili mezinárodní klíč k nomenklatuře fytolitů (ICPN 1.0), za účelem sjednocení pojmenování a popisu fytolitů mezi badateli. Protokol zahrnuje popis tvaru, povrchu, ornamentace, symetrie, náčrtek a morfometrická data fytolitu. Klíč předkládá názvy a tvary známých a běžných morfotypů.

Existují dva zásadní problémy, které dodnes ztěžují klasifikaci fytolitů. Prvním problémem je tzv. redundance produkce fytolitů. Velmi obdobné formy fytolitů se mohou vyskytovat

v mnoha odlišných taxonech rostlin. Druhým problémem je multiplicita. V různých částech rostliny se mohou vyskytovat podobné morfotypy fytolitů (Shillito 2013).

K přesnému určení taxonu, ze kterého fytolit pochází, dnes napomáhají dvě hlavní metody. Těmito metodami jsou typologie (určení morfotypu) a morfometrie fytolitu. Typologie zahrnuje údaje o tvaru prostoru, v němž byl fytolit vytvořen (morfotypy krátkých a dlouhých buněk, trichomů, papil, průduchů, ohýbacích buněk). Morfotypy mohou být určujícím faktorem pro rozlišení mezi taxony na úrovni čeledí (Ball et al. 2009).

Morfometrie je druhou důležitou metodou k určování původu fytolitu. Hlavním morfometrickým znakem je měření různorodých rozměrů fytolitu (délka, šířka, plocha, obvod). Dalšími parametry jsou například kulatost, pravidelnost nebo konvexnost. Morfometrie napomáhá k určování fytolitů u blízce spojených taxonů ale i rostlinných orgánů, které produkují stejný typ fytolitů, ale liší se v právě zmíněných parametrech, jako je tomu například u rodu *Zea*. Parametry u jejího „cross“ morfotypu se různí mezi jednotlivými druhy (Ball et al. 2009; Pearsall 1989). Morfometrické vlastnosti se dnes zjišťují pomocí různých měření, ale stále více je uplatňována metoda diskriminační analýzy. Ve specializovaném programu je vytvořena maska (přesný obrys) sledovaného fytolitu, a tím je automaticky zjištěno přes dvacet jeho morfometrických parametrů. Tyto parametry mohou být srovnány mezi velmi podobnými fytolity odlišných nižších taxonů a být tak přínosem v determinaci fytolitů (Out et al. 2014).

### **3.8 Využití fytolitů v archeobotanice**

Během posledních tří desetiletí se využití fytolitové analýzy v různých vědních oborech neustále rozrůstá. V archeobotanice jsou fytolity významným zdrojem informací, například pro zjištění rozšíření rostlin, rozvoje zemědělství, ekonomického přínosu a použitelnosti polních rostlin, zdomácnění a užití rostlin v čase, využití nástrojů, pro popis parametrů keramiky, dále pro zjišťování kulturních proměn osídlovaných oblastí, vztahů mezi technologií, ekonomikou a lidskými skupinami (Piperno 2006). Uvedu zde studie, ve kterých fytolity byly důležitým prvkem výzkumů.

### 3.8.1 Zubní opotřebení, strava

Křemičité a oxalátové částičky přítomné na lidských zubních a kosterních ostatcích z archeologických nalezišť se stále častěji využívají k antropologickému výzkumu (Henry & Piperno 2008).

Baker a kol. (1959) označili křemík za možný důvod opotřebení zubní skloviny (enamel) přežvýkavců díky jeho tvrdosti a odolnosti. Ciochon a kol. (1990) studovali fytolity zachované na zubní sklovině vyhynulého asijského hominoida *Gigantopitheca blacki*. Vnější stavba čelistí hominoida vykazovala rysy pro vláknitou rostlinnou stravu s patrným obsahem fytolitů. Fytolity byly navázané na sklovinu díky tření a tlaku při žvýkání jedince. Díky své tvrdosti způsobovaly škrábance, ve kterých se také zachytávaly. Fytolity na zubech odrážely složení stravy *G. blacki*. Nalezeny byly hlavně fytolity z čeledi Moraceae, typické pro oblast zalesněných biotopů Asie. Rostliny z této čeledi mají vysoký obsah cukru. Tato informace koreluje s faktem, že u druhu *G. blacki* byl nalezen větší počet zubních kazů.

Fox a kol. (1996) pozorovali fytolity nalezené na zubech lidských koster u škrábanců v zubním kameni v oblasti naleziště Tarragona ve Španělsku. Velikost škrábanců v desítkách mikrometrů odpovídá rozmezí velikosti fytolitů (2-100  $\mu\text{m}$ ), badatelé se tudíž domnívají, že škrábance na zubech byly způsobeny přítomnými fytolity. Limitací bylo zařazení některých fytolitů do čeledí díky morfologickým změnám při diagenézi (změna pH, teploty, chemikálie v půdě).

Danielson a Reinhard (1998) se domnívali, že tvrdé oxalátové fytolity způsobovaly opotřebení zubní skloviny a vypadávání zubů u původních obyvatel regionu Pecos (Texas). Studovali 14 lidských koprolitů z doby 500 let př. n. l. až 1000 let n. l. V těchto částečně petrifikovaných exkrementech našli značné množství oxalátových fytolitů. Jelikož v devadesátých letech nebyla žádná databáze oxalátových fytolitů v USA k dispozici, srovnávali nalezené fytolity s fytolity moderních rostlin, které se v regionu Pecos nacházejí. Bylo zjištěno, že nalezené oxalátové fytolity se vyskytují u rodů opuncie *Opuntia* a agáve *Agave*, sukulentních rostlin Střední Ameriky a pouštních oblastí USA. Lovci a sběrači tedy zřejmě hojně konzumovali tyto rostliny, jež pravděpodobně velmi napomohly k ničení povrchu zubů a jejich vypadávání.

Reinhard a Danielson (2005) ve svém výzkumu dále pokračovali. Podařil se jim náhled do stravy pěti prehistorických populací žijících na území Texasu nedaleko od sebe. Dvě populace byly lovci a sběrači a zbylé tři populace již pěstovaly kulturní plodiny (kukuřice *Zea mays*). Výzkum odhalil spojitost mezi amortizací zubů obyvatel a jejich stravou. Dvě sběračské populace měly více opotřebené zuby, jelikož konzumovaly více sukulentních rostlin s oxalátovými fytolity. Pěstitelé měli zubní opotřebení menší.

Fytolitová analýza může být využita i v dnešní moderní době. Hodson a kol. (2001) na svém výzkumu ukázali příklad využití fytolitové analýzy při rozborech potravin. Díky porovnání průměru papil a množství otvorů v papilách epidermu u těstovin rozeznali, z jaké pšenice byly vyrobené studované těstoviny. Pšenice obecná *Triticum aestivum* má na rozdíl od pšenice tvrdé *Triticum durum* (tzv. semolina) větší průměr papil a více otvorů.

### 3.8.2 Keramika, artefakty

Díky zachování fytolitů na různých archaických nástrojích a keramice se dnes můžeme dozvědět mnoho věcí o jejich výrobě a funkci, kterou ve své době plnily (Piperno 2006).

Kealhofer a kol. (1998) zahrnují fytolitovou analýzu do svého výzkumu používání obsidiánových nástrojů na Papue (Nová Guinea). Chtěli zjistit, zda fytolity ve spojení s dalšími archeologickými rozbory doplní informace o používání artefaktů. Nástroje byly z archeologického hlediska uloženy v kyselých vulkanických půdách této tropické oblasti. Povrchy náčiní obsahovaly značné množství rostlinných fytolitů. Výsledky fytolitové analýzy z vrstev profilu a výsledky z mikroskopové analýzy nástrojů dovolily autorům zrekonstruovat chronologii jejich používání během doby od 10. století př. n. l. do 1 100 př. n. l. Z výsledků výzkumu bylo zjištěno, že fytolitová analýza může významně přispět k pochopení používání kamenných nástrojů v průběhu času.

Piperno a kol. (2009) v Mexiku zkoumali, zda tamní obyvatelé pěstovali kukuřici *Zea mays* a tykev *Cucurbita sp.* v době přibližně 9000 let př. n. l. Divoké rostliny mají více silifikované fytolity a větší tloušťku než kultivované typy. Na artefaktech (mlýnky na obilí, kamenné nástroje) byly nalezeny méně silifikované tenčí fytolity a škrobová zrna neměly charakteristiku teosintu, tedy planého předka kukuřice. Piperno a její kolegové tímto výzkumem potvrdili časový rámeček rané domestikace kukuřice a tykve v holocénu.



Evropští badatelé Saul a kol. (2013) provedli fytolitovou analýzu zuhelnatělých částí ve varných hrncích z pravěkých sídlišť v Dánsku a Německu, aby zjistili případné používání koření na území Evropy v době kamenné. Hrnce byly datovány do doby 6 000 – 3 500 př. n. l. Analýza odhalila větší množství fytolitů uvnitř hrnců než vně, což dokazuje používání rostlin při vaření. Z koření byl nalezen česnáček lékařský *Alliaria petiolata*, který je znám svým výrazným aroma a léčivými vlastnostmi. Výzkum ukázal lidský zájem v obohacení chuti a vůně pokrmů.

### 3.8.3 Kultivace a domestikace plodin, jejich fytolity

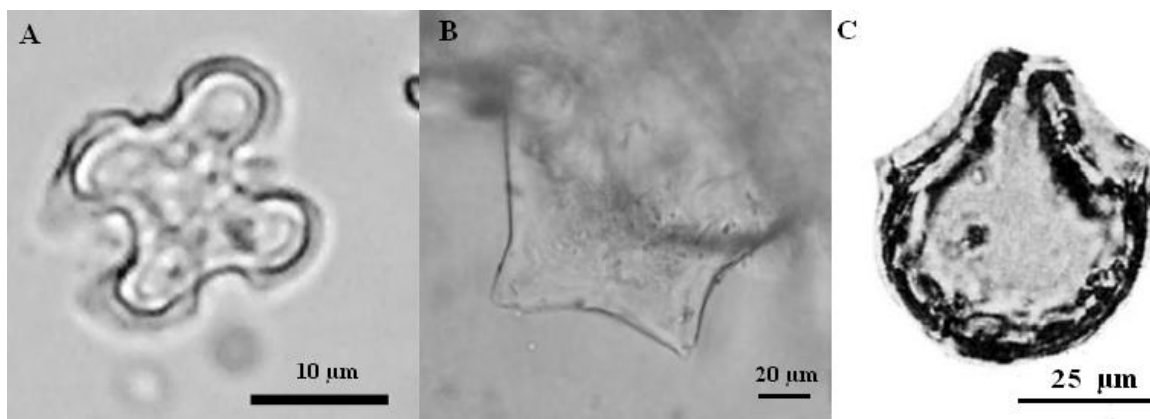
Bádání po geografických centrech a časových obdobích kultivace a domestikace kulturních plodin je stále ve svém průběhu a fytolitová analýza během posledních dvou desetiletí velice přispěla k odhalení počátků zemědělství na celém světě (Piperno 2006). Uvedu zde studie, které napomohly k bližšímu určení místa a doby domestikace či kultivace a také uvedu výzkumy, jež přispěly k rozeznávání fytolitů příbuzných a sobě si podobných kulturních plodin.

#### 3.8.3.1 Kukuřice

Kolébkou kultivace kukuřice je oblast Mexika. Uváděné časové rozmezí kultivace kukuřice je 9 300 – 7 000 př. n. l. (Matsuoka et al. 2002; Pohl et al. 2007). Hancock (2004) tvrdí, že blízkými příbuznými kukuřice je několik druhů rodu *Tripsacum* a pět poddruhů teosintu. Právě poddruh teosintu *Zea mays* subsp. *parviglumis*, rostoucí v údolích jihozápadního Mexika, je označován za předka dnešní domestikované *Zea mays* (Doebley 1990; Matsuoka et al. 2002).

K rozlišení *Zea mays* subsp. *parviglumis*, *Zea mays* a rodu *Tripsacum* byly nejdříve používány rostlinné makrozbytky. Ty se ale v určitých půdách nezachovají. Badatelé si tudíž osvojili techniku rozeznávání pylových zrn. Tato metoda není ale stoprocentní. Zrna rodu *Tripsacum* mají odlišnou morfologii než ostatních dvou rostlin, avšak *Zea* a teosint jsou si velmi podobné (Bryant 2007). *Zea* se od teosintu dá velmi dobře rozlišit díky jejím fytolitům v květu, plevách a listenech (Piperno 2006). Pearsal (1978) vyvinula metodu poznávání fytolitů kukuřice založenou na odlišných attributech tzv. „cross-shaped“ fytolitů, což jsou fytolity tvaru tlustšího kříže (Obr. 3). Atributy k rozeznání těchto fytolitů jsou jejich délka a šířka a zároveň jejich poměr. Další techniku k určování představila Piperno

(1984). Technika 3D struktury kříže rozlišuje „cross-shaped“ fytolity na základě nejen délky a šířky ale také celkového tvaru a morfologie povrchu (Pearsall 1989). K bližšímu rozeznání je vhodné použít spolu s fytolitovou analýzou také analýzu škrobových zrn (Holst et al. 2007).



Obr. 3: A) Jedna z variant „cross-shape“ fytolitu v *Zea mays*. B) „Double peaked“ fytolit rodu *Oryza*. C) „Bulliform“ fytolit rodu *Oryza* (upraveno podle Lu et al. 2002, Iriarte et al. 2004, <sup>1</sup>).

### 3.8.3.2 Rýže

Domestikace rýže (rod *Oryza*) probíhala na území jižní Číny přibližně v době pozdního pleistocénu a raného holocénu. *Oryza* ve svých plevách vytváří specifické fytolity nazývané „double-peaked“ (Obr 2). Rozlišení mezi domestikovanou a divokou rýží je složité a vyžaduje přesné měření tvarů a délky těchto fytolitů (Zhao et al. 1998). Dalšími fytolity, které pomáhají k rozlišení rodu *Oryza* od rodů jí příbuzných, jsou „bulliform“ fytolity (Piperno 2006). Tyto fytolity jsou tvořeny mnoha taxony rostlin, avšak charakteristickým znakem buliformních fytolitů rodu *Oryza* je dekorace na spodním lemu fytolitů (Lu et al. 2002).

V Japonsku byl v roce 1999 proveden výzkum pěstování rýže okolo 5 000 let př. n. l. Ze sedmi míst oblasti Jiangsu byly analyzovány střepy keramiky, jež byly zahřáty na teplotu >700 °C. I po zahřátí fytolitů na velmi vysokou teplotu došlo k zachování morfologických charakteristik. Na 5 ze sedmi míst bylo nalezeno velké množství dochovaných fytolitů rýže (Udatsu et al. 1999).

Wu a kol. 2014 provedli výzkum evoluce kultivace a pěstování rýže v Číně. Výzkum byl realizován ve třech archeologických nalezištích poblíž řeky Yangtze. Změřením parametrů

u typických fytolitů rodu *Oryza* získali výsledky, jež poukazují na postupnou evoluci plané rýže na rýži domestikovanou během období 12 000 př. n. l. až 7 000 př. n. l.

Kvůli nepřítomnosti přesných radiokarbonových datací u posledních dvou výzkumů, nemůžeme považovat dataci za plně dokázanou. Přesně datované studie uvádějí, že nepochybný výskyt domestikované rýže spadá do období kolem 4 500 let př. n. l. (Beneš 2013).

Na území Severní Ameriky v oblasti velkých jezer byla a v některých oblastech stále je jednou z hlavních plodin vodní rostlina rodu *Zizania*. Sayers a kol (1998) díky fytolitové analýze posunuli začátek používání této rýže podobné rostliny. Ve zbytcích keramických nádob z doby před 3000 př. n. l. objevili přítomné fytolity druhu *Zizania palustris*.

### 3.8.3.3 Pšenice

Fytolitová analýza dosud nebyla použita pro bližší určení doby a místa kultivace pšenice. U této obiloviny bych chtěla tedy uvést studie zabývající se rozeznáním rodu pšenice od ostatních Gramineae a odlišením mezi různými druhy pšenice od sebe samých.

Ball et al. 1999 vytvořili klíč k rozeznání fytolitů z listenů květenství u druhů pšenice *Triticum monococcum*, *T. dicoccon*, *T. dicoccoides* a *T. aestivum* a u druhů ječmene *Hordeum vulgare* a *H. spontaneum*. Na základě 18 morfometrických parametrů několika typů fytolitů (báze trichomů, papily, tzv. dendriform) dokáží od sebe uvedené obiloviny spolehlivě rozlišit. U pšenice jsou důležité hlavně morfometrické vlastnosti bází chlupů.

Berlin et al. 2003 provedli mikrozbytkovou studii nádob v komplexu budov na lokalitě Tel Kedesh na hranici Libanonu a Izraele. Důležitým přínosem této studie z hlediska fytolitové analýzy je potvrzení a obohacení klasifikačního klíče ve studii Ball et al. 1999 (uvedená výše) k určení druhů rodu *Triticum* a rozeznání od rodu *Hordeum*. Fytolity byly rozeznávány na základě typologických a morfometrických analýz určitých morfotypů, fytolitů papil, bází trichomů. Druhy rozpoznatelné ve studii Ball et al. 1999 byly díky tomuto výzkumu obohaceny o druh *T. durum*, jehož fytolity mají menší průměrnou délku a obvod než u druhu *T. aestivum*.

### 3.8.3.4 Banánovník

Místem domestikace banánovníku (rod *Musa*) je jihovýchodní Asie. Období domestikace zatím není jasné, ale jistě je to o několik tisíc let zpět (Hancock 2004).

Hranici kultivace rodu *Musa* v centrální Africe posunul Mindzie a kol. (2001). Studovali 11 odpadních jam v osídlení Nkang (Kamerun) a v nejspodnější vrstvě profilu našli fytolity z čepele listu rodu *Musa*. Do této doby nebyly divoké exempláře tohoto rodu v Africe objeveny. Datování vzorků bylo stanoveno na 2500 let př. n. l.

#### 3.8.4 Proměna a vývoj krajiny, různá prostředí

Výzkumy v oblasti proměny prostředí v průběhu času jsou velmi důležitou součástí novodobé vědy. Fytolity jsou velmi důležitým indikátorem minulého i současného prostředí v mnoha regionech a díky jejich téměř dokonalému zachování jsou neocenitelným nástrojem při výzkumech a paleoekologických rekonstrukcích v sedimentech, kde nebyly dochovány jiné mikro- nebo makrozbytky (Thorn 2006). Těmito sedimenty jsou například bažiny, rašeliniště, nebo jezerní sedimenty (Piperno 2006).

V roce 1997 provedl Alexandre a kol. v oblasti afrického Senegalu a Konga fytolitovou analýzu pro paleoenvironmentální rekonstrukci. Díky zachovalým fytolitům v 6 metrové hloubce dna jezera Guiers v Senegalu a v 3 metrové hloubce dna jezera Sinnda v Kongu dokázali rekonstruovat vývoj vegetace a změny klimatických podmínek zkoumaných oblastí. Jezero Guiers bylo v období od 6 000 - 2 000 let př. n. l. obklopeno lesní vegetací s vysokostébelnými trávami. Od doby 2 000 let př. n. l. docházelo k nahrazování tohoto typu vegetace za krátkostébelnou, jež se zde vyskytuje v dnešní době. Lokalita okolo jezera Sinnda se měnila během minulosti následovně. Kolem 4 000 – 1 200 let př. n. l. se v této oblasti vyskytovala suchomilná vegetace a nahrazení hustého lesa nízkostébelnou savanou. Od 1 000 let př. n. l. se vegetace mění na vysokostébelnou savanu přecházející v savanový les, jež značí vlhčí klimatické podmínky. Keře a vysokostébelné trávy vyskytující se na tomto území v dnešní době, se zde začaly objevovat přibližně od 700 let našeho letopočtu.

Tsutsuki a kol. (1992) zkoumali chemické sloučeniny (mezi nimi i fytolity), které se vyskytovaly v bažinném profilu poblíž města Shirasu v Japonsku. Ve vrstvách zjistili různé zastoupení fytolitů rostlin. V nejspodnější vrstvě (okolo 8 000 př. n. l.) byly zachované hlavně fytolity rodu *Zizania* spp., *Moliniopsis japonica*, tedy rostliny vyskytující se v mokřadním prostředí s anaerobními podmínkami. Ve vrstvě z doby okolo 6 000 př. n. l. byly nalezeny morfotypy rodu *Phragmites* spp., jež obývá vlhká až bažinná stanoviště.

Vrstva s datováním doby přibližně 4 000 př. n. l. obsahovala značné množství fytolitů bambusu rodu *Pleioblastus* spp., což pravděpodobně indikuje sušší podmínky na této lokalitě. Ve vrstvě okolo 2 000 let př. n. l. jsou znovu přítomné fytolity z *Phragmites* spp. a *Moliniopsis japonica*, tedy mokřadní rostliny.

### 3.9 Extrakce fytolitů ze sedimentů

Do dnešní doby bylo vyzkoušeno a provedeno mnoho způsobů extrakce fytolitů z různých typů půd a sedimentů. Naprostá většina těchto extrakcí má společný základní krok, a to separaci fytolitů pomocí těžké kapaliny o určité hustotě. Před použitím těžké kapaliny jsou většinou provedeny metody rozvolnění fytolitů a precizního oddělení od částic půdy (Twiss et al. 1969; Rovner 1971; Carbone 1977; Madella et al. 1998; Horrocks 2005).

V prvních fázích extrakce dochází k odstranění jílu, karbonátů a organické hmoty (Madella et al. 1998). Pro odstranění agregátů jílu bývá používán buď 5% roztok Calgonu (hexametafostát sodný), nebo hydrogenuhličitan sodný. Autoři doporučují působení těchto látek po dobu nejméně 8 hodin, nejvhodněji 24 hodin. K eliminaci uhličitanů je do vzorku přidána zředěná kyselina chlorovodíková. Zahřátím (<40°C) se reakce urychlí. Organická hmota může být rozpuštěna 30% peroxidem vodíku, kyselinou dusičnou, kyselinou sírovou, chlorečnanem draselným a spálením materiálu v muflové peci (Rosen 2001). Pořadí těchto kroků se u většiny autorů různí, avšak ovlivnění výsledků kvůli odlišné hierarchii nebylo dosud zaznamenáno (Piperno 2006).

Dalším důležitým krokem je sedimentace částic v gravitačním poli neboli odstranění malých a lehkých jílovitých částic. Jedná se většinou o odstranění částic menších než 5 µm (Pearsall 1989). Jelikož sedimentace v gravitačním poli je časově dosti náročná, je doporučeno použít centrifugaci vzorků mezi jednotlivými kroky extrakce, čímž se dosáhne stejného výsledku jako při použití sedimentace, jen za kratší časový úsek (Lentfer & Boyd 1999).

K oddělení fytolitů od těžší frakce slouží těžká kapalina o specifické hustotě. V minulosti byly nejčastěji používanými kapalinami bromoform, tetrachlormethan, bromid zinečnatý, roztok jodidu draselného a jodidu kademnatého a polywolframan sodný (Piperno 2006). Většina z těchto kapalin je silně toxická (Obr. 4). Polywolframan sodný je hojně používaný pro jeho netoxicitu. Další výhodou této sloučeniny je její recyklace (Madella et al. 1998).

Hustota těžké kapaliny pro extrakci fytolitů se pohybuje v rozmezí 2,3 – 2,4 g/cm<sup>3</sup>. Takto vysoká hustota zajistí vyplavení fytolitů, jejichž hustota se pohybuje od 1,5 – 2,3 g/cm<sup>3</sup>, nad kapalinu a jejich snadný sběr. Přidáním destilované vody nebo ethanolu k nahromaděným fytolitům v poměru 2,5:1 a následná centrifugace zajistí usazení fytolitů a odstranění zbytků těžké kapaliny ze vzorků (Rovner 1971).

| Používané chemikálie             | Hustota (g/cm <sup>3</sup> ) | Toxické/Nebezpečné |
|----------------------------------|------------------------------|--------------------|
| Bromoform a aceton               | 2·3                          | ano                |
| Bromoform a tetrachlormethan     | 2·232/2·319                  | ano                |
| Tetrabromethan a ethylalkohol    | 2·3                          | ano                |
| Jodid draselný a jodid kademnatý | 2·3                          | ano                |
| Bromid zinečnatý                 | 2·3                          | ano                |
| Polywolframian sodný             | 2·3                          | ne                 |
| Polywolframian sodný             | 2·4                          | ne                 |

Obr. 4: Hustota a toxicita používaných těžkých kapalin (upraveno podle Madella et al. 1998).

Po separaci fytolitů z těžké kapaliny je důležité opláchnutí finálního materiálu v acetonu nebo ethanolu. Dále je možné buď zalít fytolity pomocí montovacího média na laboratorní sklíčko, nebo je skladovat v ethanolu pro jejich lepší manipulaci, pozorování a určování (Pearsall 1989).

Extrakce může být v určitých situacích doplněna o nezbytné kroky. Například před přidáním těžké kapaliny je v sedimentech s nadměrným množstvím organického materiálu (rašeliny) doporučeno použít 10% roztok hydroxidu draselného (KOH) k odstranění půdních koloidů. Doporučené, avšak fakultativní je také prosívání materiálu síty o určitých rozměrech k oddělení větších částic ze zkoumaného sedimentu (Carbone 1977; Pearsall 1989).

### 3.10 Výbrus a fytolity

Výbrusy jsou používány především v mikromorfologii zabývající se pedogenezí, složením půd a antropogenní zásahy. Výbrus je nejčastěji 30 µm široký plát půdy připevněný na sklíčko pomocí pryskyřice. K pozorování charakteristik minerálů ve výbrusech je používán polarizační mikroskop (Němeček a kol. 2001, Bajer & Lisá 2014).

Ve výbrusech se mohou objevovat částice značící různé aktivity, ať už lidské nebo zvířecí. Například přítomnost vápenatých jehlicovitých útvarů může indikovat předešlou přítomnost domácích přežvýkavců, jelikož vápenaté sférolity pocházejí ze zažívacího traktu těchto živočichů (Albert et al. 2008). Výskyt zvířecího trusu samozřejmě naznačuje přítomnost zvířat na zkoumaném místě. Díky nalézaným fytolitům nashromážděných v trusu může být určena přesná strava těchto zvířat (Tsartsidou et al. 2008).

Nashromáždění fytolitů ve vrstvách výbrusu může také mít vysokou výpovědní hodnotu. Nahuštěné fytolity vytvářející souvislé vrstvy mohou odrážet například intenzivní sešlap (Shahack-Gross et al. 2005).

### **3.11 Tvorba výbrusu**

Ze sedimentu je odebrán kvádr o určité velikosti podle požadovaného rozměru výbrusu (139 x 67 x 3 mm, 110 x 76 x 3 mm, 75 x 50 x 3 mm, 58 x 42 x 3 mm, 75 x 26 x 3 mm). Základním krokem k tvorbě výbrusu je vysušení vzorku. Odstranění veškeré vody je důležité pro následné použití hydrofobní pryskyřice. Vysušení může být provedeno pomocí vysoušeče, trouby nebo nahrazením vody jinou kapalinou mísitelnou s pryskyřicí (aceton). Poté je provedena impregnace kvádrů pomocí epoxidové pryskyřice. Kvádry jsou položeny do hliníkové formy a následně dány do vakuové komory. V komoře je do vzorků přilita pryskyřice (Polylite 32032-00, Epoxy MY750, PEG 8000) a vzorky jsou ponechány ve vakuu přes noc<sup>2;3</sup>. Kvádr je poté upraven pomocí brusné frézy do požadované velikosti budoucího výbrusu s tloušťkou přibližně 1 cm. Takto vzniklý plát je nalepen na podložní sklo pomocí pryskyřice. Dále je provedeno odřezání a broušení plátu na sklíčku. Zbroušením je plát minimalizován na velikost 30  $\mu\text{m}$ . Na výsledný plátek materiálu je nakonec pomocí pryskyřice nalepeno krycí sklo<sup>3,4</sup>.

## 4. Metodika

### 4.1 Popis lokality

Místem odebrání vzorků byla lokalita Vestec II, jež byla předmětem záchranného archeologického výzkumu I/37 Chrudim obchvat, úsek Medlešice – križ. I/17 – 1. a 2. etapa. Lokalita Vestec II leží na západě od vesnice Vestec u Chrudimi. Zde bylo nalezeno více jak 259 zahloubených archeologických objektů datovaných do širokého intervalu od mladší doby kamenné (6. tisíciletí př. n. l.) až po 16. století našeho letopočtu. Předmětem mé bakalářské práce je profil objektu zásobnice (objekt číslo 24). Zásobnice (obilnice) pochází z konce 12. až počátku 13. století tedy mladohradištního období raného středověku (Obr. 5) a jedná se funkčně o zahloubenou (hloubkovou) obilnici (Kunc 2004, Musil 2012).

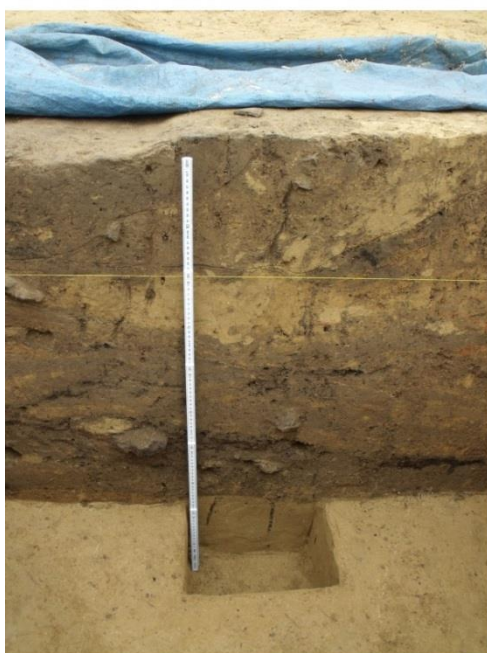
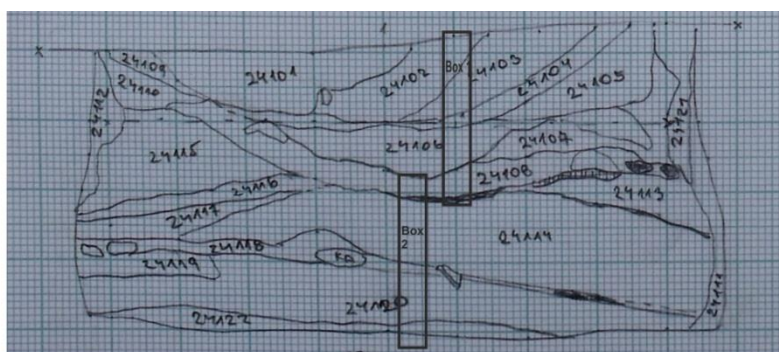


Obr. 5: Fotografie mladohradištní zásobnice z lokality Vestec II (foto vedoucí výzkumu Jan Musil).

### 4.2 Odebrání vzorků, popis vrstev

Vzorky sedimentu byly odebrány Jiřím Bumerlem v roce 2011 do dvou plechových kvádrů o velikosti 50x10x10 cm z půdního profilu o hloubce 100 cm (Obr. 6). Barva sedimentu byla porovnána se podle Munsellových tabulek barevnosti půd (*Munsell soil color charts* - rok vydání 2000, revidovaná edice), (Tab. I).





Obr. 6: Profil mladohradištní zásobnice a profil s odebranými kvádry (foto Jiří Bumerl).

|          | Číslo vrstvy | Subjektivní popis vrstvy                                  | Barva vrstvy podle Munsella |
|----------|--------------|---|-----------------------------|
| vzorek 1 | 24102        | šedohnědá okrová hlína, skvrny okrové spraše              | 10YR - 4/3                  |
| vzorek 2 | 24103        | okrová spraš promíchaná se šedou hlínou                   | 10YR - 6/3                  |
| vzorek 3 | 24106        | okrová spraš promíchaná se šedou hlínou                   | 10YR - 7/4                  |
| vzorek 4 | 24108        | středně šedá prachová hlína, skvrny okrové spraše         | 10YR - 5/3                  |
| vzorek 5 | 24114        | sv. šedá prachová hlína s proplástky tmavé okrové hlíny   | 7.5YR - 5/3                 |
| vzorek 6 | 24120        | tm. šedá okr. hlína s proplástky a ččkami tm. okr. spraše | 10YR - 3/2                  |
| vzorek 7 | 24122        | tmavá okrovo oranžová spraš                               | 7.5YR - 3/1                 |
| vzorek 8 | 120          | podloží   | 7.5YR - 3/4                 |

Tab. I: Popis barevnosti vrstev podle Munsellovy škály barevnosti a její subjektivní posouzení.

Odebrání vzorku na tvorbu výbrusu bylo provedeno v roce 2012 z kvádrů Vestec II box 2. V boxu byl tento vzorek odebrán v hloubce 3 – 9 cm od spodního okraje kvádrů na rozhraní podloží a báze objektu. Vzorek sedimentu byl uschován do malé krabičky o velikosti 6x4x2 cm (Obr. 7) a pečlivě zabalen. Tvorba výbrusu byla provedena v laboratoři Julie Boreham v Cambridge.



Obr. 7: Fotografie odebrání vzorku pro tvorbu výbrusu (foto Jiří Bumerl).

### 4.3 Extrakce fytolitů ze sedimentu

Pro fytolitovou extrakci byl použit upravený postup podle Madella et al. 1998, na základě dostupnosti a toxicity chemikálií a časové náročnosti metody.

Použité chemikálie:

7% kyselina chlorovodíková (HCl)

5% hexametafosfát sodný ( $\text{NaPO}_3$ )<sub>6</sub>

33% peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

polywolframnan sodný o specifické hustotě 2,33 g/cm<sup>3</sup> ( $\text{Na}_6[\text{H}_2\text{W}_{12}\text{O}_{40}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ )

methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )

98% ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )

Postup extrakce:

1. Pro fytolitová pozorování byly odebrány čtyři vzorky z Boxu 1 a čtyři vzorky z Boxu 2 z vrstev, které se na první pohled lišily barvou i strukturou dle popsaných stratigrafických vrstev.
2. Vzorky byly poté zváženy, vysušeny v sušičce na 40°C po dobu 11 hodin a znovu zváženy.
3. Do 100 ml kádinek se sedimentem bylo přidáno 25 ml 7% kyseliny chlorovodíkové. K lepšímu působení kyseliny byly kádinky nechány přes deset minut zahřáté na 40°C. Po vychladnutí byl sediment postupně přenášen po 5 ml do 15 ml zkumavek, byla přidána destilovaná voda a poté vzorky centrifugovány (centrifuga Hettich universal 16) vždy po 3 minuty při 1000 otáčkách za minutu. Po odstranění supernatantu byla ještě dvakrát přidána destilovaná voda, vzorek promíchán a centrifugován.
4. Do zkumavek s peletem byl přidán 5% roztok hexametafostátu sodného, vzorky byly promíchány třepačkou a nechány přes noc. Poté bylo 3krát provedeno zatřepání, centrifugace (3 min. při 1000 ot/min) a slití supernatantu.

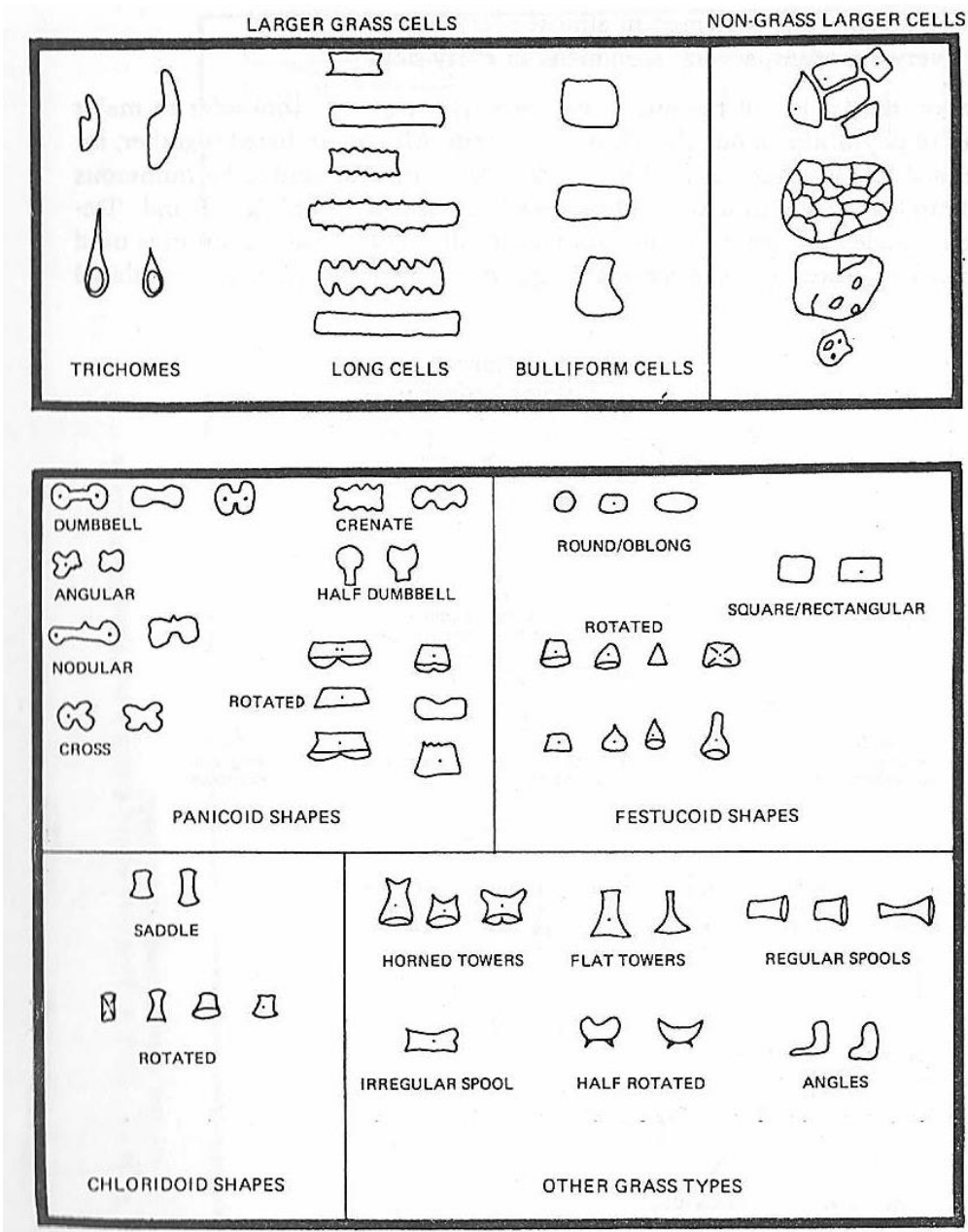
5. Po odlití byl do zkumavek dodán 33% roztok peroxidu vodíku, došlo k lehkému protřepání a vzorky byly opět ponechány přes noc při působení chemikálie. Po uplynutí předepsané doby byla 3krát provedena centrifugace (3 min. při 1000 ot/min) a odlití supernatantu.
6. Do sedimentu bylo poté přidáno 7ml polywolframanu sodného o specifické hustotě  $2,33 \text{ g/cm}^3$ , vzorky byly protřepány a centrifugovány (3 min. při 1000 ot/min). Fytolity vyplavené nad kapalinu byly kapátkem opatrně odebrány do nové zkumavky. Do zbylého sedimentu byla opět přidána těžká kapalina, znovu provedena centrifugace a sebrání zbývajících fytolitů. Do frakce s fytolity byla přilita destilovaná voda v poměru 1:2,5, aby hustota roztoku ve zkumavce byla nižší než  $1,5 \text{ g/cm}^3$ . Poté byla provedena centrifugace (3 min. při 1500 ot/min) a opatrné slití supernatantu.
7. V posledním kroku extrakce byl do residua přidán methanol, provedeno zatřepání a následná centrifugace (3 min. při 1500 ot/min). Tento krok byl zopakován. Pro skladování extrahovaných fytolitů byl do zkumavek přilít 95% ethanol.

#### **4.4 Pozorování a rozřazení fytolitů**

Fytolity byly pozorovány světelným mikroskopem Nikon eclipse 80i při zvětšení 200x, pro detailnější zkoumání bylo použito zvětšení 400x. Fotografie nalezených fytolitů byly pořizovány kamerou Nikon DS-Fi1. Pro určení morfotypů fytolitů ve vzorcích byla použita klasifikace a nomenklatura podle Twiss et al. 1969, Pearsall 1989 a Madella et al. 2005.

Reprezentativní počet napočítaných fytolitů na sklíčku se u autorů různí. V této práci byl použit upravený postup (Obr. 8) podle D. M. Pearsall 1989 (str. 392-394), který je zaměřený na morfotypy z čeledi Poaceae. Na každém mikroskopickém sklíčku bylo napozorováno a rozřazeno do morfotypů nejméně 200 krátkých buněk (SC) fytolitů. Výsledné cifry byly poté přepočteny na procentuální zastoupení. Spolu s SC fytolity bylo v každém vzorku napočítáno přesně 100 dlouhých buněk (LC) morfotypů.

Koncentrace identifikovatelných fytolitů byla vypočítána pomocí rozpuštění tří kontrolních lycopodiových tablet do každého vzorku (Stockmarr 1971).



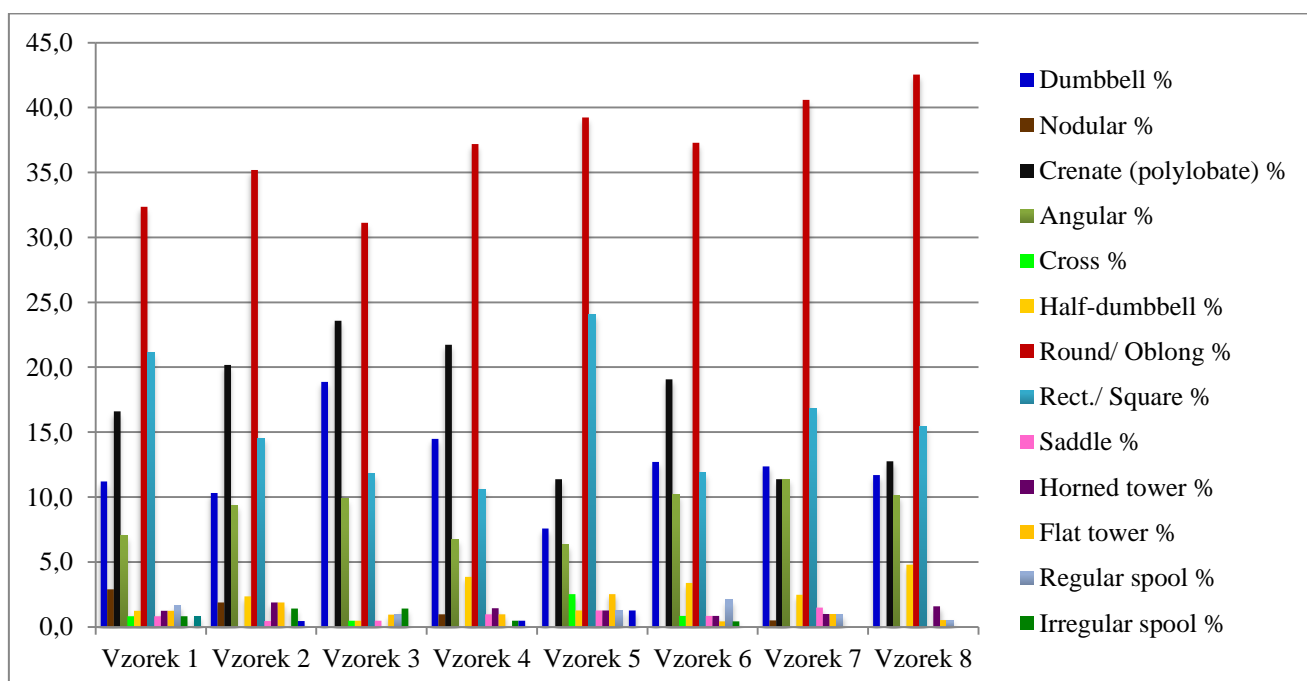
Obr. 8: Klasifikační systém, jehož úprava byla použita při pozorování fytolitů (podle Pearsall 1989).

## 5. Výsledky

### 5.1 Vzorky z profilu zásobnice

Ve vzorcích bylo nalezeno přes 200 fytolitů z čeledi Poaceae. Ve vzorcích č. 5 a č. 8 se nepodařilo napočítat 200 fytolitů na sklíčku. Příloha č. 2 obsahuje výsledné procentuální zastoupení morfotypů SC fytolitů.

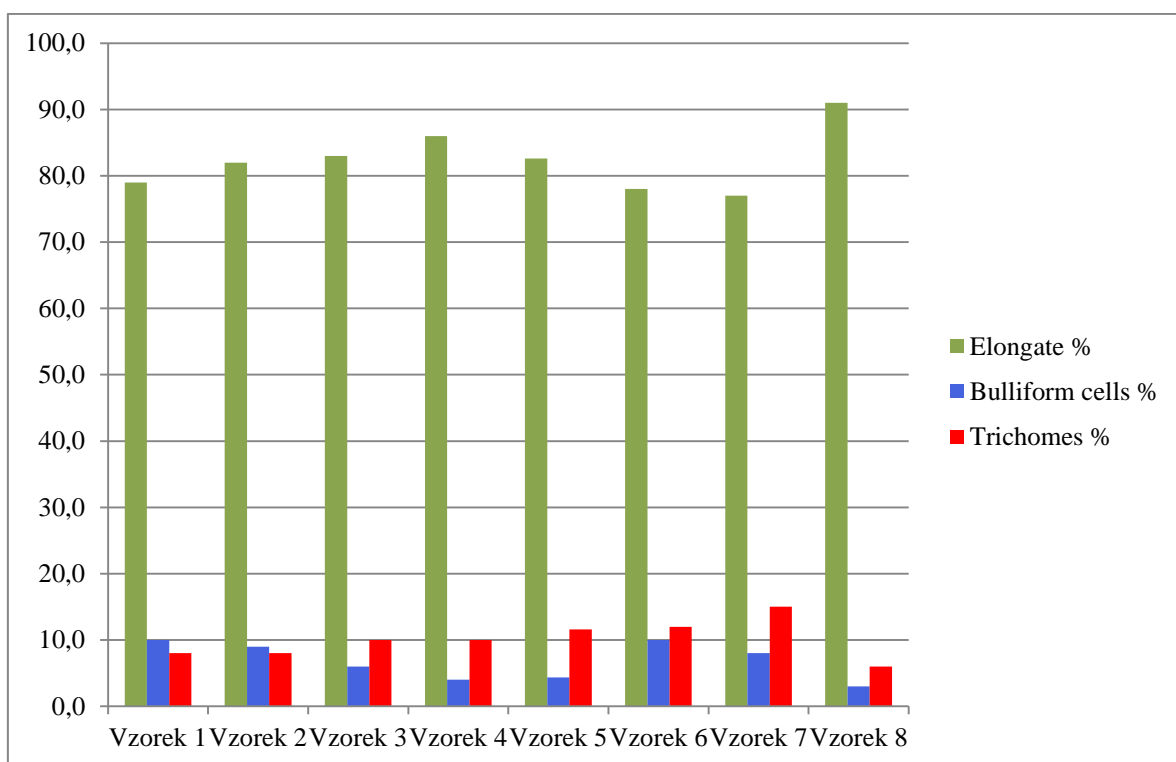
Na Obr. 9 jsou vyobrazeno procentuální porovnání nalezených morfotypů SC v jednotlivých vzorcích.



Obr. 9: Procentuální porovnání jednotlivých morfotypů SC ve vzorcích.

Největší zastoupení ve vzorcích tvořil morfotyp Round/Oblong. Dále bylo nalezeno velké množství fytolitů Crenate (polylobate) morfotypu. Častými typy byly také Rectangular/Square, Dumbbell a Angular. Fotografie nalezených morfotypů jsou zobrazeny v příloze č. 5.

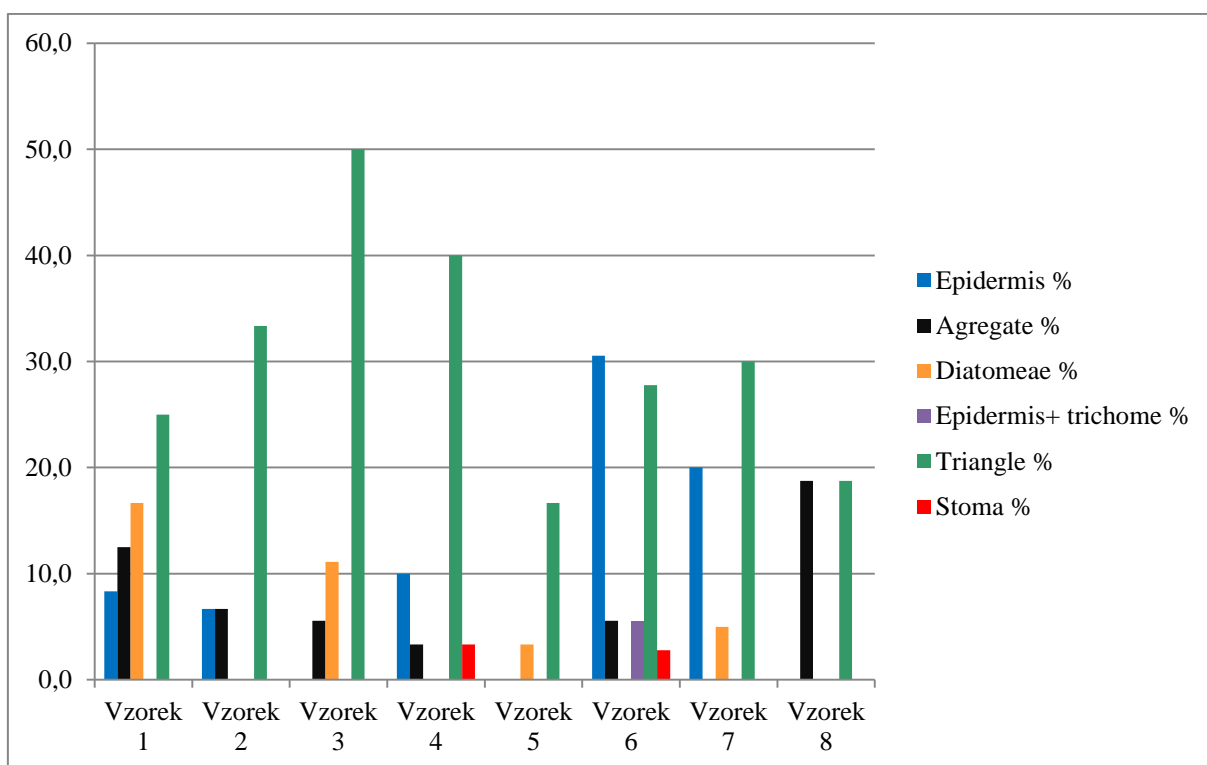
Příloha č. 3 a Obr. 10 zobrazuje procentuální zastoupení LC fytolitů ve vzorcích.



Obr. 10: Procentuální zastoupení LC ve vzorcích. U každého vzorku N=100.

V každém vzorku bylo napočítáno nejméně 70 LC morfotypů ze sta. Fytolity trichomů byly dalšími částicemi nalezenými ve vzorcích. Bulliform cells neboli ohýbací buňky byly přítomny poskrovnu ve všech vzorcích. Fotografie fytolitů dlouhých buněk jsou zobrazeny v příloze č. 5.

Příloha č. 4 a Obr. 11 představuje ostatní nalezené morfotypy ve vzorcích.



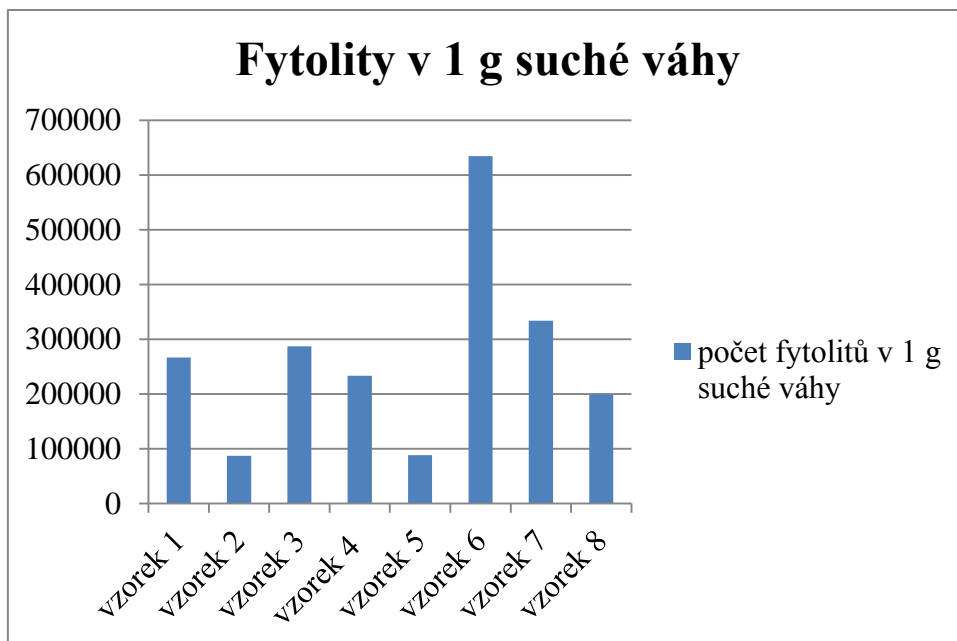
Ob. 11: Procentuální zastoupení ostatních nalezených fytolitů.

Na obr. 11 jsou zobrazena procenta ostatních nalezených typů fytolitů. Ve vzorcích bylo nalezeno poměrně značné množství fytolitů morfotypu, jenž byl označen pojmem Triangle, díky trojúhelníkovitému tvaru. Dále se ve vzorcích vyskytovaly pláty epidermu s dosud spojenými fytolity. Ve vzorku č. 6 byly nalezeny dva epidermy s připojeným trichomem. Vzorek č. 8 obsahoval 6 agregátů fytolitů. Ve čtyřech vzorcích bylo nalezeno několik penátních rozsivek. Ve vzorku č. 4 a č. 6 byla pozorovatelná stomata.

## 5.2 Koncentrace fytolitů ve vzorcích

Koncentrace fytolitů se mezi vzorky výrazně lišila (Příloha 1). Na Obr. 12 je vyobrazena koncentrace fytolitů v 1 gramu suché váhy v jednotlivých vzorcích. Nejvíce fytolitů bylo nalezeno ve vzorku 6. Nejméně fytolitů se vyskytovalo ve vzorcích 2 a 5.





Obr. 12: Počet fytolitů v 1 gramu suché váhy v jednotlivých vzorcích.

### 5.3 Výbrus

Ve vrstvě výbrusu nacházející se nad podložím byly nalezeny převážně LC morfotypy. Také zde bylo nalezeno mnoho agregátů LC morfotypů. Ve výbrusu byla také možnost sledovat pláty epidermu rostlin z čeledi Poaceae. Vyskytovalo se zde také mnoho spálených agregátů. SC byly ve výbrusu pozorovatelné jen minimálně. Ve vrstvě nad podložím se vyskytoval koprolit se značným množstvím nahloučených LC fytolitů. V podložní vrstvě bylo nalezeno několik LC fytolitů. Fytolity nalezené ve výbrusu jsou zobrazeny v příloze č. 5.

## 6. Diskuze

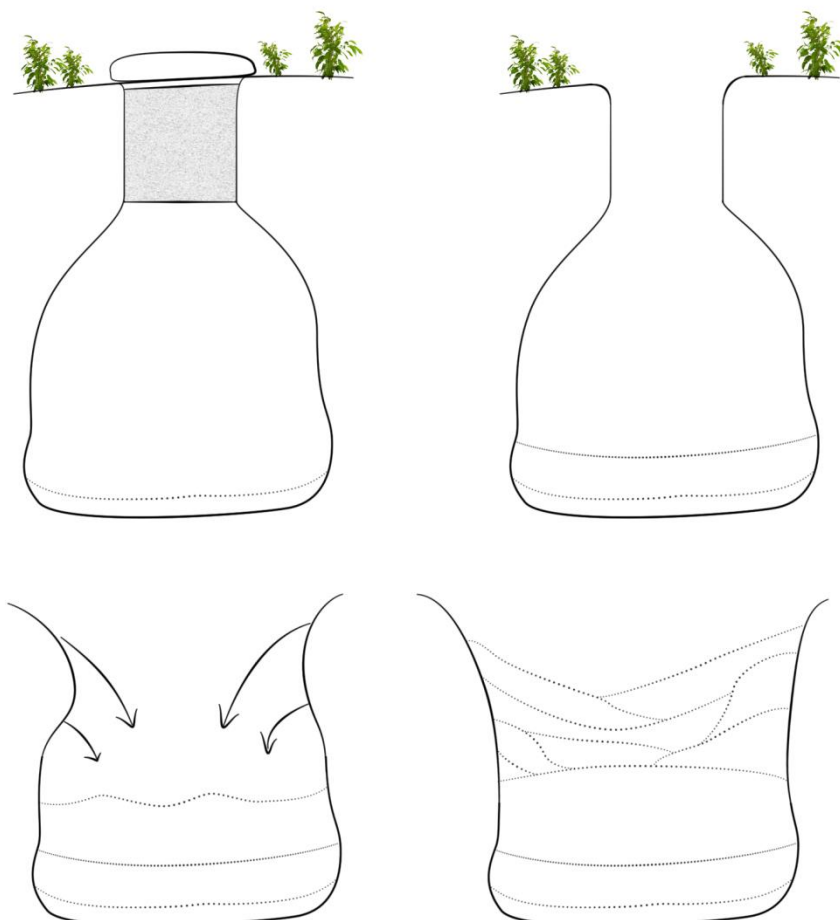
Během výzkumu a psaní práce vyvstalo několik limitací a překážek, jež bych zde ráda uvedla. Limity výzkumu jsem shledala především při determinaci fytolitů. Ty byly zařazeny do běžně nalézaných morfotypů taxonu čeledi Poaceae. Pro bližší taxonomické určení je zapotřebí praxe v samotném pozorování a v používání morfometrických a typologických metod, na jejichž základě jsou fytolity této čeledi rozlišitelné do rodů a druhů (Ball et al. 2009). Pro determinaci fytolitů archeologických objektů by měla být přítomna a použita srovnávací sbírka fytolitů nejlépe ze všech orgánů rostlin vyskytujících se na dané lokalitě výzkumu (Piperno 2006). Srovnávací sbírka je nezbytnou součástí fytolitové analýzy a její plnohodnotné interpretace.

V extrahovaných vzorcích profilu byly nalezeny převážně fytolity z čeledi Poaceae. V žádném vzorku nebyly nalezeny dlouhé fytolity tracheid s viditelnými dvojtečkami ve stěnách, jež charakterizují čeleď Pinaceae (Bozarth 1993). Napříč vzorky se také nevyskytovaly fytolity tvaru jigsaw (puzzle) typické pro dvouděložné rostliny (Bozarth 1992). Z těchto faktů bychom mohli usoudit, že v okolním prostředí zásobnice nebyly přítomné jehličnany ani větší porosty dvouděložných rostlin.

Pozorování fytolitů ve výbrusech může být interpretačně velmi přínosné, avšak přináší také určitá úskalí. Velkým aktivem výbrusů je možnost pozorování naturální akumulace rostlinného materiálu, a tím následující bližší interpretace zkoumaného objektu. Hlavní nevýhodou pozorování fytolitů ve výbrusech je jejich nemožná rotace a následné bližší určení. Toto tvrzení platí především pro krátké buňky. Mohou být často překryty jiným materiálem, jenž také ztěžuje identifikaci do nižších taxonů (Shillito 2010). Ve výbrusu ze dna a podloží zásobnice byly nalezeny především fytolity dlouhých buněk. Krátké buňky bylo velmi těžké pozorovat, kvůli překrytí jiným nahromaděným materiálem. Nashromáždění fytolitů nebylo kompaktní, což pravděpodobně dokazuje nepřítomnost lidského zásahu v podobě sešlapu a tedy přirozenou akumulaci fytolitů. Ve výbrusu byl objeven koprofit plný fytolitů z čeledi Poaceae, což může být důkazem přítomnosti herbivorů v zásobnici z doby její funkce nebo těsně po této době.

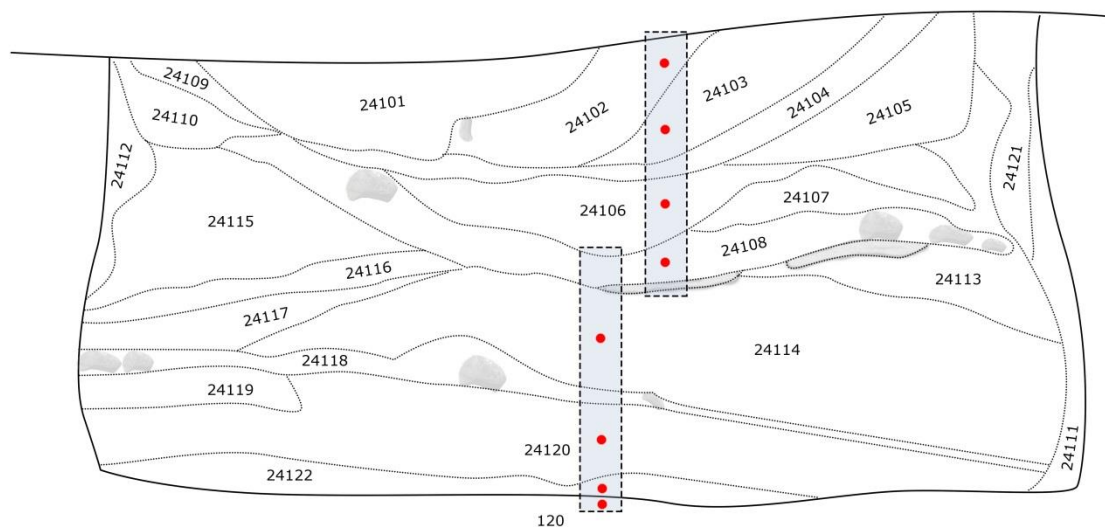
Na základě zjištěné koncentrace fytolitů napříč vrstvami zásobnice se mohu pokusit o interpretaci profilu zásobnice. Koncentrace fytolitů v jednotlivých vrstvách je odlišná. Vzniklé rozdíly v počtech fytolitů jsou zřejmě ovlivněny procesy, jež se udály po zániku

zásobnice, ale také tvorbou, používáním a typem zásobnice. Procesy, jež se dějí po době používání zásobnice, jsou vyobrazeny a popsány na Obr 13.



Obr. 13: Procesy probíhající od doby nepoužívání zásobnice. 1) Zhloubená zásobnice v době těsně po využití. Na dně zásobnice jsou zbytky nashromážděného materiálu. 2) Došlo ke zhroucení konstrukce vyztuženého hrdla zásobnice. 3) Poté dochází buď k sesuvu, nebo k pádu stěn zásobnice do jejího vnitřního prostoru. 4) Zbytek zásobnice je ovlivňován fyzikálními a chemickými vlivy – eroze, splach, navátí. Vytváří se tak další vrstvy s přítomným okolním rostlinným materiálem.

Pro interpretaci doby funkce a doby krátce po nepoužívání jámy jsou důležité čtyři vrstvy od spodku profilu. Vrstvy a koncentrace v nich nalezených fytolitů jsou zobrazeny na Obr. 14.



|                 | <b>fytolity v mokré váze</b> | <b>fytolity v suché váze</b> | <b>počet fytofitů v 1 g suché váhy</b> |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|--|
| <b>vzorek 1</b> | 1 010 326                    | 910866                       | 266 647                                |
| <b>vzorek 2</b> | 326 760                      | 296137                       | 86 691                                 |
| <b>vzorek 3</b> | 913 686                      | 834746                       | 287 051                                |
| <b>vzorek 4</b> | 748 860                      | 695919                       | 233 217                                |
| <b>vzorek 5</b> | 334 665                      | 306246                       | 88 255                                 |
| <b>vzorek 6</b> | 1 988 899                    | 1804917                      | 634 417                                |
| <b>vzorek 7</b> | 1 218 186                    | 1089955                      | 333 932                                |
| <b>vzorek 8</b> | 803 595                      | 755247                       | 198 958                                |

Obr. 14: Vrstvy profilu s vykreslenými místy odebrání vzorků, koncentrace fytofitů v jednotlivých vrstvách.

V podloží (číslo 120) bylo nalezeno dostatečné množství fytofitů. Přítomnost fytofitů může evokovat lidské činnosti provedené před využíváním zásobnice – tedy její tvorbu. Při vyhlubování jam byla důležitá izolace dna a stěn kvůli možnému znehodnocení skladovaného materiálu. Dno mohlo být vypáleno nebo vystláno suchým rostlinným materiálem (vystýlka, dřevěná prkna). Na základě počtu fytofitů a žádného spáleného materiálu bychom mohli usoudit, že dno bylo vystláno a řádně upěchováno do podložní části. Vrstva nacházející se nad podložím (číslo 24122) je pravděpodobně dno zásobnice z doby své funkce. Zde bylo nalezeno množství fytofitů, jež odrážejí spektrum skladovaných rostlin. Vzorek 6 (číslo 24120) obsahoval největší množství a také široké spektrum fytofitů a spáleného materiálu. Tato vrstva je nejspíše ještě z doby funkce nebo těsně po této době, kdy došlo ke zřícení stropu a vyztuženého hrdla zásobnice na její dno. Konstrukce byla tvořena povětšinou z rostlinného materiálu (dřevo, tráva), ale také z hlíny a kamení. Nalezené množství spáleného rostlinného materiálu může být pozůstatkem

materiálu hrdla zásobnice. Následující vrstva byla pravým opakem vrstvy předešlé. Vrstva číslo 24114 obsahovala nejméně fytolitů z celého profilu. Můžeme se domnívat, že tato vrstva je pozůstatkem kolapsu stěny způsobeného jejím spadnutím do prostoru zaniklé zásobnice. Další čtyři vrstvy byly vytvořeny postupným vyplňováním prohlubně po zaniklé obilnici. Tyto vrstvy byly způsobeny takovými vlivy, jako je splach, eroze a zasypávání. V těchto vrstvách bychom mohli očekávat rozdílné spektrum taxonů než v původním prostoru jámy, avšak nebyly nalezeny odlišné typy fytolitů než ve spodnějších vrstvách (Kunz 2004; Jaromír Beneš – ústní sdělení).

## 7. Závěr

V teoretické části práce byly zjištěny informace a postupy, jež jsou spjaty s úspěšnou fytolitovou analýzou. Fytolitová analýza je významným nástrojem archeobotanického výzkumu. Její uplatnění je možné například při paleoenvironmentálních rekonstrukcích, rozborech sedimentů a vegetačních rekonstrukcích. V archeologii napomáhají k rekonstrukcím používání nástrojů, rekonstrukcím vztahu mezi člověkem a přírodou, k identifikaci rostlin na sídlištích. Fytolity jsou tvořeny v širokém spektru taxonů, jejich přesná identifikace je ale možná jen s pozorovací praxí a s přesnými morfometrickými metodami. V této části byly dále představeny používané metody extrakce fytolitů ze sedimentů a metody tvorby výbrusu pro mikromorfologické analýzy.

V praktické části práce byla úspěšně provedena extrakce volných fytolitů ze sedimentu profilu raně středověké zásobnice. Nalezené fytolity byly rozřazeny do morfotypů a byla zjištěna koncentrace fytolitů v jednotlivých vrstvách profilu. Pozorováním uložených fytolitů ve výbrusu byly zjištěny klady a zápory výpovědních hodnot této metody pozorování. Na základě koncentrací fytolitů napříč profilem byla provedena interpretace procesů, jež byly spjaty s dobou funkce a dobou zániku zásobnice.

V extrahovaných vzorcích byly nalezeny morfotypy fytolitů trav z čeledi Poaceae. Nejvíce fytolitů bylo nalezeno ve spodních vrstvách profilu zásobnice. Tyto vrstvy obsahující rozdílné množství fytolitů odráží jednotlivé procesy minulosti existující obilnice.

Z využitých zdrojů i z mé nabyté zkušenosti je jednoznačné, že bez kvalitní pozorovací praxe a existující srovnávací fytolitové sbírky nelze plnohodnotně provést fytolitovou analýzu zkoumaných objektů. V případě využití fytolitové analýzy při interpretaci dalších zkoumaných objektů je tedy nezbytné nejprve vytvořit srovnávací sbírku fytolitů orgánů rostlin určitého území.

Použitá literatura:

Albert RM, Bamford MK, Cabanes D, 2006: Taphonomy of phytoliths and macroplants in different soils from Olduvai Gorge (Tanzania) and the application to Plio-Pleistocene paleoanthropological samples. *Quaternary International*, 148, 78-94.

Albert RM, Shahack-Gross R, Cabanes D, Gilboa A, Lev-Yadun S, Portillo M, Sharon I, Boaretto E, Weiner S, 2008: Phytolith-rich layers from the Late Bronze and Iron Ages at Tel Dor (Israel): mode of formation and archaeological significance. *Journal of Archaeological Science*, 35, 57-75.

Alexandre A, Meunier JD, Colin F, Koud JM, 1996: Plant impact on the biogeochemical cycle of silicon and related weathering processes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61, 677-682.

Alexandre A, Meunier JD, Lézine AM, Vincens A, Schwartz D, 1997: Phytoliths: indicators of grassland dynamics during the late Holocene in intertropical Africa. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 136, 213-229.

Baker G, Jones LHP, Wardrop ID, 1959: Cause of wear in sheeps' teeth. *Nature*, 184, 1583-1584.

Ball TB, Gardner JS, Anderson N, 1999: Identifying inflorescence phytoliths from selected species of wheat (*Triticum monococcum*, *T. dicoccon*, *T. dicocoides*, and *T. aestivum*) and barley (*Hordeum vulgare* and *H. spontaneum*) (Gramineae). *American Journal of Botany*, 86, 1615-1623.

Ball TB, Ehlers R, Standing MD, 2009: Review of typologic and morphometric analysis of phytoliths produced by wheat and barley. *Breeding Science*, 59, 505-512.

Bajer A, Lisá L, 2014: Soil micromorphology in general and archaeological context. Brno: Mendel University in Brno.

Bauer P, Elbaum R, Weiis IM, 2011: Calcium and silicon mineralization in land plants: Transport, structure and function. *Plant Science*, 180, 746-756.

Beneš J, 2013: Počátky zemědělství. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze.

- Bonnet OT, 1972: Silicified Cells of Grasses: A Major Source of Plant Opal in Illinois. Urbana-Champaign, Agriculture Experiment Station, Univ. of Illinois.
- Bozarth SR, 1987: Diagnostic Opal Phytoliths from Rinds of Selected *Cucurbita* species. *American Antiquity*, 52, 607-615.
- Bozarth, SR, 1992: Classification of phytoliths formed in selected dicotyledons native to the Great Plains, 193-214. In: Rapp G, Mulholland SC, 1992: Phytolith Systematics: Emerging issues, Plenum Press, New York.
- Bozarth SR, 1993: Biosilicate assemblages of boreal forests and aspen parklands, 95-105. In: Pearsall DM, Piperno DR, 1993: Current Research in Phytolith Analysis: Applications in Archaeology and Paleoecology: MASCA Research Papers in Science and Archaeology.
- Bryant VM, 2007: Microscopic evidence for the domestication and spread of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 50, 19659-19660.
- Cabanes D, Weiner S, Shahack-Gross R, 2011: Stability of phytoliths in the archaeological record: a dissolution study of modern and fossil phytoliths. *Journal of Archaeological Science*, 38, 2480-2490.
- Carbone VA, 1977: Phytoliths as paleoecological indicators. *Annals of the New York Academy of Science*, 288, 194-205.
- Currie HA, Perry CC, 2007: Silica in plants: Biological, biochemical and chemical studies. *Annals of Botany*, 100, 1383-1389.
- Danielson DR, Reinhard KJ, 1998: Human dental microwear caused by calcium oxalate phytoliths in prehistoric diet of the Lower Pecos region, Texas. *American Journal of Physical Anthropology*, 107, 297-304.
- Doebley JF, 1990: Molecular evidence and the evolution of maize. *Economic botany*, 44, 6-27.
- Epstein E, 1994: The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 11-17.



Fox CL, Chuan J, Albert RM, 1996: Phytolith Analysis on Dental Calculus, Enamel Surface, and Burial Soil: information About Diet and Paleoenvironment. *Americal Journal of Physical Anthropology*, 101, 101-113.

Gol'eva A, Colin F, 2001: Phytoliths and their information role in natural and archaeological objects. Moskva: Institut geografii RAN.

Golokhvast KS, Seryodkin IV, Chaika VV, Zakharenko AM, Pamirsky IE, 2014: Phytoliths in Taxonomy of Phylogenetic Domains of Plants. *BioMed Research International*, 2014, 9 pages.

Hancock JF, 2004: Plant evolution and the origin of crop species. New York, NY: CABI Pub.

Henry AG, Piperno DR, 2008: Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet: a case study from Tell al-Raq\_a'i, Syria. *Journal of Archaeological Science*, 35, 1943-1950.

Hodson MJ, Westerman J, Tubb HJ, 2001: The use of inflorescence phytoliths from the Triticeae in food science, 87-100. In: Meunier JD, Colin F, 2001: Phytoliths: Applications in earth sciences and human history. Exton, PA: A.A. Balkema Publishers.

Holst I, Moreno JE, Piperno DR, 2007: Identification of teosinte, maize, and *Tripsacum* in Mesoamerica by using pollen, starch grains, and phytoliths. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 17608-17613.

Horrocks M, 2005: A combined procedure for recovering phytoliths and starch residues from soils, sedimentary deposits and similar materials. *Journal of Archaeological Science*, 32, 1169-1175.

Irriarte J, Holst I, Marozzi O, Listopad C, Alonso E, Rinderknecht A, Montaña J, 2004: Evidence for cultivar adoption and emerging complexity during the mid-Holocene in the La Plata basin. *Nature*, 432, 614-617.

Kealhofer L, Torrence R, Fullagar R, 1999: Integrating phytoliths within use-wear/residue studies of stone tools. *Journal of Archaeological Science*, 26, 527-546.

Kelly EF, Amundson RG, Marino BD, Deniro MJ, 1991: Stable isotope ratios of carbon in phytoliths as a quantitative method of monitoring vegetation and climate change. *Quaternary Research*, 82, 222-233.

Kerns BK, 2001: Diagnostic phytoliths for a ponderosa pine-bunchgrass community near Flagstaff, Arizona, *Southwestern Naturalist*, 46, 282-294.

Kunz L, 2004: Obilní jámy: konzervace obilí na dlouhý čas v historické zóně eurosibiřského a mediteránního rolnictví. Rožnov pod Radhoštěm: Valašské muzeum v přírodě.

Lentfer CJ, Boyd WE, 1999: An Assessment of Techniques for the Deflocculation and Removal of Clays from Sediments Used in Phytolith Analysis. *Journal of Archaeological Science*, 26, 31-44.

Lu HY, Liu ZX, Wu NQ, Berne' S, Saito Y, Liu BZ, Wang L, 2002: Rice domestication and climatic change: phytolith evidence from East China. *Boreas*, 31, 378-385.

Madella M, Powers-Jones AH, Jones MK, 1998: A simple method of extraction of opal phytoliths from sediments using a non-toxic heavy liquid. *Journal of Archaeological Science*, 25, 801-803.

Madella M, Alexandre A, Ball TM, 2005: International Code for Phytolith Nomenclature 1.0. *Annals of Botany*, 96, 253-260.

Madella M, Lancelotti C, 2012: Taphonomy and phytoliths: A user manual. *Quaternary International*, 275, 76-83.

Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman MM, Sanchez J, Buckler E, Doebley J, 2002: A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 9, 6080-6084.

Meunier JD, Colin F, 2001: Phytoliths: applications in earth sciences and human history. Exton, PA: A.A. Balkema Publishers.

Mindzie CM, Doutrelepon H, Vrydaghs L, Swennen RJ, Beeckman H, Langhe E, Maret P, 2001: First archaeological evidence of banana cultivation in central Africa during the third millennium before present. *Vegetation History and Archaeobotany*, 1, 1-6.

Mulholland SC, Rapp G Jr., 1992a: Phytolith systematics: An introduction, 1-13, In: Mulholland SC, Rapp G Jr., 1992: Phytolith systematics: Emerging issues, Plenum Press, New York.

Munsell Color Company, 2000: Munsell Soil Color Charts. Revised washable edition, New Windsor.

Musil J, 2012: Zpráva o záchranném archeologickém výzkumu provedeném na základě dohody c. 30/2011 akce: I/37 Chrudim obchvat, úsek Medlešice – križ. I/17 – 1. a 2. etapa (Nepublikovaný rukopis).

Němeček J, 2001: Taxonomický klasifikační systém půd České republiky. ČZU Praha.

Neumann K, Fahmy A, Lespez L, Ballihce A, Huysecom E, 2009: The Early Holocene paleoenvironment of Ounjougou (Mali): Phytoliths in a multiproxy context. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 276, 87–106.

Osterrieth M, Madella M, Zurro D, Alvarez MF, 2009: Taphonomical aspects of silica phytoliths in the loess sediments of the Argentinean Pampas. *Quaternary International*, 193, 70–79.

Out WA, Pertusa Grau JF, Madella M, 2014: A New Method for Morphometric Analysis of Opal Phytoliths from Plants. *Microscopy and Microanalysis*, 7, 1-12.

Parry DW, Smithson F, 1964: Types of Opaline Silica Depositions in the Leaves of British Grasses. *Annals of Botany*, 28, 169-185.

Pearsall DM, 1978: Phytolith analysis of archaeological soils: Evidence for maize cultivation in formative Ecuador. *Science*, 4325, 177-178.

Pearsall DM, 1989: Paleoethnobotany: a handbook of procedures. San Diego: Academic Press.

Pearsall DM, Chandler-Ezell K, Chandler-Ezell A, 2003: Identifying maize in neotropical sediments and soils. *Journal of Archaeological Science*, 30, 611–627.

Piperno DR, 1984: A comparison and differentiation of phytoliths from maize and wild grasses: use of morphological criteria. *Society for American Archaeology*, 2, 361-383.

- Piperno DR, Holst I, Wessel-Beaver L, Andres TC, 2002: Evidence for the control of phytolith formation in *Cucurbita* fruits by the hard rind (Hr) genetic locus: Archaeological and ecological implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 10923-10928.
- Piperno DR, 2006: Phytoliths: a comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists. Lanham, MD: AltaMira Press.
- Piperno DR, 1998: Paleoethnobotany in the Neotropics from Microfossils: New Insights into Ancient Plant Use and Agricultural Origins in the Tropical Forest. *Journal of World Prehistory*, 12, 393-449.
- Piperno DR, Becker P, 1996: Vegetational History of a Site in the Central Amazon Basin Derived from Phytolith and Charcoal Records from Natural Soils. *Quaternary Research*, 45, 202-209.
- Piperno DR, Pearsall DM, 1998: The silica bodies of tropical American grasses: morphology, taxonomy, and implications for grass systematics and fossil phytolith identification. *Annals of the Smithsonian Institution*, 85, 1998.
- Piperno DR, Ranere AJ, Holst I, Iriarte J, Dickau R, 2009: Starch grain and phytolith evidence for early ninth millennium B.P. maize from the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 5019-5024.
- Pohl MED, Piperno DR, Pope KO, Jones JG, 2007: Microfossil evidence for pre-Columbian maize dispersals in the neotropics from San Andrés, Tabasco, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 16, 6870-6875.
- Powers AH, 1992: Great expectations: A short historical review of European phytolith systematics. In: Mulholland SC, Rapp G Jr., 1992: Phytolith systematics: Emerging issues, Plenum Press, New York.
- Prychid CJ, Rudall PJ, Gregory M, 2003: Systematics and Biology of Silica Bodies in Monocotyledons. *The Botanical Review*, 69, 377-440.
- Reinhard KJ, Danielson DR, 2005: Pervasiveness of phytoliths in prehistoric southwestern diet and implications for regional and temporal trends for dental microwear. *Journal of Archaeological Science*, 32, 981-988.

- Rosen AM, 2001: Phytolith evidence for agro-pastoral economies in the Scythian period of southern Kazakhstan. In: Meunier JD, Colin F, 2001: Phytoliths: Applications in earth sciences and human history. Exton, PA: A.A. Balkema Publishers.
- Rovner I, 1971: Potential of opal phytoliths for use in paleoecological reconstruction. *Quaternary Research*, 1, 343-359.
- Rudall PJ, Prychid CJ, Gregory T, 2014: Epidermal Patterning and Silica Phytoliths in Grasses: An Evolutionary History. *The Botanical Review*, 80, 59-71.
- Sayers J, Thompson B, Lusteck R, 1998: Phytoliths from food residues provide the oldest date for use of wild rice in Minnesota. *Geological Society of America*, 5, 244.
- Simpson TL, Volcani BE, 1981: Silicon and siliceous structures in biological systems. New York: Springer-Verlag.
- Saul H, Madella M, Fischer A, Glykou A, Hartz S, Craig OE, 2013: Phytoliths in pottery reveal the use of spice in European prehistoric cuisine. *PLoS One*, 8, 1-5.
- Shahack-Gross R, Albert RM, Gilboa A, Nagar-Hilman O, Sharon I, Weiner S, 2005: Geoarchaeology in an urban context: the uses of space in a Phoenician monumental building at Tel Dor (Israel). *Journal of Archaeological Science*, 32, 1417-1431.
- Shillito L, 2010: Simultaneous thin section and phytolith observations of finely stratified deposits from Neolithic Çatalhöyük, Turkey: implications for paleoeconomy and Early Holocene paleoenvironment. *Journal of Quaternary Science*, 26, 576-588.
- Shillito L, 2013: Grains of truth or transparent blindfolds? *Vegetation History and Archaeobotany*, 22, 71-82.
- Stockmarr J, 1971: Tablets with spores used in absolute pollen analysis. *Pollen et Spores*, 13, 615–621.
- Tsartsidou G, Lev-Yadum S, Efstratiou N, Weiner S, 2008: Ethnoarchaeological study of phytolith assemblages from an agro-pastoral village in Northern Greece (Sarakini): development and application of a Phytolith Difference Index. *Journal of Archaeological Science*, 35, 600-613.

Tsutsuki K, Kondo R, Shiraishi H, Kuwatsuka S, 1993: Composition of lignin-degradation products, lipids, and opal phytoliths in a peat profile accumulated since 32,000 years B.P. in central Japan. *Soil Science and Plant Nutrition*, 39, 463-474.

Twiss PC, Erwin S, Smith RM, 1969: Morphological classification of grass phytoliths. *Soil Science Society of America, Proceedings*, 1, 109–115.

Twiss PC, 1987: Grass-opal phytoliths as climatic indicators of the Great Plains Pleistocene, 179-188. In Johnson WC Ed., 1987: Quaternary environments of Kansas. Kansas Geological Survey, Guidebook Series 5, Lawrence.

Udatsu T, Houben Z, Fujiwara H, Linghua T, Cailin W, Jiayang S, 1991: Analysis of excavated phytoliths in Neolithic pottery from Jiangshu province. *Agricultural Archaeology*, 1, 36-45.

Vuorela I, 1991: Phytolith analysis as part of the study in the Helsinki old town. *Geological Survey of Finland*, 12, 143-146.

Watteau F, Villemain G, Ghanbaja J, Toutain F, 2001: Relation between silica and organic matter in a soil: An ultrastructural study. In: Meunier JD, Colin F, 2001: Phytoliths: Applications in earth sciences and human history. Exton, PA: A.A. Balkema Publishers.

White PJ, Broadley MR, 2003: Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92, 487-511.

Wu Y, Jiang L, Zheng Y, Wang C, Zhao Z, 2014: Morphological trend analysis of rice phytolith during the early Neolithic in the Lower Yangtze. *Journal of Archaeological Science*, 49, 326-331.

Wu Y, Yang Y, Wang H, Wang C, 2014: The effects of chemical composition and distribution on the preservation of phytolith morphology. *Applied Physics A*, 114, 503-507.

Zhao Z, Pearsall DM, Benfer RA, Piperno DR, 1998: Distinguishing rice (*Oryza sativa* Poaceae) from wild *Oryza* species through phytolith analysis, II Finalized method. *Economic Botany*, 2, 134-145.

Internetové zdroje:

1)

<http://www.homepages.ucl.ac.uk/~tcrndfu/phytoliths/Oryza%20officinalis%20husk/index.html> (staženo 20.10.2014)

2)

[http://www.earth.ox.ac.uk/\\_data/assets/pdf\\_file/0003/18948/Logitech\\_Thin\\_Section\\_preparation.pdf](http://www.earth.ox.ac.uk/_data/assets/pdf_file/0003/18948/Logitech_Thin_Section_preparation.pdf) (staženo 20.10.2014)

3)

<http://www.thin.stir.ac.uk/2008/06/03/methods-impregnation/> (staženo 21.10.2014)

4)

<http://www.geologynet.com/thins2.htm> (staženo 21.10.2014)

## 8. Přílohy

Příloha č. 1: Počet fytolitů v jednotlivých vzorcích.

|                 | <b>Počet fytolitů v<br/>mokrém váze</b> | <b>Počet fytolitů v<br/>suchém váze</b> | <b>Počet fytolitů v 1 g suché váhy</b> |
|-----------------|---|---|--|
| <b>vzorek 1</b> | 1 010 326                               | 910 866                                 | 266 647                                |
| <b>vzorek 2</b> | 326 760                                 | 296 137                                 | 86 691                                 |
| <b>vzorek 3</b> | 913 686                                 | 834 746                                 | 287 051                                |
| <b>vzorek 4</b> | 748 860                                 | 695 919                                 | 233 217                                |
| <b>vzorek 5</b> | 334 665                                 | 306 246                                 | 88 255                                 |
| <b>vzorek 6</b> | 1 988 899                               | 1 804 917                               | 634 417                                |
| <b>vzorek 7</b> | 1 218 186                               | 1 089 955                               | 333 932                                |
| <b>vzorek 8</b> | 803 595                                 | 755 247                                 | 198 958                                |



Příloha č. 2: Procentuální zastoupení morfortypů krátkých buněk (SC) fytolitů z čeledi Poaceae ve zkoumaných vzorcích.

|                 | Celkový počet SC | Dumbbell | Nodular | Crenate (polylobate) | Angular | Cross | Half-dumbbell | Round/Oblong | Rect./Square | Saddle | Horned tower | Flat tower | Regular spool | Irregular spool | Angles | Half-rotated |
|-----------------|------------------|----------|---------|----------------------|---------|-------|---------------|--------------|--------------|--------|--------------|------------|---------------|-----------------|--------|--------------|
|                 | n                | %        | %       | %                    | %       | %     | %             | %            | %            | %      | %            | %          | %             | %               | %      | %            |
| <b>Vzorek 1</b> | 241              | 11,2     | 2,9     | 16,6                 | 7,1     | 0,8   | 1,2           | 32,4         | 21,2         | 0,8    | 1,2          | 1,2        | 1,7           | 0,8             | 0,0    | 0,8          |
| <b>Vzorek 2</b> | 213              | 10,3     | 1,9     | 20,2                 | 9,4     | 0,0   | 2,3           | 35,2         | 14,6         | 0,5    | 1,9          | 1,9        | 0,0           | 1,4             | 0,5    | 0,0          |
| <b>Vzorek 3</b> | 212              | 18,9     | 0,0     | 23,6                 | 9,9     | 0,5   | 0,5           | 31,1         | 11,8         | 0,5    | 0,0          | 0,9        | 0,9           | 1,4             | 0,0    | 0,0          |
| <b>Vzorek 4</b> | 207              | 14,5     | 1,0     | 21,7                 | 6,8     | 0,0   | 3,9           | 37,2         | 10,6         | 1,0    | 1,4          | 1,0        | 0,0           | 0,5             | 0,5    | 0,0          |
| <b>Vzorek 5</b> | 79               | 7,6      | 0,0     | 11,4                 | 6,3     | 2,5   | 1,3           | 39,2         | 24,1         | 1,3    | 1,3          | 2,5        | 1,3           | 0,0             | 1,3    | 0,0          |
| <b>Vzorek 6</b> | 236              | 12,7     | 0,0     | 19,1                 | 10,2    | 0,8   | 3,4           | 37,3         | 11,9         | 0,8    | 0,8          | 0,4        | 2,1           | 0,4             | 0,0    | 0,0          |
| <b>Vzorek 7</b> | 202              | 12,4     | 0,5     | 11,4                 | 11,4    | 0,0   | 2,5           | 40,6         | 16,8         | 1,5    | 1,0          | 1,0        | 1,0           | 0,0             | 0,0    | 0,0          |
| <b>Vzorek 8</b> | 188              | 11,7     | 0,0     | 12,8                 | 10,1    | 0,0   | 4,8           | 42,6         | 15,4         | 0,0    | 1,6          | 0,5        | 0,5           | 0,0             | 0,0    | 0,0          |

Příloha č. 3: Procentuální zastoupení morfotypů dlouhých buněk (LC) fytolitů z čeledi Poaceae ve zkoumaných vzorcích.

|                 | <b>Celkový počet LC</b> | <b>Elongate cells</b> | <b>Bulliform cells</b> | <b>Trichomes</b> | <b>Non-grass cells</b> |
|-----------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|------------------|------------------------|
|                 | n                       | %                     | %                      | %                | %                      |
| <b>Vzorek 1</b> | 100                     | 79,0                  | 10,0                   | 8,0              | 3,0                    |
| <b>Vzorek 2</b> | 100                     | 82,0                  | 9,0                    | 8,0              | 1,0                    |
| <b>Vzorek 3</b> | 100                     | 83,0                  | 6,0                    | 10,0             | 1,0                    |
| <b>Vzorek 4</b> | 100                     | 86,0                  | 4,0                    | 10,0             | 0,0                    |
| <b>Vzorek 5</b> | 69                      | 82,6                  | 4,3                    | 11,6             | 1,4                    |
| <b>Vzorek 6</b> | 100                     | 78,0                  | 10,0                   | 12,0             | 0,0                    |
| <b>Vzorek 7</b> | 100                     | 77,0                  | 8,0                    | 15,0             | 0,0                    |
| <b>Vzorek 8</b> | 100                     | 91,0                  | 3,0                    | 6,0              | 0,0                    |

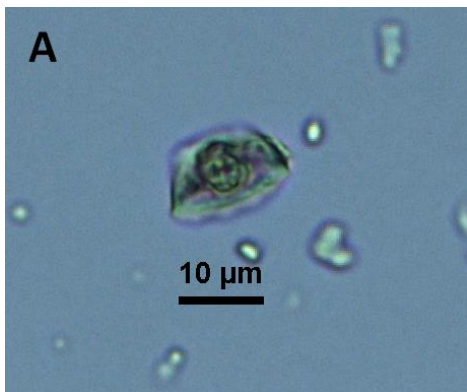
Příloha č. 4: Procentuální zastoupení ostatních nalezených fytolitů.

|                 | <b>Celkový počet ostatních buněk</b> | <b>Papilae</b> | <b>Epidermis</b> | <b>Agregate</b> | <b>Diatomeae</b> | <b>Epidermis + trichome</b> | <b>Triangle</b> | <b>Stoma</b> |
|-----------------|--------------------------------------|----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------------------|-----------------|--------------|
|                 | n                                    | %              | %                | %               | %                | %                           | %               | %            |
| <b>Vzorek 1</b> | 26                                   | 37,5           | 8,3              | 12,5            | 16,7             | 0,0                         | 25,0            | 0,0          |
| <b>Vzorek 2</b> | 15                                   | 53,3           | 6,7              | 6,7             | 0,0              | 0,0                         | 33,3            | 0,0          |
| <b>Vzorek 3</b> | 18                                   | 33,3           | 0,0              | 5,6             | 11,1             | 0,0                         | 50,0            | 0,0          |
| <b>Vzorek 4</b> | 30                                   | 43,3           | 10,0             | 3,3             | 0,0              | 0,0                         | 40,0            | 3,3          |
| <b>Vzorek 5</b> | 30                                   | 80,0           | 0,0              | 0,0             | 3,3              | 0,0                         | 16,7            | 0,0          |
| <b>Vzorek 6</b> | 36                                   | 27,8           | 30,6             | 5,6             | 0,0              | 5,6                         | 27,8            | 2,8          |
| <b>Vzorek 7</b> | 40                                   | 45,0           | 20,0             | 0,0             | 5,0              | 0,0                         | 30,0            | 0,0          |
| <b>Vzorek 8</b> | 32                                   | 62,5           | 0,0              | 18,8            | 0,0              | 0,0                         | 18,8            | 0,0          |

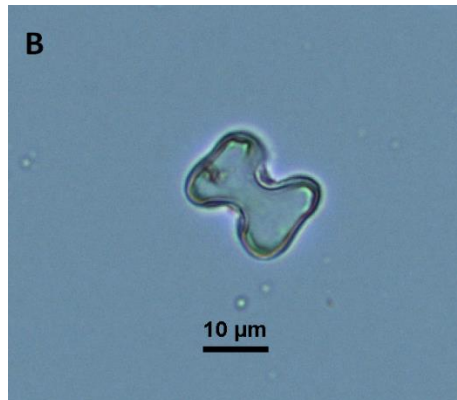
Příloha č. 5: Obrazová dokumentace

Morfotypy volných fytolitů:

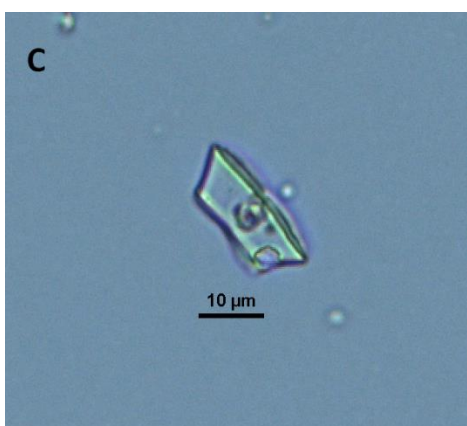
Rondel/Round



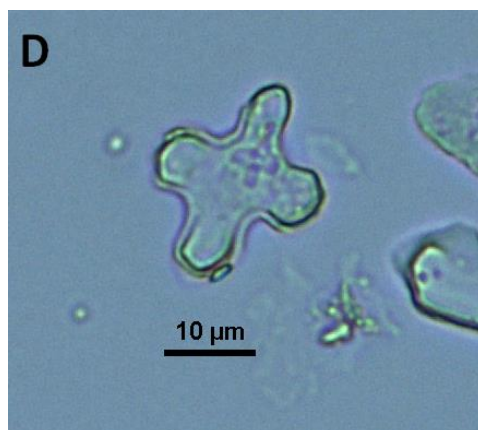
Dumbell/Bilobate



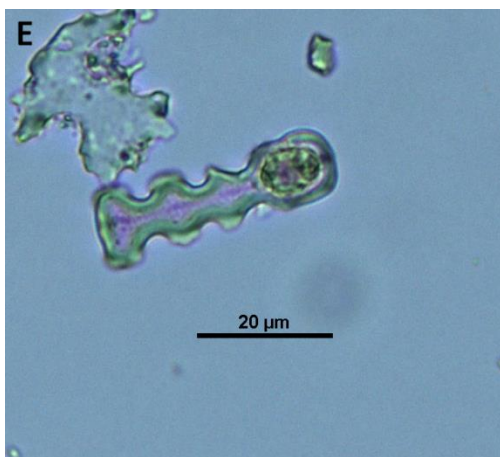
Square/ Rectangular



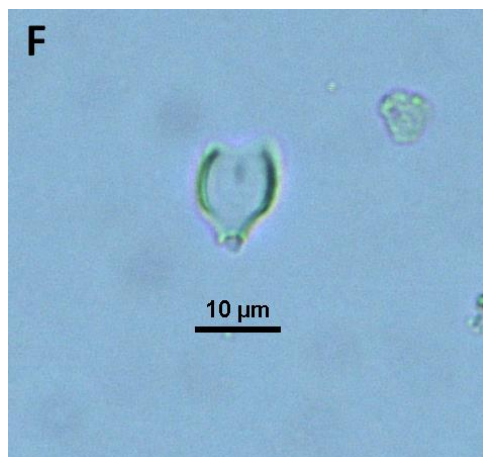
Cross



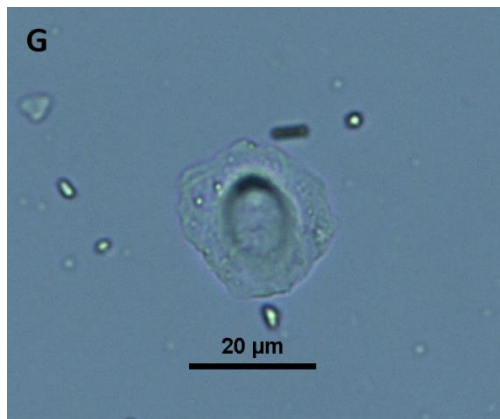
Crenate/Polylobate



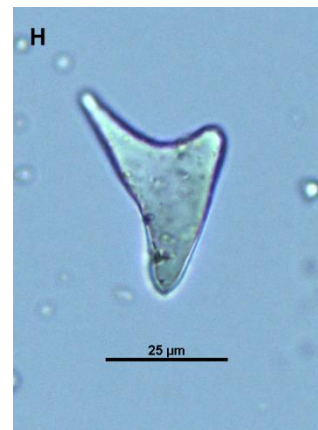
Half-Dumbell



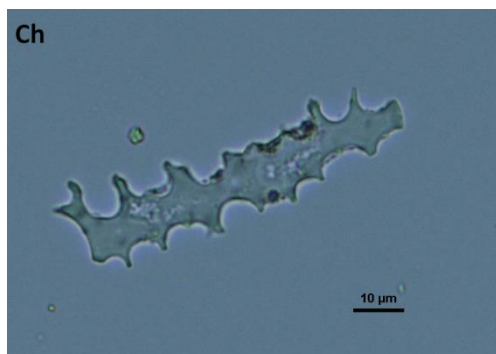
Papilae



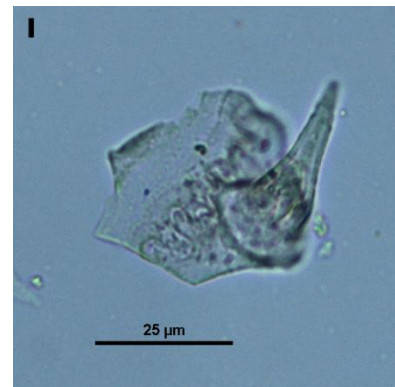
Trichome



Elongate/Long



Epidermis + Trichome

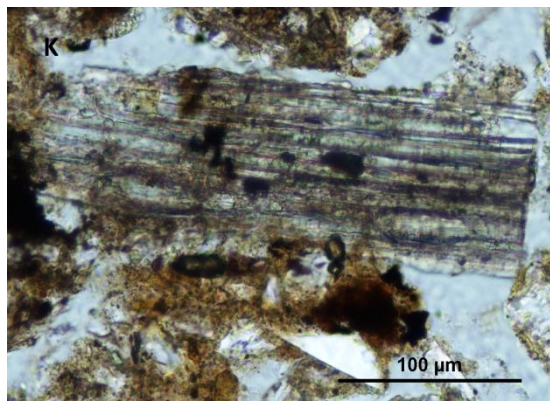


Epidermis + Báze trichomů

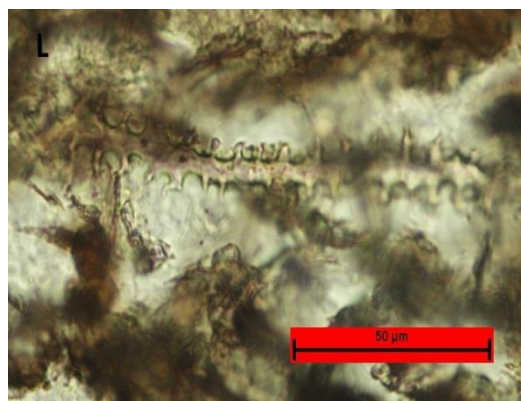


Výbrus – nalezené fytolity:

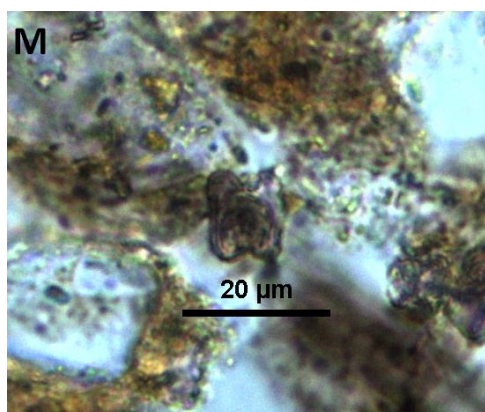
Plát dlouhých buněk



Dlouhá buňka



Krátká buňka



Koprolit

