

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra antropologie a genetiky člověka

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Antropologie a genetika člověka



Bc. Klára Tlačbavová

Diverzita sekvencí mtDNA a genetická struktura východoafrického sahelu

Sequence diversity of mtDNA and genetic structure of eastern part of the African Sahel

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce/školitel:

Doc. Mgr. Viktor Černý, Dr.

Praha 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14.5.2017

Podpis:

Poděkování:

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli doc. Mgr. Viktoru Černému, Dr. za odbornou pomoc, trpělivost a cenné rady při vypracování této diplomové práce. Poděkování patří i členům archeogenetické laboratoře Archeologického ústavu AVČR, Praha, v.v.i., jmenovitě Mgr. Martině Čížkové a Mgr. Ivě Kulichové za trpělivé zaškolení v laboratoři a cenné rady. V neposlední řadě také děkuji své rodině, blízkým a Ondrovi za podporu v průběhu celého studia.

ABSTRAKT

Východoafrický sahel hrál v minulosti důležitou roli jako obousměrný koridor nejen horizontálně, ale i vertikálně migrujících populací. I díky tomu je zde možné pozorovat vysokou genetickou, etnolingvistickou i kulturní diverzitu. Tato diplomová práce se soustředí na genetickou strukturu a migrační aktivitu východního sahelu na základě analýzy HVS-I a HVS-II segmentu mtDNA. Pro analýzu byly vybrány zástupci tří afrických jazykových rodin a různých subsistenčních strategií. Porovnávány byly i populace původem z Arabského poloostrova. Výsledky vypovídají o vysoké genetické diverzitě především u populací východního Súdánu a Afrického rohu, což je spojeno se šířením arabských populací podél údolí řeky Nil. Zdá se, že zde na rozložení genetické diverzity mají jazykové faktory větší vliv než geografické. Odlišná situace byla pozorována u populací Čadu, kde geograficky si blízké populace různého lingvistického zařazení vykazovaly nízkou genetickou diferenciací. Intra-populační analýzy vypovídají o významném vlivu genetického driftu u pasteveckých populací žijících při africkém pobřeží Rudého moře Bedžů a Rašajdů. U Bedžů je nejspíš podmíněn poklesem velikosti efektivní populace, u Rašajdů je dán efektem zakladatele při jejich recentní imigraci z Arabského poloostrova. Pastevecká populace Baggarů se svým genofondem podobá spíše okolním usedlým populacím sahelu, což by mohl vysvětlovat jejich kontaktní způsob života. Při hodnocení zastoupení haploskupin u jednotlivých populací byl patrný euroasijský vliv, kromě arabských populací, především u Núbijců a Somálců. U Nubu Koalib, usedlých populací Čadu a jižní Etiopie byl detekován pouze minimálně. Genetická diverzita těchto regionů je pravděpodobně spojena s migracemi původem afrických populací během klimaticky příznivých období.

Klíčová slova: mtDNA, HVS-I, HVS-II, východní Afrika, sahel, Sahara, genetická diverzita, migrace, archeogenetika, Čadské jezero, řeka Nil, Africký roh

ABSTRAKT

Eastern part of the African Sahel, connecting sub-Saharan Africa with North and East Africa, play an important role as a bidirectional corridor for vertically and horizontally migrations of populations. It is the strategic region to study human genetic diversity due to the presence of ethnically, linguistically, culturally and geographically diversity. This work is focused on the analysis of HVS-I and HVS-II segments of mtDNA. The work provides new information about genetic structure and migration activity of this region by analysis twelve populations belonging to three African linguistic families and different subsistent strategies. Analysis of mtDNA revealed the higher diversity of the populations of east Sudan and Horn of Africa, which is connected with the spreading of populations along the Nile River. It seems, that in this region linguistic factors have bigger impact on genetic diversity then the geografic ones. The opposite situation is observed in populations of Chad, where populations with similiar geografic location and different linguistic affiliation revealed low genetic differentiation. The intra-population analysis shows the significant influence of genetic drift on the pastoralists living on the Red Sea Coast – Beja and Rashaida. In Beja is probably due to decrease of size of effective population, in Rashaida due to founder effect during their recent imigration from Arabian peninsula. In contrast, arabian pastoralists Baggara have a similiar genofond as the sedentary populations in their surroundings. It is probably the result of their contact lifestyle. The analysis of sharing the haplogroups revealed the euroasian impact on Nubian and Somali populations (except arabian populations). It wasn't detected in Nuba Koalib and sedentary populations of Chad and south Etiopia. Genetic diversity of this regions are probably connected with the spreading of the original african populations due to oscialitaions of climatic condition.

Key words: mtDNA, HVS-I, HVS-II, East Africa, Sahel, Sahara, genetic diversity, migration, archeogenetics, Lake Chad, Nile River, Horn of Africa

OBSAH

1. Úvod.....	8
2. Cíle práce	10
3. Přírodní a klimatické poměry severní a východní Afriky.....	11
4. Vývoj prostředí a archeologických kultur	13
4.1. Oscilace klimatických podmínek	13
4.1.1. Změny klimatu a přírodních podmínek v pleistocénu	13
4.1.2. Změny klimatu a přírodních podmínek v holocénu.....	14
4.2. Paleolit - kulturní a historických vývoj.....	16
4.2.1. Starý paleolit	16
4.2.2. Střední paleolit.....	16
4.2.3. Mladý paleolit	17
4.3. Neolit – rozšíření nových subsistenčních strategií.....	18
4.3.1. Vznik a šíření zemědělského způsobu života	18
4.3.2. Vznik a šíření pasteveckého způsobu života	19
5. Etnolingvistická struktura východní a severní Afriky	21
5.1. Jazyková diverzita Afriky	21
5.1.1. Původ a rozšíření nilosaharské jazykové rodiny.....	21
5.1.2. Původ a rozšíření afroasijské jazykové rodiny	22
5.1.3. Původ a rozšíření nigerokonžské jazykové rodiny	24
5.2. Historie vybraných populací severovýchodní Afriky	25
6. Archeogenetika a studium lidské genetické diverzity	29
6.1. Mitochondriální DNA	29
6.2. Studium genetické diverzity populací	32
6.2.1. Populačně-genetický přístup.....	32
6.2.2. Fylogenetický přístup	34
7. Materiál.....	35
8. Metody	37
8.1. Laboratorní metody	37
8.1.1. Izolace DNA	37
8.1.2. PCR - polymerázová řetězová reakce.....	37
8.1.3. Gelová elektroforéza	38
8.1.4. Sekvence	39
8.2. Metody zpracování dat.....	39
8.2.1. Analýza dat	39
8.2.2. Intra-populační analýza.....	40

8.2.3.	Inter-populační analýza.....	41
8.2.4.	Sdílení mtDNA sekvencí a haplotypů	42
9.	Výsledky	43
9.1.	Intra-populační analýza	43
9.2.	Inter-populační analýzy.....	48
9.3.	Sdílení mtDNA sekvencí a haplotypů.....	52
10.	Diskuse.....	55
10.1.	Genetická struktura východního sahelu	55
10.1.1.	Genetická diverzita povodí Nilu	55
10.1.2.	Genetická diverzita Čadské pánve	58
10.1.2.1.	Euroasijská komponenta Čadské pánve	60
10.1.3.	Genetická diverzita Afrického rohu.....	62
10.2.	Sdílení haplotypů mezi sahelskými a okolními populacemi	63
10.2.1.	Šíření afrických haploskupin východním sahelem	64
10.2.2.	Haploskupiny euroasijského původu ve východní a severní Africe.....	66
11.	Závěr	69
12.	Seznam zkratk	72
13.	Seznam použité literatury	73
14.	Seznam příloh	85

1. Úvod

Severovýchodní Afrika je místem, kde se odehrála důležitá kapitola lidské historie. Někdy je označována za kolébku lidstva – a také místo odkud se naši předkové rozšířili do Euroasie.

Sahel, který odděluje těžko obyvatelnou Saharu od vlhčí tropické Afriky, dnes slouží jako vhodné prostředí pro transhumaci pasteveckých populací závislou na měnících se ročních cyklech. V minulosti sehrál důležitou roli jako obousměrný koridor nejen horizontálně, ale i vertikálně migrujících populací. Jeho geografické vymezení a směry migrací se měnily společně s klimatickými podmínkami. V obdobích příznivých a vlhkých docházelo k jeho rozšíření na sever spojeným s expanzí a zvýšenou migrační aktivitou populací severní Afriky. Suchá a nehostinná období vedla k postupné desertifikaci a zvětšování Sahary a sahel se přesouval jižním směrem, což bylo spojené i s migracemi populací k místům, které zajišťovaly dostatek potravy a vodních zdrojů. Ve východním sahelu se jednalo především o povodí řeky Nil a Čadské jezero. Tato refugia se stala důležitým kontaktním místem afrických, ale také nově přichozích euroasijských populací. Krom toho je údolí řeky Nil některými lingvisty považováno za místo původu nilosaharské a afroasijské jazykové rodiny, které dnes převažují u populací severovýchodní Afriky.

Studium populační struktury severovýchodní Afriky nám může pomoci osvětlit složitou historii afrického kontinentu, sledovat dopad zpětných migrací euroasijských populací, ale také rozšíření nových subsistenčních strategií holocénu – kočovného pastevectví a usedlého zemědělství, které významně ovlivnily obraz genetické výbavy člověka i mimo území Afriky či Blízkého východu.

Historii lidstva i jeho lokálních populací lze studovat pomocí několika vědeckých oborů, mezi nimiž má nejdelší tradici archeologie a kosterní antropologie. Ty na základě určení stáří nálezů a morfologie kostí a dalších ukazatelů u nalezených fyzických pozůstatků (např. stopové prvky a další) odhalují kus minulosti dřívějších populací a civilizací. Avšak vzhledem k špatné zachovalosti koster dané drsným africkým klimatem a často komplikovanou bezpečnostní situací v některých regionech, která znemožňuje systematický výzkum, by byla takováto rekonstrukce neúplná. Velký význam proto v poslední době hrají také lingvistické a především archeogenetické studie, které analýzou diverzity dnešních populací testují modely vypovídající o dávné minulosti studovaných populací.

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na studium genetické struktury a migrační aktivity východního sahelu na základě analýzy kontrolní oblasti mitochondriální DNA (dále jen mtDNA). Zkoumané populace bylo možné odlišit z geografického, lingvistického, subsistenčního i historického hlediska. Byly vybrány zástupci tří hlavních afrických jazykových rodin (nilosaharské, nigerokonžské a afroasijské) a různých subsistenčních strategií (usedlí zemědělci a kočovní pastevcí). Analyzovány byly i vzorky mladších arabských populací, které do východní Afriky dorazily během islamizace regionu v raném středověku. Nejmladší ze souboru byla pastevecká populace beduínu Rašajda, která podle historických dokladů dorazila k africkému pobřeží Rudého moře z Arábie teprve na konci 19. století.

V první části diplomové práce uvádím základní informace o geografii a klimatických podmínkách sahelu. Věnuji se zde vývoji prostředí a kultury v regionu, klimatickým proměnám v období pleistocénu a holocénu a také etnolingvistické struktuře tamních populací. Přednostně se logicky věnuji těm populacím, které jsem měla k dispozici. V praktické části jsou pak popsány metody, které jsem pro své analýzy využila. Výsledky jsou porovnávány s dalšími genetickými, archeologickými a lingvistickými studiiemi v diskusi.

2. Cíle práce

Cílem mé práce bylo na základě analýzy HVS-I a HVS-II segmentu mtDNA dvanácti populací východní Afriky popsat genetickou strukturu východního sahelu a porovnáním s lingvistickými a historickými daty navrhnout možné modely minulé migrační aktivity daného regionu.

Cesta k tomuto cíli vedla přes několik kroků, které lze shrnout v těchto bodech:

- Izolace, amplifikace a sekvenace HVS-II segmentu mtDNA izolované ze 434 vzorků slin u celkem 9 populací Čadu a Súdánu, připojení již osekvenovaného HVS-I segmentu a vytvoření tak kompletního kontrolního úseku mtDNA.
- Provedení intra- a inter-populačních analýz. Porovnání genetických a geografických vzdáleností mezi populacemi pomocí Mantelova testu; pro inter-populační analýzy jsem nově získanou databázi rozšířila o tři populace Afrického rohu, jejichž sekvence byly dostupné z publikovaných studií.
- Identifikace haploskupin a jejich zastoupení.
- Interpretace výsledků a jejich konfrontace s již publikovanými daty v diskusi.

Je nutné zdůraznit, že se ve své práci zabývám hodnocením mtDNA, která je přenášena pouze maternálně. Uvedené výsledky se tedy týkají výhradně ženské části populací. Jejich význam však nabývá při porovnání s již publikovanými analýzami Y chromosomu a nukleární DNA.

3. Přírodní a klimatické poměry severní a východní Afriky

Afrika je po Asii a Americe se svojí rozlohou 30,27 milionů km² třetím největším světadílem. Její plocha zaujímá přibližně 20,3% ze světové souše a rozkládá se téměř symetricky po obou stranách rovníku. Na severu je Afrika od Evropy oddělena Gibraltarským průlivem, na východě ji s Asií spojuje Suezská šíje.

Reliéf Afriky je možné rozdělit do dvou částí. Povrch východní a jižní Afriky je tvořen převážně náhorními plošinami s vystupujícími horskými masívy do nadmořských výšek 1000–1800 metrů. Proto je tato oblast označována jako vysoká Afrika, kde v průběhu třetihor došlo k postupnému vzniku východoafrické riftové soustavy, Etiopské vysočiny se stratovulkány a k formování pánví střední a jižní Afriky, mezi které patří i Čadská a Konžská pánev. Severozápadní Afrika je označována jako nízká Afrika, neboť zde převládají polohy do 600 metrů nad mořem. Prvohorní mořské transgrese vedly k postupnému vzniku zón poklesu (jihosaharská a severosaharská oblast) a zdvihu (středosaharská, guinejská oblast) (Šerý, 2011).

Charakteristickým geografickým rysem severní Afriky se stal rozsáhlý pouštní systém Sahara, který svou rozlohou zaujímá 8,7 milionu km². Ve vyšších polohách dominuje skalnatý typ pouště hamada, níže se nachází písečné (erg) a šterkovité pouště (reg), které ale tvoří jen 20% z celkové plochy. Poměrně rovinatý a mělký reliéf západní Sahary směrem na východ přechází v sopečná pohoří Air, Ahaggar či Tibetsi. Na pomezí Čadu a Súdánu se nachází pískovcová plošina Ennedi, která dosahuje nadmořské výšky až 1400 metrů. Při pobřeží Rudého moře vzniklo alpínským vrásněním pohoří s horskými pouštěmi (Shahin, 2002).

Köppenova klasifikace podnebí řadí Saharu do horkého aridního podnebí s velkými teplotními rozdíly mezi dnem a nocí, silnými větry a minimálními dešťovými srážkami. Dle vlhkostního indexu jsou její jednotlivé pouště děleny na hyperaridní s nulovými ročními dešťovými srážkami, aridní, kde se roční srážky pohybují mezi 25-200 mm a semiradní se srážkami až do 500 mm (Grove, 1977). Jejich rozložení je do velké míry ovlivněno posunem intertropické konvergenční zóny (ITCZ), která se pohybuje severojižním směrem v závislosti na ročním období. ITCZ je zónou nízkého tlaku a vzniká v místě střetu zimního suchého větru harmatan a dešťových monzunových větrů z jihu. Změnami v rozdílech tlaku dochází ke změně směru monzunových větrů. V červenci tak tropický monzun přivádí z jihozápadu vlhký oceánský vzduch, což se projevuje obdobím

dešťů. Do Sahary zasahují především dva významné dešťové režimy. Severní Saharu ovlivňují spíše polární deště, jižní získává vláhu převážně z letního proudění monzunu z Guinejského zálivu. Severovýchodní Afrika se však nachází mimo dosah polární fronty i letního monzunu, a proto sem vlaha proniká jen velmi zřídka (AMCEN, 2011; Shahin, 2002).

Od Sahary je subsaharská oblast oddělena horizontálním pásem rovinatých stepí a savan, tzv. sahelem (arabsky břeh), který se rozkládá mezi 12° a 20° rovnoběžkou severní šířky a slouží jako přechodová zóna mezi těmito ekologicky odlišnými prostředími. Spodní hranice sahelu se vlivem intenzivní desertifikace Sahary v posledních desetiletích posunuje stále jižněji. Na úbytek lesnatých savan mají vliv kromě klimatických faktorů i faktory antropogenní, především zvýšená zemědělská produkce, nadměrné pastevectví, odlesňování či nevhodné zavlažovací postupy (Lošťák, 2006).

Dle Köppenovy klasifikace podnebí spadá sahel do horkého semiaridního klimatu, pro které je charakteristická nízká vlhkost, vysoké teploty a střídání krátkých období dešťů s obdobími sucha. Souhrn ročních srážek se v sahelu pohybuje od 150 mm na severu do 600 mm na jihu. Tomu odpovídá i zdejší vegetace, kdy jižní husté lesní porosty směrem na sever ubývají a jsou nahrazovány trnitými keři. Nejčastěji se zde vyskytují různé druhy akácií (čeledi *Mimosaceae*), které rostou v pravidelných rozestupech a vytváří parkový ráz krajiny. Tento ekosystém je vhodný převážně pro pastevecké populace, které využívají rozsáhlé travnaté stepi k pastvě hovězího dobytka, velbloudů, ovcí a koz. Stálé osídlení je možné pouze v oblasti nevysychajících vodních zdrojů, jako je např. Čadské jezero nebo údolí řeky Nilu (Šerý, 2011; Černý, 2006).

4. Vývoj prostředí a archeologických kultur

4.1. Oscilace klimatických podmínek

V pleistocénu a holocénu docházelo v souvislosti s dlouhodobými klimatickými změnami k různě silným oscilacím vegetačních pásem, což umožnilo mj. i rozšíření populací do jinak neobyvatelných území Sahary (Sutton, 1974). Střídání suchých a vlhkých období v Africe za posledních 140 tisíc let jsou znázorněny na obrázku 1.

Dynamika změn klimatických podmínek je dána především tzv. Milankovičovými cykly, v rámci nichž se mění tzv. insolace, tedy dopadající množství sluneční energie na zemský povrch. Na rozdíl od změn ve vyšších zeměpisných šířkách, které se projevují vznikem rozsáhlých ledovců a výrazně chladným a suchým klimatem, směrem k rovníku jsou změny patrné spíše na hydrologické úrovni v závislosti na aktivitě monzunů. Pomocí klimatologických modelů bylo zjištěno, že nárůst insolace o 7% vede k zvýšení aktivity monzunu až o 17% (Kutzbach a Liu, 1997).

4.1.1. Změny klimatu a přírodních podmínek v pleistocénu

Pro období čtvrtohor v Africe je charakteristické střídání pluviálních a interpluviálních období, což se v oblasti Sahary projevilo oscilací pouštní a středomořské vegetace. Vlhká období spojená s rozšířením vegetačního pokryvu na sever a zvýšením objemu vodních ploch byla patrná v intervalech před 135–115 tisíci, 100–75 tisíci a 45–35 tisíci (Blome et al., 2012).

První období „zelené Sahary“ pleistocénu je datováno do kyslíkového izotopového stádia MIS 5, které začalo přibližně před 130 tisíci lety. Jezerní sedimenty nalezené v saharských pánvích dokládají existenci obrovských paleojezer, z nichž nejrozsáhlejší byly Mega-Fezzan v Libyi, Mega-Chott v Alžírské pánvi a Mega-Čad (Shahin, 2002). Podle paleohydrologických dokladů bylo tehdy možné přejít skrze Saharu, což mohlo vést k rozšíření subsaharských populací až k pobřeží Středozemního moře. Některé studie toto období označují jako počátek prvních migrací anatomicky moderních lidí ven z Afriky (Petraglia, 2011).

4.1.2. Změny klimatu a přírodních podmínek v holocénu

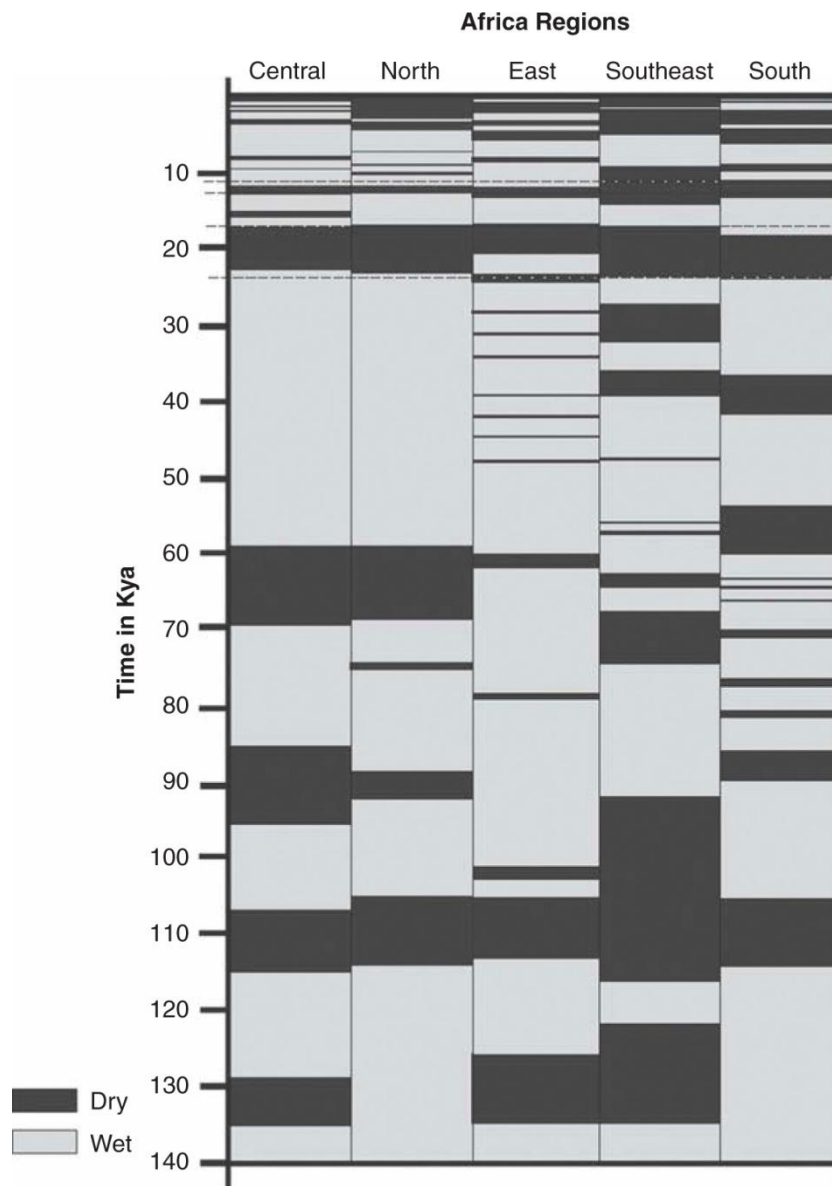
V období posledního glaciálního maxima panovaly v Africe aridní podmínky, které před 10 tisíci lety vystřídalo vlhké období trvající přibližně 5 tisíc let. Postupný přesun jednotlivých horizontálně probíhajících vegetačních pásem směrem na sever vedl k rozšíření stepí a savan do oblasti dnešní Sahary. Paleohydrologické analýzy staršího holocénu Sahary poukazují na vznik rozsáhlého systému řek a jezer, díky kterým se tato oblast stala koridorem pro populace migrující z jihu na sever a opačně (Drake et al., 2011). Jedním z nejrozsáhlejších jezer ve středním sahelu bylo Mega-Čadské jezero s rozlohou až 330 tisíc km² (Drake a Bristow 2006), které přes Bahr el-Ghazal zatopilo i Bodelskou depresi až k pohořím Tibetsi a Ennedi (Černý, 2006). V oblasti severního Súdánu se vytvořilo menší západonúbijské jezero, které svou rozlohou 5330 km² pokrývalo až 15% historické západní Núbie (Hoelzmann et al., 2001).

Posun vegetačních pásem před 10–5 tisíci lety potvrzují i pylové analýzy z oblasti severního Súdánu, které vypovídají o zastoupení dřevin sahelsko-súdánského vegetačního pásma. Přítomná byla také pylová zrna rostliny *Myriophyllum spicatum*, která roste výhradně u otevřených vodních ploch, stromy se na Sahaře vyskytovaly ostatně především v uspořádání galeriového lesa (Krunner, 2012; Jahns, 1995). V oblasti je také možné pozorovat nálezy fauny charakteristické pro savanu, jako jsou sloni, žirafy, hyeny, nosorožci, ale také hroši, krokodýli nebo mořští ptáci (Peters et al., 1994). Kromě kosterních nálezů se jedná i o nálezy rytin a maleb na středosaharských skalních masivech často narativního charakteru (Holl et al., 2016).

Před přibližně 5 tisíci lety došlo k opětovnému nastolení suššího klimatu následovaného rozšiřováním Sahary, což vedlo k oddělení subsaharské Afriky od pobřeží Středozemního moře. Radiokarbonové záznamy v různých lokalitách severní Afriky poukázaly na diachronní konec vlhké fáze Sahary (Nicoll 2004). Aridní podmínky byly patrné nejprve v oblasti dnešního Egypta, později jižně v Súdánu a dalších částech východní Afriky (Kröpelin et al., 2006).

Spojení mezi Saharou a subsaharskou Afrikou představovalo pouze povodí řeky Nil na východě Afriky, kde došlo k postupnému vzniku prvních usedlých civilizací. Pylové záznamy ze severního Čadu poukazují na úbytek dřevin a sahelských travin na konci vlhkého období holocénu (Kröpelin, 2008). Hladina Čadského jezera se výrazně snížila a Čadská pánev se postupně stávala oblastí izolovanou od severoafrických populací.

Gravitačním centrem se stalo Čadské jezero, ke kterému začaly migrovat středosaharské pastevecké populace (Drake et al., 2011).



Obrázek 1. Střídání vlhkých (světlá) a suchých (tmavá) období v Africe za posledních 140 tisíc let podle Hirba et al., 2012

4.2. Paleolit - kulturní a historický vývoj

4.2.1. Starý paleolit

Rozmezí starého paleolitu spadá do geologické epochy středního pleistocénu, pro který jsou charakteristické časté oscilace klimatických podmínek. Z tohoto období se zachovaly především jednoduché kamenné industrie (např. pěstní klín), využívané však pravděpodobně byly i nástroje z materiálů organického původu.

Jako první archeologická kultura je podle dosavadních nálezů označována kultura oldovan, pojmenovaná podle lokality Olduvaj Gorge v Tanzanii. Archeologická naleziště oldovanu převažují ve východní a jižní Africe, což vedlo k původnímu chybnému předpokladu, že se jedná o výhradně africkou kulturu. Jednoduché kamenné nástroje byly nalezeny i v jiných regionech Afriky, avšak jejich datování je značně problematické (Willoughby, 2006).

Před 1,5 miliony lety se ve východní Africe, především v povodí Nilu a v okolí Velké příkopové propadliny, objevují složitější kamenné industrie, které jsou zařazeny k ašelenské kultuře. V Čadské pánvi byly objeveny severní naleziště Ehi Kournei a Gira Gira v Tibesti a Silemi v nigerském Kawaru. Později se ašelénská kultura rozdělila do tří hlavních podob – v jižní Africe se jednalo o fauresmitien, v údolí Nilu levalloiskou industrii a ve vlhčích oblastech sangoan. Pro toto období jsou charakteristické migrace populací do oblasti tropických savan, které na rozdíl od tropických lesů nabízely bohatší zdroje potravy (Herries, 2011).

4.2.2. Střední paleolit

Pokročilejší levalloiská technologie výroby úštěpů pomocí předem připravovaných jader dlouho převládala v okolí jezera Čad a severovýchodní Africe i v období středního paleolitu, zatímco v severozápadní Africe se v této době rozšířila kultura aterién. Technologicky složitější industrie ateriénu se nacházely od dnešní Mauretánie až po oázy v egyptské Západní poušti. Vzhledem k četným maghrebským nalezištím je tato kultura spojována s původem berberských populací. Její rozšíření je patrné i v severozápadní části Čadské pánve, kam byla zanesena nejspíš před 33–19 tisíci lety (Clark, 1982; Černý, 2006).

4.2.3. Mladý paleolit

Nehostinné podmínky Sahary před 35–15 tisíci lety vedly k přesunutí populací jižněji do sahelu, což dokládá i výskyt ateriénské kultury v oblasti Čadské pánve před přibližně 19 tisíci lety. Neobyvatelnost Sahary potvrzuje i tamější nedostatek archeologických nálezů z tohoto období (Drake et al., 2011).

Raný holocén je spojován s výraznou změnou klimatických podmínek. Vlhké období před 10–5 tisíci lety vedlo ke vzniku tzv. zelené Sahary a podobně jako v pluvialních obdobích pleistocénu došlo k rozšíření jezer a řek, které umožňovaly přesun populací skrze Saharu (Drake et al., 2011). To dokládají i archeologické nálezy spojované s tzv. vodní civilizací (*aquatic civilization*). Jedná se především o zoubkované předměty z kostí, které pravděpodobně sloužily jako součást harpun používaných k lovu ryb a vodních živočichů. Jejich stáří je nejméně 7 tisíc let a byly nalezeny od východoafrického riftu až na západ kontinentu. S šířením této civilizace jsou spojovány také nálezy keramiky zdobené vlnkovitým motivem (*wavy-line*), nebo tečkovaným vlnkovitým motivem (*dotted wavy-line*), jejichž stáří je nejméně 6 tisíc let. Tato keramika je rozšířená od centrální Sahary až k nilskému údolí. Nejznámější naleziště jsou v Libyi, v alžírském Hoggaru nebo v Gabrongu v Súdánu. Podobné stáří keramiky nalezené ve východní Sahaře a v Levantě přivedlo některé archeology k závěru, že tato keramika se do střední Afriky rozšířila společně s neolitickou expanzí zemědělských populací. Keramika z východní Afriky však vykazuje odlišný typ výzdoby. Zatím neexistují přesvědčivé důkazy, které by spojení těchto dvou keramických kultur potvrzovaly (Sutton, 1974).

Rozšíření nalezišť harpun a keramiky s vlnkovitým motivem se z velké části shoduje s dnešním rozšířením nilosaharské jazykové rodiny v oblasti střední části sahelu a východní Afriky. Podle teorie vodní civilizace patřili původní nilosaharské populace k rybářům, kteří se v období holocenního klimatického optima rychle rozšířili do Sahary, kde se v té době nacházelo velké množství jezer a řek. Na základě lingvistických analýz bylo mimo jiné doloženo spojení výrazu „hroch“ a „krokodýl“ mezi dnes velmi vzdálenými nilosaharskými populacemi jako např. u Gumuzů z Etiopie a Songhajců z Mali (Drake et al., 2011).

Přibližně před 5 tisíci lety došlo vlivem zvyšujícího se sucha k postupnému rozšiřování Sahary a populace se začaly opět více shromažďovat v úrodném okolí Nilu,

podél kterého také pronikaly první zemědělské technologie ze severní Afriky a Blízkého východu (Willoughby, 2006).

4.3. Neolit – rozšíření nových subsistenčních strategií

Zatímco pro období paleolitu je charakteristický pouze jen lovecko-sběračský způsob života, v neolitu se v Africe objevují nové subsistenční strategie. Za počátek neolitu je považováno období před 10 tisíci lety, kdy v oblasti tzv. Úrodného půlměsíce a severovýchodní Afriky dochází k domestikaci některých zvířat a rostlin. Rozšíření pasteveckého a zemědělského způsobu života je dnes možné pozorovat pomocí lingvistických, archeologických i genetických studií (Scheinfeldt et al., 2010).

4.3.1. Vznik a šíření zemědělského způsobu života

Jedna z možných hypotéz vzniku zemědělství je díky nepříznivým ekologické podmínkám, ve kterých se zisk potravy stal stále více časově náročným a bylo výhodné vytvořit si dostatečné zásoby potravy pro celý rok na jednom místě (Damania et al., 1998; Clark, 1982). První domestikované obiloviny na území severní Afriky (pšenice a ječmen) byly nalezeny v egyptském nalezišti Mermda bení Saláma a Fajjúm. K jejich domestikaci došlo v oblasti Úrodného půlměsíce před 10 tisíci lety. Vzhledem k odlišným klimatickým podmínkám v subsaharské Africe se však dále do Afriky nerozšířily (Neumann 2003). Pro kultivaci a domestikaci rostlin v severovýchodní Africe byl důležitý pokles hladiny Nilu, který umožnil vznik rozsáhlých ploch a úrodných půd. Z analýzy otisků semen na keramických nádobách pocházejících z raného a středního holocénu, bylo doloženo, že některé rostliny byly v oblasti Súdánu využívány zhruba o 2 tisíc let dřív, než se původně myslelo. Přímý důkaz kultivace však stále chybí, a proto je jako dominantní způsob obživy v tomto období považován sběr zrn divokých trav (Bunter a Abdel-Magid, 1989), podobně jako je tomu dnes u Čadského jezera (Batello et al., 2004).

Harlan (1998) na základě dnešního rozšíření planých travin vhodných pro konzumaci člověkem definoval dvě možné oblasti původu afrického zemědělství. Za první z nich označil pás v subsaharské oblasti od Atlantiku k Rudému moři v úrovni dnešního sahelu, jako druhou oblast vymezil vrchovinu východní Afriky a částečně Ugandu. Nejrozšířenější plodiny domestikované v Africe, které vykazují dostatečnou odolnost vůči suchým podmínkám, jsou čirok *Sorghum bicolor* a dochan *Pennisetum glaucum*. Čirok byl

podle Harlana (1998) domestikován v oblasti Súdánu a Čadu, dochan pak v savaně táhnoucí se od Senegalu po Súdán. Datace počátku zemědělství v Africe je tedy určena před přibližně 4 tisíci lety.

Lingvistické studie prokázaly spojení mezi proto-afroasijskými jazyky a šířením obilovin čiroku a dochanu. Názvy těchto obilovin se hojně nachází ve východní kušitské i západnější čadské větvi. Předpokládá se tedy, že k rozdělení těchto jazyků došlo až po ustálení výrazů pro tyto dvě obiloviny (Blench, 2006).

Zemědělský způsob života se z východní a střední Afriky postupně rozšířil téměř po celém kontinentu. Do jižní a jihovýchodní Afriky expandoval přibližně před 5 tisíci lety z Nigérie a Kamerunu podél řeky Benue společně s nigerokonžskými jazyky Bantu. Jihu kontinentu bantuské populace dosáhly před přibližně 1,5 tisíci lety. Jejich trasa byla dlouho předmětem sporů, kdy tradiční teorie předpokládala rozdělení bantuských jazyků na západní a východní větev přibližně před 4 tisíci lety. Západní větev pokračovala skrze pralesy Konžské pánve na jih kontinentu, zatímco východní směřovala k Velkým jezerům. Alternativní teorie více podporovaná lingvistickými a genetickými studiemi vychází z rozdělení bantuských jazyků až po dosažení jižního okraje Konžského pralesa, přibližně před 2 tisíci lety (Currie et al., 2015; de Filippo et al. 2012).

4.3.2. Vznik a šíření pasteveckého způsobu života

První doklady o chovu skotu jsou v severovýchodní Africe datovány do období před 9–11 tisíci lety (Wendorf et Schield, 1998). Na rozdíl od Blízkého východu, kde bylo pravděpodobně upřednostňováno pěstování rostlin, v Africe došlo k rozvoji chovu hovězího dobytka. Nejstarší naleziště kostí pravěkého skotu se nachází v pouštní oblasti severovýchodní Afriky – Nabta Plaja a Bir Kiseiba a jsou staré přibližně 8–7 tisíc let (Gautier 1980; Wendorf a Schield, 2001). Vzhledem k nehostinnému klimatu severovýchodní Afriky je pravděpodobné, že skot by v takovýchto podmínkách bez pomoci člověka nepřežil. Prvotní využití dobytka pro mléko, nikoli pro zisk masa, podporují především archeologické záznamy, kde bylo pozorováno poměrně nízké zastoupení kostí mladšího dobytka, což neodpovídá brzkým porážkám mladého skotu pro maso. Z nálezů v nigerském Adrar Bus je patrné, že docházelo i k obětování těchto zvířat i při kultovních obřadech (Smith, 2005; Černý, 2006).

Zda pasterectví bylo importováno společně s agrikulturním způsobem života z Blízkého východu, anebo má svůj původ v severovýchodní Africe není zatím zcela objasněno. Nicméně genetické analýzy dnešních afrických plemen podpoují spíše severoafrickou hypotézu (Hannote et al., 2002). Pro africký původ hovoří i lingvistické rekonstrukce Ehreta (1967, 2002), který pozoroval spojení východosúdánských, středosúdánských a jihokušitských jazyků s šířením chovu dobytka ze severovýchodní Afriky jižním a západním směrem. Jako jeden z mnoha příkladů uvádí proto-kušitské slovo „*hlee*“, v překladu hlava dobytka, které má společný původ se slovem „*hline*“, v překladu jalovice, který se nachází u jazyka Mbugu jihokušitské větve. Ve svých závěrech Ehret (2002) uvádí i separátní šíření chovu dobytka pro mléko a pro maso.

S vývojem nového způsobu života závislým na mléčné produkci, se převážně u pasterectvých populací objevila nová genetická adaptace tzv. laktázová perzistence. Jedná se o výsledek pozitivní selekce, kdy bylo výhodné zachovat si schopnost trávit mléčný cukr laktázu i v dospělosti. Nejpravděpodobnějším důvodem by podle kulturně-historické hypotézy mohl být fakt, že mléko poskytovalo pasterectvům lehký dostupný zdroj energie (McCracken 1971, Simoons 1970). Aridní hypotéza pak vychází z nedostatku pitné vody u pasterectvých populací Afriky a Arábie, kdy mléko mělo sloužit jako náhradní zdroj těžko dostupných tekutin (Cook a Al-Torki 1975). Mutace genu pro produkci laktázy v dospělosti byly pozorovány i mimo Afriku u severoevropských populací, kde kvůli omezenému slunečnímu svitu hrozila nedostatečná produkce vitamínu D a s tím spojené onemocnění křivici (Gebrault et al., 2011).

Gen kódující enzym LPH (laktáza-phlorizin hydroláza) se nachází na 2. chromozomu a obsahuje 17 exonů, ve kterých bylo identifikováno 11 mutací vyskytujících se v různých haplotypech. Analýzou těchto mutací lze mj. i sledovat trasy afrických pasterectvých populací. V severovýchodní a východní Africe je možné pozorovat zastoupení především tří polymorfismů. Jeden z nejčastějších je 14010*C, který se dnes hojně vyskytuje především u východoafrických populací. Do Keni a Tanzanie se dostal buď společně se šířením afroasijských pasterectvů z Etiopie v průběhu posledních 5 tisících let, nebo s nilosaharskými populacemi z jižního Súdánu před přibližně 3 tisíci lety (Tiskhoff et al., 2007). V severovýchodní Africe je pak možné pozorovat vyšší zastoupení mutace 13907*G. Alela 13915*G je pak spojována s domestikací velbloudů v Arábii a do severovýchodní Afriky se rozšířila až později společně s invází arabských populací v 7. století. (Priehodová et al., 2017).

5. Etnolingvistická struktura východní a severní Afriky

5.1. Jazyková diverzita Afriky

Afrika je označována jako místo s poměrně vysokou lingvistickou diverzitou. Na celém kontinentu můžeme pozorovat více než 2 tisíce různých lingvistických celků, které se na základě jejich vzájemné fonologické a morfologické podobnosti rozdělují do čtyř základních rodin: nigerokonžská, nilosaharská, afroasijská, khoisánská (Simons et al., 2017). V některých zdrojích je popisována i pátá jazyková rodina austronéská, kterou však můžeme pozorovat pouze na ostrově Madagaskar, a jejíž původ není africký, ale austronésky (Beaujard 2011).

Zastoupením jednotlivých jazyků na konkrétních geografických územích se zabývá lingvistická geografie. Na jejím základě rozdělili lingvisté Heine a Nurse (2000) Afriku do 6 fonologických zón: severní, východní, súdánskou, riftovou, střední a jižní. Hranice těchto zón z velké části korespondují s klimatickými podmínkami v dané oblasti.

Do severovýchodní části Afriky zasahují tři fonologické zóny. Ve velmi homogenní severní zóně, která sahá až k severní hranici sahelského pásu, se nachází z větší míry zástupci afroasijské rodiny, a to převážně její semitská (arabština), kušitská, nebo berberská větev. Ve východní zóně, zahrnující tzv. Africký roh (Etiopie, Somálsko, Eritrea), převažují, podobně jako v severní zóně, jazyky afroasijské rodiny. Rozdělujeme ji na část etio-semitskou na severu, kušitskou na východě a jihu a omotickou na západě.

Jazykově nejbohatší zónou je zóna súdánská, která je lokalizována mezi Saharou a tropickými pralesy a zahrnuje většinu populací sahelu. V tomto regionu můžeme najít téměř všechny ne-bantuské jazyky (a některé bantuské) z nigerokonžské rodiny, a to převážně v její západní části. Dále se zde nacházejí jazyky čadské a semitské větve z rodiny afroasijské a na východě a severovýchodě jazyky rodiny nilosaharské (Heine a Nurse 2000).

5.1.1. Původ a rozšíření nilosaharské jazykové rodiny

Nilosaharskými jazyky dnes hovoří spíše izolované skupiny pastevců a agropastevců střední a severovýchodní Afriky (Hirbo et al., 2012). Jedná se zhruba o 140 jazyků, jejichž zařazení je z lingvistického hlediska velmi problematické a v minulosti se často měnilo (Blench, 2006). Důvodem je jednak vzájemná rozmanitost jazyků, ale také obtíže spojené

s jejich prozkoumáváním. Jejich zástupci často žijí na těžko dostupných místech a většinou nedisponují písemnými záznamy. Jednotlivé větve nilosaharské rodiny jsou tvořeny jak samotnými jazyky (songajština, furština, kumaština, berština), tak i celými větvemi (východosúdánská, středosúdánská, mabská a komuzská).

Za místo původu nilosaharské rodiny je většinou lingvistů považována oblast mezi Modrým a Bílým Nilem ve středním Súdánu. Poprvé se objevuje přibližně před 18 tisíci lety, o tisíce let dříve než se v severovýchodní Africe rozšířilo zemědělství. U proto-nilosaharských jazyků nebyly zaznamenány výrazy pro domestikované rostliny a zvířata (Blench, 2006). Extrémní sucho, které v Africe panovalo na konci poslední doby ledové před 20–12 tisíci lety, vedlo k tomu, že většina Sahary se stala neobyvatelnou. To nejspíš vedlo k přesunu nilosaharsky mluvících skupin směrem na jih, kde se postupně rozšířily od hranic Súdánu s Etiopií na východě po jezero Čad na západě. V této oblasti postupně vznikaly jazyky větve východosúdánské, mabská větev nebo furština.

S příchodem holocénu došlo ke zlepšení klimatických podmínek, což vedlo k tomu, že se před 9,5 – 8 tisíci lety rozšířily nilosaharské jazyky směrem na západ k povodí řeky Niger (proto-songhajština) a také směrem na sever (proto-saharština) (Scheindfeldt et al., 2010). Před 6 tisíci lety se přesunula velká část nilosaharsky mluvící populace směrem na jih, k povodí řeky Zaire, což dalo vzniknout početné středosúdánské větvi, ke které se dnes řadí až 50 různých jazyků.

Výraznou etno-lingvistickou fragmentaci můžeme kromě středosúdánské větve pozorovat i u núbijských jazyků větve východosúdánské, které se dnes nacházejí především v jižním Egyptě a severním Súdánu. Zachovala se řada křesťanských textů psaných tzv. staronúbijštinou, která je považována za předchůdce některých dnešních núbijských jazyků. Vlivem arabizace a zničení núbijské království v období mezi 13.–16. stoletím n. l. pravděpodobně došlo k přesunu několika skupin do oblasti pohoří Núba (Blench, 2006).

5.1.2. Původ a rozšíření afroasijské jazykové rodiny

Afroasijská rodina zahrnuje asi 240 jazyků, kterými mluví převážně obyvatelé severní Afriky a podle původu se dělí na šest základních jazykových větví – kušitskou, berberskou, omotickou, čadskou a semitskou. Staroegyptština, jejíž poslední jazyk koptština vymizel v 17. století, je řazena samostatně (Greenberg, 1987).

Proto-afroasijský jazyk nejspíš vznikl v oblasti dnešní Etiopie, v místech, kde se dnes nachází větev omotická. Od něj se oddělily dvě původní větve – eritrejská a severní afroasijská větev. Eritrejská větev dala vzniknout větvi kušitské a čadské, severní afroasijská pak větvi berberské, egyptské a semitské.

Přibližně před 10 tisíci lety se od eritrejské větve oddělil proto-kušitský jazyk, u kterého byla lingvisty pozorována bohatá slovní zásoba v oblasti domestikace a chovu zvířat. V této době také došlo k přechodu z původní lovecko-sběračské subsistenční strategie na pastevecký způsob života. Kušitský jazyk je tedy spojován s prvními pasteveckými populacemi, které se rychle šířily do okolních oblastí. Některé populace se vydaly směrem na jih, na území Zambie, kde dnes pozorujeme již pouze izolované skupiny obklopené nigerokonžskými jazyky. Jiné zůstaly při pobřeží Rudého moře na severu Súdánu, které dnes reprezentuje populace Bedžů (Blench, 2006).

Podle vnitrosaharské hypotézy se směrem na východ k Čadskému jezeru od proto-kušitské větve oddělili předkové čadských jazyků. Za ohnisko jejich expanze je považována oblast severovýchodně od soutoku Modrého a Bílého Nilu a jejich cesta nejspíš vedla vyschlým cca tisíc kilometrů dlouhým řečištěm Wádí Howar. Tyto data korespondují s archeologickými nálezy „leiterbandské“ keramiky v této oblasti, která je datována do období před 8–4 tisíci lety (Jesse, 2007). Lingvistické rekonstrukce předpokládají její oddělení od kušitského jazyka přibližně před 6 tisíci lety. Ke vzniku a diverzifikaci čadské větve došlo s nejvyšší pravděpodobností ještě před dosažením Čadského jezera. V proto-čadském jazyce již pravděpodobně existovala slova pro skot, ovce či kozy, ale také pro čirok (Blench, 1999).

Podél řeky Nil směrem na sever se vydali asi před 7,5 tisíci lety zástupci severní afroasijské větve. Nejspíš se jednalo o pastevence, kteří se společně s divokým dobyt看kem a osly usadili v povodí Nilu, které jim nabízelo dostatečné zásoby vody i potravy. Zde došlo k pozdějšímu rozdělení jazyka na tři samostatné větve – egyptská zůstala při povodí Nilu, berberská se vydala směrem k západnímu pobřeží a semitská k pobřeží východnímu (Blench, 2006).

K oddělení berberské větve pravděpodobně došlo asi před 7 tisíci lety, kdy se berberští pastevcí vydali směrem na západ až k západnímu pobřeží severní Afriky. Zde zůstali rozšíření až do příchodu Arabů v 7. století. Podle lingvistických studií jsou berberské jazyky jen velmi málo diverzifikované, dokonce méně než velmi jednotné bantuské nebo polynéské jazyky. To by mohlo být vysvětleno jejich zpětnou migrací

(Blench, 2006). Dnes berberskou větev můžeme najít v oblasti Maghrebu, zejména v Maroku a Alžírsku, ale i v dalších zemích.

Proto-semitské jazyky se šířily do oblastí Blízkého východu, kde se již nejspíš vyskytovaly první sumerské, jihokavkazské nebo indoevropské jazyky. Zástupci semitských jazyků se postupně rozšířili po většině Arabského poloostrova, a to jak pevninskou cestou až k pobřeží Indického oceánu, tak i přes Rudé moře (Blench, 2006). Rozšíření etio-semitských jazyků v Africe dnes můžeme sledovat především v oblasti Etiopie a Eritrei, kde se objevují přibližně před 4 tisíci lety, tedy ještě před legendárním příchodem královny ze Sáby (Černý 2016). Není zcela objasněno, zda se do regionu Afrického rohu dostali severovýchodní cestou přes Levantu (Gandini et al., 2016), anebo blízkým geografickým kontaktem mezi východní Afrikou a jižní Arábií (Kitchen et al. 2009).

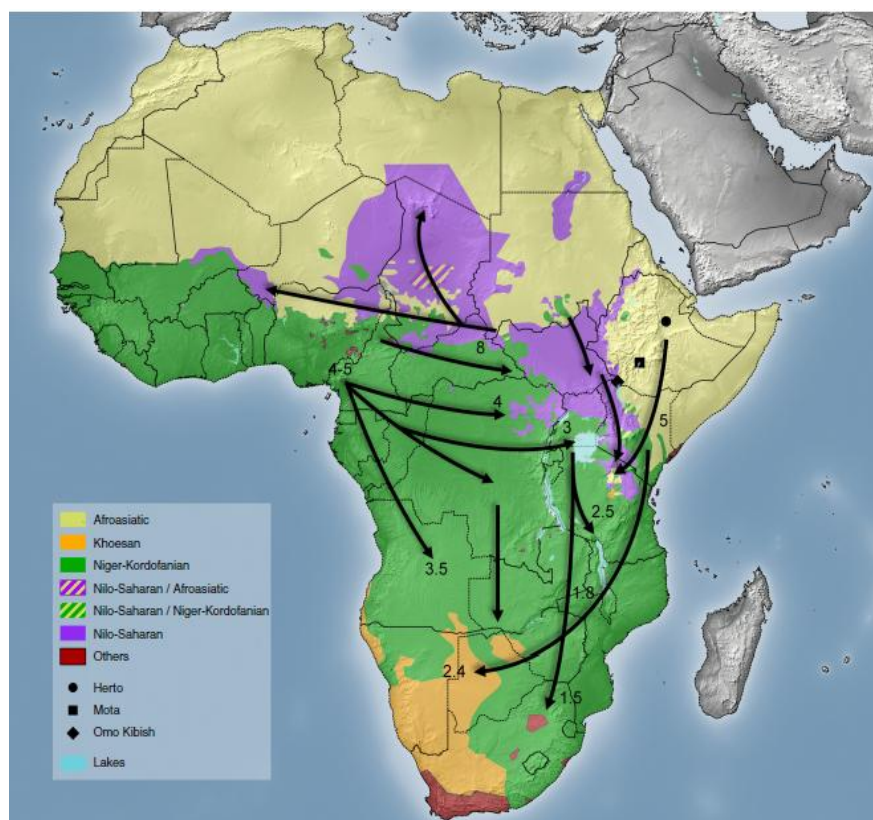
5.1.3. Původ a rozšíření nigerokonžské jazykové rodiny

Nigerokonžská jazyková rodina je dnes nejrozšířenější převážně v západní a střední Africe. Je velmi obtížné určit možné období jejího vzniku, neboť kromě bantuských jazyků zatím nebyla pozorována žádná spojitost s archeologickými nálezy. K její expanzi v období příznivých klimatických podmínek na počátku holocénu. První lidé mluvící nigerokonžskými jazyky byli nejspíš lovci a sběrači, kteří později převzali zemědělský způsob života. (Blench, 2006).

Z proto-nigerokonžského jazyka se oddělila osamocená kordofánská větev, která dnes tvořící asi 30 jazyků ve středním Súdánu, kde je obklopena jazyky nilosaharskými. Pro jejich tamější geografickou izolovanost byly navrženy tři možné hypotézy založené na původu nigerokonžské rodiny – první hypotéza předpokládá původ v západní Africe, kdy kordofánská větev je výsledkem jedné z prvních migrací směrem na východ. Druhá předpokládá, že původ leží v oblasti Núbských hor v Súdánu a později došlo k rozšíření rodiny do západní Afriky. Třetí pak staví původ nigerokonžské rodiny mezi tyto dva regiony. Pro potvrzení teorií však zatím neexistují přesvědčivé archeologické ani genetické důkazy, z části i proto, že oblast Núbských hor je nyní válečnou zónou, a proto zde není bezpečné provádět archeologické ani jiné studie (Blench, 2006).

Zbývajících devět větví nigerokonžské rodiny reprezentuje přes tisíc jazyků s nejvyšší diverzitou v pásmu Senegalu po Kamerun. S jejími zástupci se také setkáme v

dolních dvou třetinách kontinentu, které mluví asi 500 národností velmi podobnými bantuskými jazyky. Jazyky bantu vznikly nejpravděpodobněji v jihozápadním cípu Čadské pánve před přibližně 4–5 tisíci lety a ze své pravlasti expandovaly dvěma směry. První cesta vedla směrem na východ, do oblasti východoafrických jezer, kde nejspíš převzali od nilo-saharských populací zemědělský způsob života. Ta je spojována s tzv. čifumbazskou kulturou z období před 2,5 tisíci lety. Druhá skupina se vydala směrem na jih podél Atlantského oceánu do západoafrického deštného pralesa. Současné rozšíření afrických jazyků je znázorněno na obrázku 2.



Obrázek 2. Rozšíření jednotlivých jazykových rodin v Africe, černé linie s číslovkou označují hlavní směry a časové období jejich šíření. Číslovka označuje, před kolika tisíci lety k migraci mohlo dojít (Beltrame et al. , 2016)

5.2. Historie vybraných populací severovýchodní Afriky

Historie súdánských populací je úzce spjata s vývojem osídlení při toku řeky Nil v pozdním pleistocénu. Jako jedni z prvních obyvatel jsou označováni předkové nilosaharské populace Núbijců. Núbie je definována jako historická geografická oblast mezi prvním a šestým kataraktem řeky Nil. Tato oblast je spojována jednak se vznikem prvních pasteveckých populací a šířením zemědělských technologií z oblasti Úrodného

půlměsíce, jak potvrzují archeologické a lingvistické studie, ale také později se vznikem významných civilizací starověku (Strouhal 1989; Fischer et al., 2012). Dynamická historie starověké Núbie se odráží především v rozsahu „nubijské“ kultury, která byla archeology rozdělena do tří skupin označených A, B, C. Jejich rozšíření bylo do velké míry ovlivněno vztahy se sousední staroegyptskou civilizací. Významný vliv severovýchodních populací je možné pozorovat kromě období faraonského Egypta také v průběhu raného středověku s příchodem arabských populací v 7. Století, což se odráží v jejich kultuře (Strouhal, 1989) i genetickém složení (Krings et al., 1999).

Podle historických a lingvistických záznamů je patrné, že vedle nubijské a egyptské civilizace v súdánských pouštích existovali i pastevcí nazývaní Medžejové, později Blemmejové (Barnard et al., 1999). Podle lingvistických rekonstrukcí se jednalo o populace hovořící kušitským jazykem bedža (Ehret 2002) a s největší pravděpodobností šlo o předky dnešní stejnojmenné populace. Původně byli Bedžové velmi diverzifikovanou populací skládající se až ze 17 různých kmenů. Dnes se na území Súdánu můžeme setkat pouze s třemi původními kmeny Hadendowa, Amarar a Bisahryyin, a také skupinu semitských Bedžů (To-Bedwei), kteří mají arabský původ a jazyk Bedžů přijali až později. Jejich dnešní populační strukturu ovlivňují i změny ekologických podmínek v první polovině minulého století, které vedly k přesunu okolních populací k pobřeží Rudého moře, čímž se zvýšila konkurence mezi pastvinami. Sucho v 80. letech způsobilo až 80% ztráty dobytka, což motivovalo řadu pastevců k přesídlení do měst (Sidahmed, 2005).

Významný dopad na vývoj populační struktury nejen v Súdánu měl i příchod arabských (semitských) populací v tzv. Zlatém věku arabské civilizace. Jejich šíření je označováno jako tzv. arabizace Afriky a je spojována i s šířením islámu. Podle historických údajů v 7. století n. l. do Egypta vpadl arabský kmen Džuhajna pod vedením Amr Ibn al-Áse, který tehdejší provincii byzantské říše dobyl za necelé tři roky. Zde pravděpodobně také došlo k jejich rozdělení na dvě trasy. Část populace směřovala jižně do Súdánu, kde o několik staletí později překonala odpor křesťanské Núbie (Adam 2012, Levy a Holl, 2002) a odtud dále pokračovala k soutoku Modrého a Bílého Nilu. Většina z nich se zde usadila a začala se věnovat zemědělství nebo obchodu. Tyto imigranti jsou označováni jako súdánští Arabové a tvoří až 70% obyvatel Súdánu. Charakteristický je pro ně blízký kontakt s původními súdánskými populacemi, který se odráží jednak v přijetí víry islámu většinou zdejších populací, ale také na biologické úrovni (Krings et al. 1999). Některé pastevecké populace se odtud vydaly dál na východ podél sahelu až na území

dnešní Čadské pánve. Druhá, severní, trasa vede z Egypta do Libye, kde se zatáčí a pokračuje přes oázy na Sahaře až do Čadské pánve. Některé pastevecké populace se pak odtud vydaly východním směrem. Arabští pastevci hovězího dobytka mezi Súdánem a Čadem jsou označováni jako Baggara. V okolí Čadského jezera dnes však můžeme pozorovat také usdlé arabské populace. Příkladem je populace zemědělských Arabů Šuwa (Adam, 2012; Černý, 2006).

Nedávnou arabskou populací, která se usídlila na území Súdánu podél afrického pobřeží Rudého moře, jsou beduíni Rašajda, kteří sem dorazili na konci 19. století (Fadlala, 2007). Oblast jejich původu v Arábii, ze kterého putovaly do východního Súdánu, není zatím zcela objasněna, nejpravděpodobněji se ale jedná o saudský Hidžáz v blízkosti Mekky. Tuto možnost podporuje jednak existence tamějšího stejnojmenného kmene, ale také některé kulturní prvky (Young, 1996).

O historii čadských populací Mabů a Dangaleatů se nedochovalo příliš mnoho informací. Jejich původ je vysvětlován především pomocí lingvistických rekonstrukcí větví nilosaharské a afroasijské jazykové rodiny. Obě dvě tyto zemědělské populace se nachází v nevelkých vyvýšeninách ohraničujících Čadskou pánev - Mabové v pohoří *Ouddaï*, tzv. Waddaj, Dangaleati v blízkosti masivu Hedžeraj. Populace pohoří Waddaj tvoří zástupci mabské větve nilosaharského jazyka, ale také především semitských afroasijských jazyků, což lze vysvětlit existencí pouštního království Waddaj založeným arabským kmenem Džalídzou koncem 15. století (Černý 2006). Oproti lingvisticky různorodému složení pohoří Waddaj, populační složení masivu Hedžerej je poměrně jednotné už po mnoho tisíc let. Nachází se zde až na jedinou výjimku, výhradně populace čadské větve afroasijské rodiny, včetně jazyku dangaleat.

Původ lingvisticky různorodé populace Núbů nacházející se v jihosúdánské provincii Kordofán v pohoří Núba dodnes také nebyl zcela objasněn. Tato populace čítá přibližně 2,5 milionů obyvatel, které se řadí do téměř 50 různých kmenů. Až do 19. století žily jednotlivé núbské kmény izolovaně, avšak vláda Muhammada Ahmada, následující britská koloniální nadvláda a súdánská občanská válka v letech 1987–2001 vedly k přesunu jednotlivých kmenů do pohoří Núba, kde byla také nakonec v roce 2004 podepsána mírová dohoda. Mezi kmény Núbů se dnes nachází zástupci nilosaharské i nigerokonžské jazykové rodiny. Núbové Koalib jsou řazeny pod nejstarší kordofánskou větev, která by se měla podle lingvistů v pohoří Núba objevovat nejdříve. Určení původu kordofánské větve je však poměrně problematické, neboť nepřipomíná žádný

z nigerokonžských jazyků. Jazyk Koalib patří pod její nejstarší podvětev Heiben (Simons, 2017; Nanne op 't Ende, 2007).

6. Archeogenetika a studium lidské genetické diverzity

Archeogenetika je vědní obor, který aplikuje techniky populační genetiky ke studiu minulých lidských populací. Poprvé jej definoval britský archeolog a lingvista Colin Renfrew (Renfrew, 2001). V archeogenetice se kromě analýzy aDNA získané z archeologických pozůstatků využívají i analýzy genetických markerů současných populací. Získané informace z genetických dat jsou pak dále porovnávány se studii z dalších oborů, jako jsou archeologie, lingvistika, paleoantropologie, paleoklimatologie a další.

Hodnocení lidské variability se v průběhu času výrazně měnilo. První archeogenetické studie probíhaly již v „před-molekulárním“ období, ve kterých byly etno-lingvistické vztahy populací porovnávány s variabilitou lidských krevních skupin (Cavalli-Sforza et al., 1994). V současné době využívá archeogenetika molekulárně-genetické markery, mezi kterými převažují analýzy mtDNA, Y chromozomu nebo SNP polymorfismů autozomálních lokusů. Spojením laboratorních dat s metodami populační genetiky a konfrontací výsledků se studii dalších oborů byly učiněny výrazné poznatky o původu a vývoji celého lidstva (Jobling et al., 2013). Velké demografické události a selekční tlaky zanechaly v lidském genomu změny např. v úrovni alelických frekvencí, které se ukázaly jako mocný nástroj pro studium lidské evoluce a pochopení genetické variability lidské populace (Veeramah a Hammer, 2014).

6.1. Mitochondriální DNA

Mitochondriální DNA (mtDNA) je krátká kruhovitá molekula DNA, která se nachází v lidských buňkách v mitochondriích a tvoří mimojadernou genetickou informaci. Mitochondrie se stala součástí eukaryotické buňky při procesu eukaryogeneze, kdy byla podle endosymbiotické teorie pohlcena živočišnou buňkou. Původně se jednalo o protobakterii, která se nejvíce podobala dnešnímu rodu parazitárních bakterií *Rickettsia* (Emelyanov, 2003).

Na kruhové molekule lidské mtDNA rozlišujeme dva typy řetězců. Těžký řetězec H, který obsahuje vyšší množství purinů a k němu komplementární lehký řetězec L s vyšším obsahem pyrimidinů. Většina genů se nachází na těžkém řetězci a podobně jako geny bakterií neobsahuje introny (Snustad a Simmons, 2009).

Genom mitochondrie je dlouhý 16 569 párů bazí a lze rozdělit na kódující a nekódující část. V kódující části se nachází 37 genů, mnoho genů však bylo během evoluce horizontálně přeneseno do buněčného jádra. Nekódující část, tzv. kontrolní úsek, se skládá ze dvou hypervariabilních segmentů HVS-I a HVS-II (Anderson et al., 1981) a je označován také jako D-smyčka. Zde se k lehkému řetězci připojuje komplementární řetězec, který pravděpodobně slouží jako primer při zahájení replikace těžkého řetězce (Walberg et al., 1981). Tento region je často využíván pro populačně genetické analýzy, a to díky vysoké četnosti mutací, která vedou ke zvýšené sekvenční variabilitě. Mutační rychlost je zde až 10x vyšší než u nukleární DNA (Pakendorf a Stoneking, 2005; Howell et al., 2003).

První kompletní sekvenci mitochondriálního genomu publikoval v roce 1981 Anderson a spol. za účelem umístit geny mtDNA na konkrétní pozice v genomu a popsat tak jeho kompletní strukturu. Tato sekvence patřila člověku evropského původu a později byla označena jako CRS (Cambridžská referenční sekvence). V průběhu několika let se ukázalo, že obsahuje i některé sekvence z buněk HeLa a bovinní mtDNA, a proto bylo nutné provést korekci a resekvenaci. Nová sekvence byla označena jako revidovaná CRS (rCRS), která se dnes běžně využívá jako referenční sekvence pro většinu genetických studií mtDNA (Andrews et al. 1999).

MtDNA je v mnoha směrech unikátní. Od nukleární DNA se neliší pouze svým tvarem a velikostí, ale také množstvím kopií, které se v organele nachází. V jádře buňky je možné najít pouze dvě kopie DNA, které po smrti člověka poměrně rychle degradují. V mitochondrii je však kopií mtDNA výrazně více a díky tomu je i častěji využívána pro archeogenetické analýzy (Budowle et al., 1999). Polyploidie mitochondriálního genomu však má i nežádoucí efekt, a to především výskyt heteroplazmických úseků, kdy se v jedné buňce vyskytuje tisíce kopií mtDNA s odlišnou sekvencí v daných regionech.

Heteroplazmie mohou vznikat spontánní mutací v jediné molekule mtDNA, která se replikuje a dále dělí, což vede k výskytu jak nemutované (*wild-type* mtDNA), tak i mutované linie. V takovém případě pozorujeme heteroplazmie pouze v určitých orgánech, tkáních nebo pouze v jejich částech. Pokud je mutace zděděna a nachází se ve všech mitochondriích, pak se označuje jako homoplazmická. Heteroplazmie mohou být zaznamenány ve třech stupních. První stupeň je označován jako stupeň intramitochondriální, který se vyskytuje pouze na úrovni jednotlivých mitochondrií, druhý

stupeň je intracelulární na úrovni celých buněk a na úrovni celé tkáně pozorujeme stupeň intracelulární (Yiping, 2010).

Unikátní je také dědičnost mtDNA, která je výhradně matrilineární. To lze vysvětlit skutečností, že mitochondrie jsou ve spermiích uloženy v místě odstupu bičíku, který po fertilizaci opadá. Ty, které prostoupí do vajíčka, jsou pak během embryogeneze destruovány. Paternální mitochondrie jsou ve vajíčku považovány za cizorodý materiál a jsou pomocí enzymu ubiquitinu rozštěpeny na jednotlivé aminokyseliny (Sutovsky et al., 2004). Díky uniparentální dědičnosti mtDNA nedochází při přenosu do dalších generací k rekombinaci, variabilita je tedy dána pouze novými mutacemi. Díky nerekombinantnímu přenosu z generace na generaci je možné analyzovat příbuzenské vztahy jednotlivých molekul mtDNA a sledovat maternální linii až k první lidské mtDNA ve východní Africe (Jobling et al., 2013).

Vzhledem k tomu, že v mtDNA nedochází k rekombinaci, jediným způsobem vzniku variability je mutace. Nejčastěji se jedná o mutace bodové, kde dochází k záměně purinů za puriny nebo pyrimidinů za pyrimidiny označované jako tranzice a purinů za pyrimidiny či opačně nazvané jako transverze. Méně často se pak setkáváme s inzercí nebo delecí, kdy dochází k vsunutí nebo chybění jednoho či více nukleotidů (Bandelt et al. 1995). Frekvence s jakou dochází k vzniku nových mutací v mtDNA, je označována jako mutační rychlost, která není ve všech úsecích stejná. Častější mutace je možné pozorovat v hypervariabilních segmentech mtDNA (HVS-I, HVS-II), nejčastější pak v tzv. horkých místech nazývaných *hotspots* (Bandelt et al., 2006).

6.2. Studium genetické diverzity populací

Pro studium genetické diverzity je dnes pro archeogenetické účely využíváno dvou hlavních přístupů. Prvním z nich je populačně-genetický, který využívá metody populační genetiky, druhým je přístup fylogenetický či fylogeografický, který se soustředí na analýzu jednotlivých haplotypů a na základě jejich odlišností od referenční sekvence je zařazuje do haploskupin, jejichž současná geografická distribuce odráží pravěké migrační proudy.

6.2.1. Populačně-genetický přístup

Cílem populační genetiky je kvantifikovat odlišnosti mezi lokálními populacemi a na základě toho odvodit jejich strukturu a vztahy, včetně událostí, které mohly vést k současnému stavu. Jako populace je definována skupina jedinců stejného druhu obývajících určitou oblast, v lidské genetice je vymezena na základě jejich etnické, geografické nebo jazykové příslušnosti (Jobling et al., 2013).

Na úrovni mtDNA jsou nejčastěji určovány základní parametry genetické diverzity, které nám umožňují rekonstruovat historii dané populace z pohledu vlivu genetické driftu či populačních expanzí. Důležitý faktor ovlivňující sílu genetického driftu a genového toku v populaci je velikost efektivní populace. S její měnící se velikostí se mění i genetická variabilita, kterou můžeme sledovat jak uvnitř populace – intra-populační, tak mezi populacemi navzájem – inter-populační (Jobling et al., 2013).

Pomocí intra-populačních analýz je možné kromě genové a nukleotidové diverzity, které jsou určeny pravděpodobností náhodného výběru dvou odlišných haplotypů nebo nukleotidů, spočítat i průměrný počet a rozložení párových rozdílů odrážející demografickou expanzi či dlouhotrvající konstantní velikost populace (Excoffier et al., 1992; Rogers a Harpending, 1992).

Pro porovnání diverzity mezi populacemi se nejčastěji využítá tzv. Wrightova F statistika. Jedná se o hodnoty F_{IT} , F_{ST} a F_{IS} vypovídající o odchylce alelického složení analyzované populace. F statistiku lze měřit pomocí odchylky heterozygotity od hodnoty očekávané panmixii. To je možné díky Wahlundově efektu, kdy existuje přímá úměra mezi poklesem podílu heterozygotů a mírou inbreedingu (Wahlund, 1928). Nejčastěji se využívá F_{ST} , která určuje odchylky heterozygotity mezi jednotlivými subpopulacemi. Hodnota F_{IT} hodnotí odlišnost v celé populaci, F_{IS} pak uvnitř jedné subpopulace. Pokud jsou hodnoty F_{ST} vyšší, předpokládáme i vyšší genetickou diferencovanost a vliv genetického driftu, u

populace homogenní jsou očekávány hodnoty nižší (Jobling et al., 2004). Pomocí F_{ST} je pak možné odvodit i genetické vzdálenosti mezi jednotlivými subpopulacemi odpovídající hodnotě $F_{ST}/(1-F_{ST})$ (Excoffier et al., 1992). Nejpoužívanější metodou porovnávající variabilitu uvnitř populací, mezi nimi a mezi skupinami populací je tzv. analýza molekulárního rozptylu (AMOVA) (Jobling et al., 2004).

Na místě je také popsat evoluční mechanismy, které vedou ke zvýšení popřípadě snížení genetické diferenciaci jednotlivých populací. V první řadě se jedná o mutace, které mohou být fixovány díky genetickému driftu nebo přírodnímu výběru a pomocí genového toku pak mohou být šířeny mezi lokálními populacemi. U selekčně neutrálních mutací, které jsou charakteristické pro kontrolní úsek mtDNA, mají vliv především genetický drift a genový tok (Flegr et al., 2007).

Genetický drift je definován jako náhodný posun ve frekvenci alel v dané populaci a může vést k fixaci nebo eliminaci jedné z variantních alel v populaci. Jeho vliv je přímo úměrný efektivní velikosti populace. Relativně menší účinek je patrný ve velkých populacích, zatímco u menších populací se jeho vliv zvyšuje, neboť i vliv náhody je zde významnější. Jak malá populace je už dostatečně malá, není zcela definováno, tato otázka je zájmem řady evolučních biologů. Zvláštním případem genetického driftu jsou pak tzv. efekt hrdla láhve (*bottle-neck effect*), který je možné pozorovat u populace, která prošla nedávným silným snížením efektivní velikosti a efekt zakladatele (*founder effect*), který je patrný při kolonizaci nových území, kdy se malá skupina odtrhne od velké populace, čímž dochází i ke snížení jejich genetické variability přenosem jen vybrané části variability původní (Cox et al., 2006).

Důležitou roli pro studium genetické historie populací hraje také tzv. genový tok (*gene flow*), kdy dochází k přesunu alel genů z jedné subpopulace do druhé. Frekvence alel se mění v subpopulacích (nikoli v metapopulaci) díky migraci zástupců donorové populace do populace recipientní. Předpokladem genového toku je jejich vzájemná reprodukce. Na rozdíl od genetického driftu, kdy dochází ke zvýšení genetické variability mezi donorovou a recipientní populací, genetický tok podmiňuje její snížení. (Jobling et al., 2013). Genetickou diferenciaci mezi jednotlivými populacemi pak lze kvantitativně vyjádřit jako funkci proti sobě působícího genového toku a náhodného genového posunu. Migrace (genový tok) může být jednosměrná nebo obousměrná. Výsledkem jednosměrné migrace je četnost alel, která se rovná alelové četnosti recipientní populace zmenšené o vliv

migrace. Při obousměrné migraci dochází k přibližování alelových četností obou subpopulací k jejich společnému průměru (Lízal, 2013).

Genový tok je také do značné míry ovlivněn existencí bariér. Příkladem přírodní bariéry jsou pohoří Himálaje, které vytváří překážku pro přesun populací z indického subkontinentu do tibetských pohoří. Tato bariéra pravděpodobně vedla ke vzniku koridoru mezi východní a západní Euroasíí podél tzv. hedvábné stezky. Podobnou bariérou v Africe je poušť Sahara, která odděluje populace žijící při pobřeží Středozemního moře od jižní tropické Afriky (Lízal, 2013).

6.2.2. Fylogenetický přístup

V rámci archeogenetiky je genetická diverzita studována také pomocí fylogeneze popř., fylogeografie, a to na základě rekonstrukce příbuznosti jednotlivých haplotypů. Základní jednotkou je buď fylogenetický strom složený z jednotlivých větví nebo networkové (sít'ové) zobrazení. U nerekombinujících částí genomu je možné využít teorii koalescence, kdy spojením linií můžeme postupovat zpět v čase k jedinému ancestrálnímu haplotypu (Jobling et al., 2013). Za ancestrální haplotyp je označen nejmladší společný předek, který se prostřednictvím nových mutací rozděluje na další a další linie, až frekvence ancestrálního haplotypu zcela zanikne.

Stáří jednotlivých haplotypů je možné určit pomocí molekulárních hodin, pro jejichž určení se využívá tzv. metoda ρ (ró) statistiky určující průměrný počet mutačních změn od divergence od posledního společného předka (Bandelt et al., 1995, 1999). Fixace neutrálních mutací v čase je závislá na konstantní mutační rychlosti. Díky tomu je na základě počtu substitucí, ke kterým mezi dvěma haplotypy od jejich divergence nezávisle došlo, možné určit dobu, která uplynula od okamžiku oddělení. Ze známého počtu odlišných neutrálních mutací můžeme, na podkladě matematického modelu, který eliminuje vliv možných opakovaných mutací ve stejné pozici, odhadnout ke kolika fixačním událostem došlo. Pro správné určení mutační rychlosti je nutná kalibrace molekulárních hodin. Principem je určení externího kalibračního bodu, což je většinou oddělení předků člověka a šimpanze (Soares et al., 2009). Další metodou pro určení stáří mtDNA haploskupin je metoda maximální věrohodnosti (maximum likelihood ML)

7. Materiál

Pro analýzu genetické diverzity východoafrického sahelu jsem použila biologický materiál devíti populací, který byl nasbírán při expedicích do Súdánu a Čadu realizovaných mým školitelem v letech 2011, 2012, 2014 a 2015. Celkem se jednalo o 434 vzorků slin uchovaných v roztocích Oragene a Norgene, které jsem zpracovala v laboratoři archeogenetiky Archeogenetického ústavu - AVČR, Praha, v.v.i. za asistence Mgr. Martiny Čížkové. Vzorky byly získány na základě informovaného souhlasu, u dárců byla pomocí dotazníku vyloučena vzájemná příbuznost a po odběru byly anonymizovány.

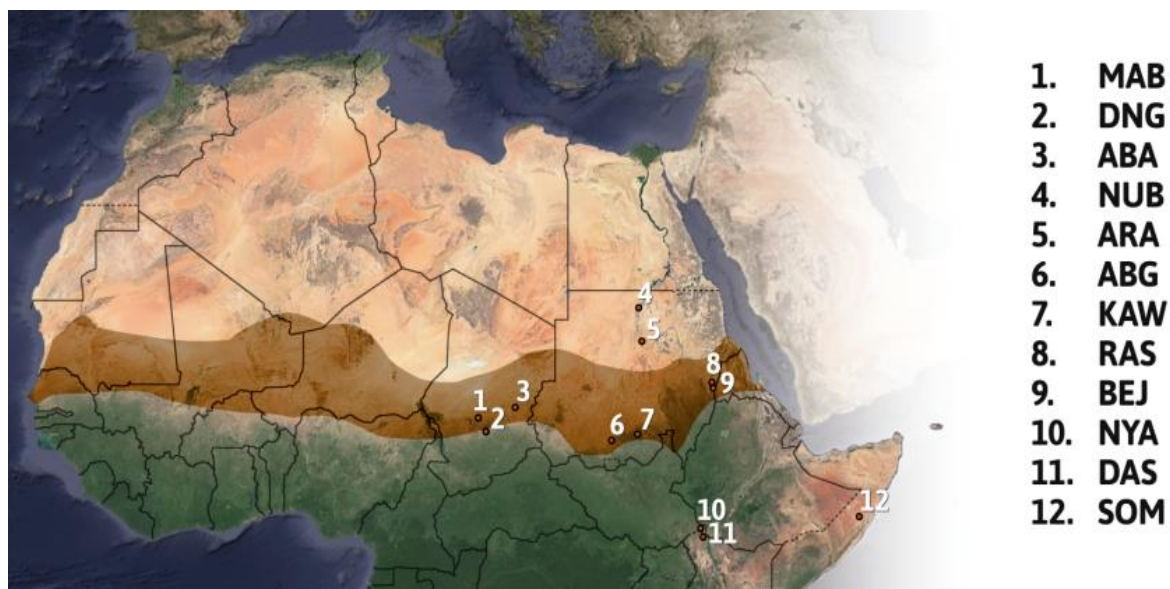
V laboratoři jsem měla k dispozici zástupce čtyř pasteveckých populací, a to Bedžů (n=54) a Rašajdů (n=52), kteří žijí při pobřeží Rudého moře na severu Súdánu a Baggarů z Čadu a ze Súdánu (n=51, n=48) migrujících ve východní části sahelu mezi Čadským jezerem a údolím Nilu. Dalších pět populací, které jsem ve své práci analyzovala, žijí usedlým způsobem života. Jedná se o Maby (n=42) a Dangelaeaty (n=50) z Čadu, Núby Koalib (n=50) z pohoří Núba v súdánském Kordofánu a súdánské Araby (n=54) a Núbijce (n=46) ze severní části Súdánu z okolí Nilu.

Pro inter-populační analýzy jsem soubor rozšířila o tři další již publikované skupiny Daasanaše a Ňangatomy z Etiopie (Poloni et al. 2009) a Somálce (Soares et al. 2012). Kompletní seznam jednotlivých populací včetně jejich zkratk je uveden v tabulce 1, jejich geografická lokalizace pak na obrázku 3.

Pro účely mé diplomové práce jsem analyzovala kompletní kontrolní úsek mtDNA v rozsahu 15 773–9573. HVS-I segment byl osekvenován již dříve studenty mého školitele, HVS-II jsem připravila k analýzám v laboratoři archeogenetiky Archeogenetického ústavu AVČR Praha v.v.i.

Tabulka 1. Seznam analyzovaných populací severovýchodního sahelu, údolí Nilu a východní Afriky

	Populace	Zkratka	Počet	Stát	Jazyková rodina	Subsistence
1	Mabové	MAB	42	Čad	Nilosaharská	zemědělci
2	Dangaleati	DNG	50	Čad	Afroasijská	zemědělci
3	Baggarové Čad	ABA	51	Čad	Afroasijská	pastevci
4	Núbijci	NUB	54	Súdán	Nilosaharská	zemědělci
5	Súdánští Arabové	ARA	46	Súdán	Afroasijská	zemědělci
6	Baggarové Súdán	ABG	53	Súdán	Afroasijská	pastevci
7	Núbové Koalib	KAW	38	Súdán	Nigerokonžská	zemědělci
8	Rašajdové	RAS	52	Súdán	Afroasijská	pastevci
9	Bedžové	BEJ	48	Súdán	Afroasijská	pastevci
10	Ňangatomové	NYA	72	Etiopie/Jižní Súdán	Nilosaharská	pastevci/zemědělci
11	Daasanaši	DAS	36	Etiopie/Jižní Súdán	Afroasijská	pastevci/zemědělci
12	Somálci	SOM	148	Somálsko	Afroasijská	pastevci/zemědělci



Obrázek 3. Mapa Afriky s vyznačením sahelského pásma sahelu (hnědě) se zobrazením geografické lokalizace analyzovaných populací; zkratky populací viz tabulka 1.

8. Metody

8.1. Laboratorní metody

8.1.1. Izolace DNA

DNA byla izolována ze slin pomocí izolačního kitu Oragene firmy DNA Genotek. Na základě izolačního protokolu Oragene DNA kitu – příloha 2. byla získána DNA o koncentraci 50–90 ng/μl. Pro odstranění nežádoucích nečistot ze vzorků bylo ke směsi slin a Oragene DNA přidáno čistící médium OragenePurifier OG-L2P. Vzorky byly následně centrifugovány, vortexovány a promývány ethanolem tak, aby bylo dosaženo co nejvyšší možné čistoty DNA. Tento způsob izolace umožňuje dlouhodobé skladování DNA v teplotách do -20°C.

8.1.2. PCR - polymerázová řetězová reakce

Metoda PCR (*Polymerase Chain Reaction*) je metoda amplifikace (zmnožení) konkrétního úseku DNA. Množený úsek je ohraničen primery, což jsou fragmenty dlouhé většinou 20–25 nukleotidů, které jsou navrhovány vždy v párech – tzv. „*forward*“ a „*reverse*“. Primery díky své komplementaritě přisedají ke koncům vybraného DNA templátu.

Pro syntézu je důležitá termostabilní DNA polymeráza, která si uchovává svoji aktivitu i přes cyklické výkyvy teplot, které jsou nutné pro denaturaci a nasedání primerů. Součástí reakční směsi (MasterMixu) je kromě výše zmíněných specifických primerů, templátové DNA a DNA polymerázy také směs volných deoxynukleosdinitrifosfátů (dNTPs). Dále jsou přidávány hořčnaté ionty, které jsou důležité pro procesivitu a přesnost polymerázy (jejich koncentrace by měla převyšovat koncentraci dNTPs), reakční pufr a voda.

Samotná PCR pak probíhá ve třech reakčních fázích, které na sebe navazují. První fází je denaturace, kdy vlivem zahřátí na teplotu až 98°C dochází k rozrušení vodíkových můstků a rozvolnění dvoušroubovice. V druhé fázi klesá teplota a na jednovláknové molekuly DNA nasedají primery. Ve třetí fázi se navazuje DNA polymeráza a dochází k syntéze DNA. Tyto kroky se cyklicky opakují v zařízení zvaném termocykler, které umožňuje rychlé změny teplot (Beránek 2016).

Ve své diplomové práci jsme se soustředila na amplifikaci HVS-II segmentu kontrolní oblasti mtDNA v rozsahu 16400–794 podle rCRS. Jako primery jsem použila P24F (*forward*) a P24R (*reverse*) publikované v práci Gonder et al. (2007) o sekvencích: F-16400 (5'-CAC CAT TCT CCG TGA AAT CA-3') a R-794 (5'-AGG CTA AGA GTT TTG AGC TG-3').

Jako reakční směs byl použit kit GoTaq Green Master Mix (12,5 µl), do kterého byla přidána voda (9,5µl), primery F a R (0,5µl + 0,5µl) a DNA (2 µl). PCR probíhala v termocycleru Eppendorf Mastercycler, kde byl nastaven následující teplotní program:

- 1) 94°C – 5 minut
- 2) 40 opakování
 - denaturace: 94°C – 50 sekund
 - nasednutí primerů: 58°C – 30 sekund
 - syntéza DNA: 72°C – 1 minuta
- 3) 72°C - 7 minut

Pro některé problematické vzorky bylo z důvodu délkových heteroplazmií nutné opakovat PCR s primery o jiných sekvencích. Byly využity primery navržené v publikaci Maca-Mayer et al. (2001). Jedná se o L 16340 a H 408 ohraničující úsek 16318–408 o sekvencích L 16340 (5'-AGC CAT TTA CCG TAC ATA GCA CA-3') a H 408 (5'-TGT TAA AAG TGC ATA CCG CCA-3') s teplotou 52°C pro nasednutí primerů. Pro zbývající úsek pak byly použity primery L382 a H945 v rozsahu 362–945 o sekvencích L 382 (5'-CAA AGA ACC CTA ACA CCA GCC-3') a H 945 (5'-GGG AGG GGG TGA TCT AAA AC-3') o teplotě 56°C.

8.1.3. Gelová elektroforéza

Kontrola PCR reakce a změření koncentrací produktů proběhlo pomocí gelové elektroforézy (ELFO). Jedná se o separační metodu založenou na pohybu nabitých částic fragmentů nukleových kyselin ve stejnosměrném elektrickém poli, přičemž různé částice mají různou elektroforetickou mobilitu. Ta je dána délkou fragmentů (s počtem bazí mobilita klesá) a případnou přítomností na DNA navázaných dalších molekul (Šimková, 2012).

Klasická gelová elektroforéza se provádí na vhodném nosiči, nejčastěji v gelu tvořeném agarózou. Tento gel se připravuje v různé koncentraci, která udává velikost pórů, kterými molekuly DNA procházejí. Můžeme tak díky ní ovlivnit separaci a tedy i rozlišení velikosti fragmentů (nižší koncentrace gelu zajistí lepší separaci dlouhých fragmentů).

Pro účely mé diplomové práce jsem použila agarózový gel o koncentraci 1,5%. Agaróza byla rozpuštěna ve vodě a pufru TBE (Tris, kyselina boritá, EDTA), který byl zároveň obsažen v elektroforetické vaně a sloužil jako elektrolyt. Pro zviditelnění jednotlivých fragmentů DNA bylo do gelu přidáno 2 μ l barviva – GelRed, které díky své schopnosti vázat se na molekulu DNA umožnilo detekovat jednotlivé fragmenty prostřednictvím UV transluminátoru. Do jamek v gelu, které byly vytvořeny tzv. hřebínkem před jeho ztuhnutím, byl zanesen 1 μ l PCR produktu a 5 μ l velikostního markeru MassRuler LR. Velikostní marker, tzv. žebříček, umožňuje po prosvícení UV zářením odečíst velikosti produktů a jejich koncentraci. Celá reakce trvala 45 minut při napětí 88 V. Podle hodnot koncentrace, která byla odečtena prostřednictvím softwaru SynGene, byly PCR produkty nařaděny na stejnou koncentraci a odeslány k sekvenování.

8.1.4. Sekvenace

Sekvenace byla provedena Sangerovou metodou ve firmě MacroGen, Inc. U většiny vzorků proběhlo osekvenování za pomoci forward primerů (viz. výše), u některých bylo nutné nechat vzorky pro jejich délkové heteroplasmie osekvenovat i pomocí reverzního primeru pomocí služby nazvané „*difficult sequencing*“. Výsledky byly zaslány v elektronické podobě ve formě chromatogramů.

8.2. Metody zpracování dat

8.2.1. Analýza dat

Chromatogramy byly zkontrolovány v programu Chromas 1.5. Sekvence, kde byly pozorovány bodové nebo délkové heteroplasmie v oblasti 309–315 byly odeslány na opětovné osekvenování reverse primerem se zadáním „*difficult sequencing*“. Pro některé vzorky pak bylo nutné použít nové primery, kdy byl čten začátek a konec HVS-II segmentu odděleně.

Jednotlivé sekvence pak byly spojeny s již osekvenovanými úseky HVS-I segmentu a zarovnány v programu BioEdit 7.2.0. Vznikla tak sekvence v rozsahu pozic 15773–573,

která byla seřazena podle referenční sekvence rCRS (Andrews et al. 1999). Pro účely populačně genetické analýzy byly vyřazeny heteroplazmické úseky v oblasti 16182–16193 a 309–315. Pro interpopulační analýzy pak byly sekvence zkráceny dle sekvencí populací Ňangatomů a Daasanašů ze studie Poloni et al. (2009), a to na délku 15997–413 bez výše zmiňovaných heteroplazmatických úseků.

Pro analýzy v dalších programech bylo nutné převést sekvence do textového editoru TextPad a zde je upravit do formy požadovaných vstupních souborů.

8.2.2. Intra-populační analýza

Intra-populační analýzu jsem prováděla v programu Arlequin 3.5.1.2, kde jsem hodnotila základní parametry genetické diverzity. Jedná se o genovou a nukleotidovou diverzitu, které vyjadřují pravděpodobnost, se kterou se budou lišit buď celé sekvence (genová) či homologní nukleotidy (nukleotidová). Důležitým ukazatelem je také hodnota určující průměrný počet párových rozdílů, která udává počet variant, které se v průměru vyskytují mezi dvěma sekvencemi (Excoffier a Lischer 2010).

Dále jsem se soustředila na hodnocení distribuce párových rozdílů a jeho odchylek od normálního, očekávaného rozložení. Tento údaj hodnotí Harpendingův index r , jehož nesignifikantní hodnoty vypovídají o nedávné demografické či prostorové expanzi populace. Pokud jsou jeho hodnoty nízké a dosahují statistické významnosti, jedná se o stabilní populaci, která byla v minulosti početně redukována (Harpending et al. 1993). Na grafu, který byl vytvořen programem R vloženým do softwaru Arlequin můžeme sledovat křivku rozložení párových rozdílů. Multimodální distribuce je patrná pro dlouhodobě stabilní populace, unimodální (gaussovské) rozložení je typické pro populace expandující. Dalším ukazatelem možné populační expanze je hodnota M , která vyjadřuje počet migrantů vyměněných mezi populacemi a můžeme ji formulovat jako součin efektivní velikosti populace a migrační rychlosti. Vysoké hodnoty rovněž poukazují na vyšší pravděpodobnost populační expanze (Excoffier a Lischer 2010).

Za indikátory demografické expanze lze považovat také testy selekční neutrality – jako je např. Tajimův test D a Fuův test F_s . Tyto testy porovnávají vliv selekce a populačních změn na genetické polymorfismy. Kladné a signifikantní hodnoty vypovídají o tom, že na testované populaci má vliv spíše genetický drift, zatímco záporné a staticky významné hodnoty spíše naznačují expanzi populace (Tajima, 1989; Fu, 1997).

8.2.3. Inter-populační analýza

Na inter-populační úrovni jsem hodnotila genetické vzdálenosti (F_{ST}) mezi jednotlivými subpopulacemi. Získané genetické vzdálenosti jsem porovnávala pomocí Mantelova testu s geografickými souřadnicemi jednotlivých populací a analyzovala vzájemnou korelaci mezi nimi.

Index F_{ST} , který udává genetickou vzdálenost na základě rozptylu alelických frekvencí mezi jednotlivými subpopulacemi, byl vypočítán pomocí programu Arlequin 3.5.1.2. Hodnoty indexu F_{ST} ukazující genetickou diferenciaci jednotlivých populací nabývají hodnot 0 až 1, kdy hodnoty vyšší vypovídají o výraznější diferenciaci, tedy nižší roli genového toku mezi populacemi a vyššímu vlivu genetického driftu (Jobling et al., 2013).

Zvolenou metodou analýzy genetických vzdáleností byla tzv. Reynoldsova matice genetických vzdáleností, která vychází z předpokladu, že velikost populace se odvíjí od efektivní velikosti populace. Využívá se především pro analýzu genetických vzdáleností u menších populací. Předpokládá, že variabilita alelických frekvencí je dána výhradně vlivem genetického driftu (Reynolds, 1983). Pro výpočet genetických vzdáleností bylo nutné stanovit parametry analýzy. Na základě rozdílné substituční rychlosti u tranzic a transverzí byl využit model Kimura 2-P a poměr mezi tranzicemi a tranverzemi byl stanoven 10:1 (inzerce a delece nebyly uvažovány). Vzhledem k tomu, že mutační rychlost se liší v různých úsecích sekvence, byla použita gamma korekce 0,4. Toto nastavení vychází ze zkušeností a doporučení předchozích badatelů, jejichž databáze jsem měla rovněž k dispozici a s jejichž výsledky jsem ty své srovnávala (Poloni et al. 2009; Excoffier a Lischer, 2010).

Výsledná matice pak byla vizualizovaná pomocí mnohorozměrného škálování (MDS) v programu R.3.3.3.

Pro korelaci mezi geografickými a genetickými vzdálenostmi jsem použila Mantelův test. Ten hodnotí shodu mezi dvěma vícerozměrnými datovými soubory na základě korelací datových matic, které jsou na sobě nezávislé. Jako matice genetických vzdáleností jsem použila data, které jsem získala pomocí programu Arlequin 3.5.1.2, pro geografické vzdálenosti jsem využila GPS souřadnice z míst, kde byly vzorky odebrány. Prvním krokem bylo převedení GPS souřadnic do matice v programu PaSSaGE 2 (Rosebenberg et al., 2011), kdy geografické vzdálenosti byly převedeny do vzdáleností

v kilometrech. Druhým krokem bylo samotné provedení Mantelova testu v programu GenALEX (Peakall et al., 2012), který porovnal matice geografických a genetických vzdáleností a vypočítal hodnotu korelačního koeficientu r (po odmocnění R^2), který vyjadřuje pozitivní, nebo negativní korelaci.

8.2.4. Sdílení mtDNA sekvencí a haplotypů

Haploskupiny byly určovány u 670 sekvencí kompletního kontrolního úseku mtDNA u všech 12 hodnocených populací severovýchodní Afriky. Sekvence byly zarovnány v programu BioEdit 7.2.0. podle referenční sekvence rCRS (Andrews et al., 1999) a poté byly nahrány do programu mtDNAGeneSyn 1.0, který je s rCRS porovnal a vyhledal jednotlivé mutované pozice. Ty pak byly upraveny do vstupního souboru v TextPad a nahrány do internetové aplikace HaploGrep2 (Klos-Brandstätter et al. 2011). Tato webová aplikace porovnává testované úseky DNA se sekvencemi v databázi a přiřazuje je k nejpravděpodobnějším haploskupinám. K analýzám používá aktuální verzi databáze PhyloTree.

Pro určení procentuálního zastoupení haploskupin mezi populacemi byl populační soubor rozdělen podle jejich geografického výskytu do tří skupin. Jedná se o populace Čadu (Maba, Dangaleati, Baggarové Čad), Súdánu (Baggarové Súdán, Núbové Koalib, Núbijci, Bedžové, Rašajdové, súdánští Arabové) a Afrického rohu (Daasanši, Ňangatomové, Somálci).

9. Výsledky

9.1. Intra-populační analýza

V rámci intra-populační analýzy jsem hodnotila základní parametry genetické diverzity, které jsou prezentovány v tabulkách 2. a 3. Jedná se o genovou a nukleotidovou diverzitu, průměrný počet párových rozdílů, hodnotu M (součin velikost efektivní populace a migrační rychlosti) a Harpendingův index (r). Provedeny byly také testy selekční neutrality – Tajimův test D a F_u vs F_s , jejichž hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4.

Nejnižší genovou i nukleotidovou diverzitu jsem zjistila u pasteveckých populací žijících na severovýchodě Súdánu Bedžů (BEJ) a Rašajdů (RAS). Tyto dvě skupiny mají také nejnižší průměrný počet párových rozdílů. Pastevci Baggara (ABG, ABA), lokalizováni západněji v sahelu, vykazují na rozdíl od nich poměrně vysokou genetickou diverzitu, dokonce vyšší než u usedlých populací Čadu (MAB, DNG, KAW). Nejvyšší hodnoty genové a nukleotidové diverzity pak můžeme pozorovat u usedlých populací súdánského povodí Nilu – Núbijců (NUB) a Arabů (ARA).

Vysoké hodnoty M , které poukazují na možnou populační expanzi, můžeme pozorovat podobně jako vyšší genovou diverzitu u Núbijců (230,3) a súdánských Arabů (362,3). Nejnižší hodnoty pak vykazují populace Bedžů (1,5) a Rašajdů (11,6).

Tabulka 2. Základní parametry genetické diverzity intrapopulační analýzy

Populace	N	k	Genová diverzita	Nukleotidová diverzita	Párové rozdíly	M
Núbijci	54	48	0,996 +/- 0,0044	0,013 +/- 0,0059	14,616 +/- 6,6462	230,3
Baggarové Čad	51	42	0,992 +/- 0,0060	0,012 +/- 0,0060	14,960 +/- 6,8017	114,7
Baggarové Súdán	53	49	0,995 +/- 0,0058	0,012 +/- 0,0065	16,078 +/- 7,2821	159,8
s. Arabové	46	44	0,998 +/- 0,0050	0,013 +/- 0,0067	16,505 +/- 7,4859	362,3
Bedžové	48	18	0,728 +/- 0,0709	0,009 +/- 0,0049	11,079 +/- 5,1222	1,5
Dangaleati	50	37	0,986 +/- 0,0070	0,013 +/- 0,0065	15,979 +/- 7,2462	48,0
Núbové Koalib	38	29	0,982 +/- 0,0115	0,013 +/- 0,0066	14,730 +/- 6,7392	27,7
Mabové	42	32	0,987 +/- 0,0078	0,014 +/- 0,0070	17,395 +/- 7,8867	29,9
Rašajdové	52	26	0,926 +/- 0,0237	0,011 +/- 0,0055	12,211 +/- 5,6067	11,5

N - počet jedinců v populaci, k - počet haplotypů, M - hodnota M (součin velikost efektivní populace a migrační rychlosti)

K analýze rozložení párových rozdílů jsem využila Harpendingův index r , pomocí něhož byla hodnocena demografická i prostorová expanze jednotlivých populací. U demografické expanze byla pozorována statisticky významná odchylka pouze u Bedžů a Rašajdů, což ukazuje na dlouhodobě konstantní velikost těchto populací. Nízké, signifikantní hodnoty tohoto indexu odrážejí nejspíše nedávnou početní redukci těchto populací. Ostatní populace severovýchodního sahelu signifikantní hodnoty nevykazují, což poukazuje na jejich populační růst. Statisticky nevýznamné hodnoty byly také pozorovány u všech populací při hodnocení expanze prostorové.

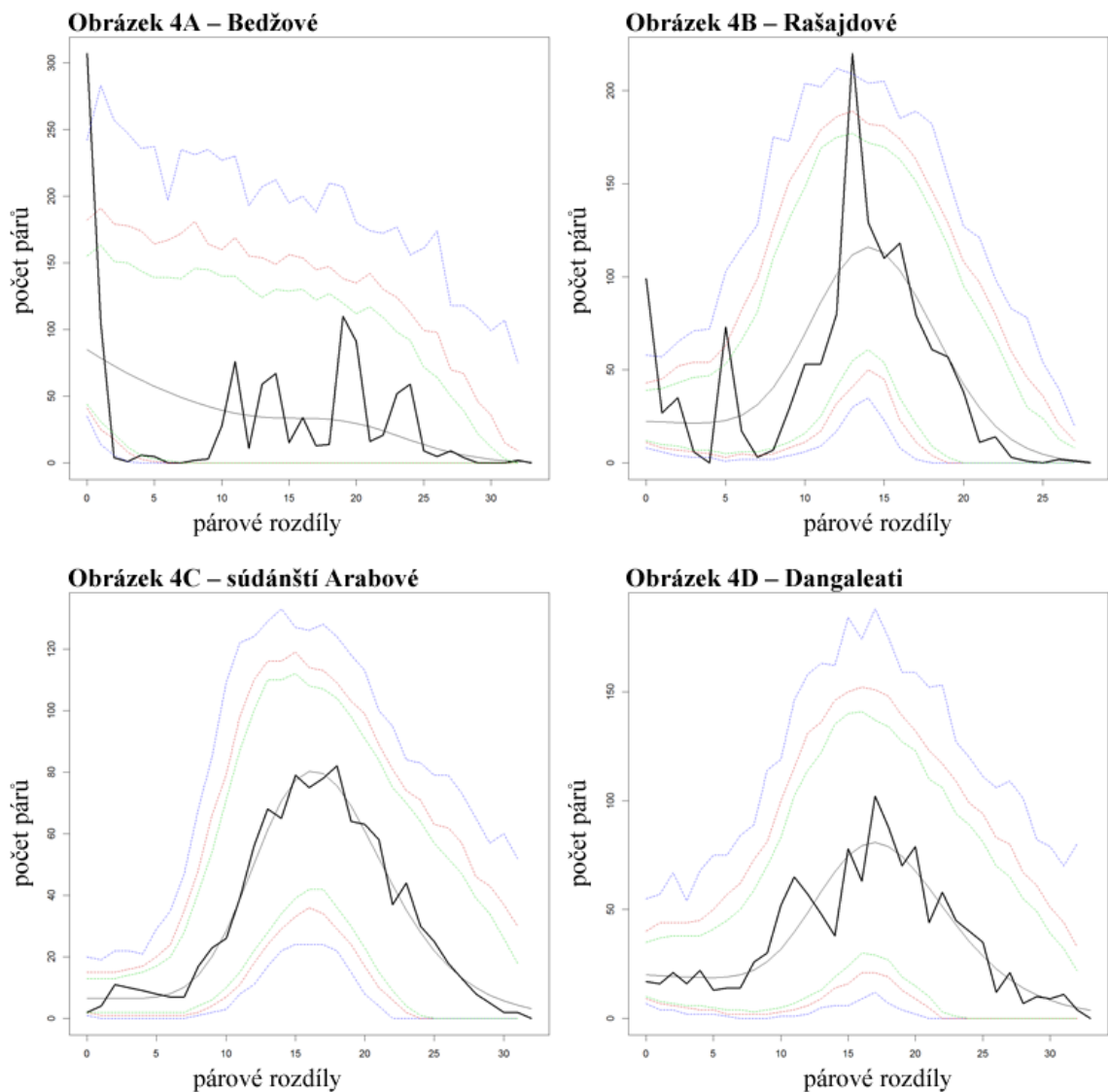
Tabulka 3. Harpendingův index - r u modelu demografické a populační expanze

Populace	Demografická expanze		Prostorová expanze	
	r	p-value	r	p-value
Núbijci	0,00244	0,919	0,00244	0,884
Baggarové Čad	0,00352	0,841	0,00352	0,761
Baggarové Súdán	0,00254	0,852	0,00254	0,885
s. Arabové	0,00208	0,974	0,00208	0,980
Bedžové	0,06517	0,021	0,06517	0,837
Dangaleati	0,00513	0,601	0,00513	0,734
Núbové Koalib	0,00449	0,884	0,00449	0,983
Mabové	0,00964	0,406	0,00964	0,516
Rašajdové	0,02729	0,004	0,02729	0,569

signifikantní hodnoty jsou zvýrazněny červeně

Rozložení párových rozdílů u expandujících populací respektuje očekávanou, gaussovskou, unimodální křivku, viz obrázek 4C, 4D. Pro demograficky nebo prostorově stabilní populace je naopak typická multimodální distribuce párových rozdílů, viz obrázek 4A, 4B.

U populací, které vykazují pouze prostorovou expanzi (nikoliv demografickou) pozorujeme relativně vysoký podíl nízkého či nulového počtu párových rozdílů (jakýsi ocas v levé části grafu), což vypovídá o izolované nebo málo početné populaci. V analyzovaném souboru se jedná o Rašajdy a Bedže (viz obrázek 4A a 4B). Pro srovnání je zobrazena i unimodální distribuce zemědělských populací súdánských Arabů a Dangaleatů (viz obrázek 4C, 4D).



Obrázek 4. Distribuce párových rozdílů; Na grafu je důležité zobrazení dvou černých linií - tučná černá linie značí pozorovanou distribuci párových rozdílů, tenčí pak očekávanou distribuci párových rozdílů. Barevné linie zobrazují interval spolehlivosti (modrá – 99%, červená – 95%, zelená – 90%)

Selektivní neutralita byla testována pomocí Tajimova testu D a Fuova Fs. Hodnoty Tajimova testu vyšly u všech populací nesignifikantní a záporné, což by naznačovalo jejich populační růst. U citlivějšího Fs testu vyšly statisticky nevýznamné hodnoty pouze u Bedžů (0,74809), Rašajdů (-2,01743) a také Núbů Koalib (-5,36451). Vyšší záporné hodnoty vypovídají o nedávné populační expanzi, hodnoty kladné pak o stabilitě populace či nedávném genetickém driftu. U ostatních populací severovýchodního sahelu byly hodnoty signifikantní.

Tabulka 4. Testy selektivní neutrality

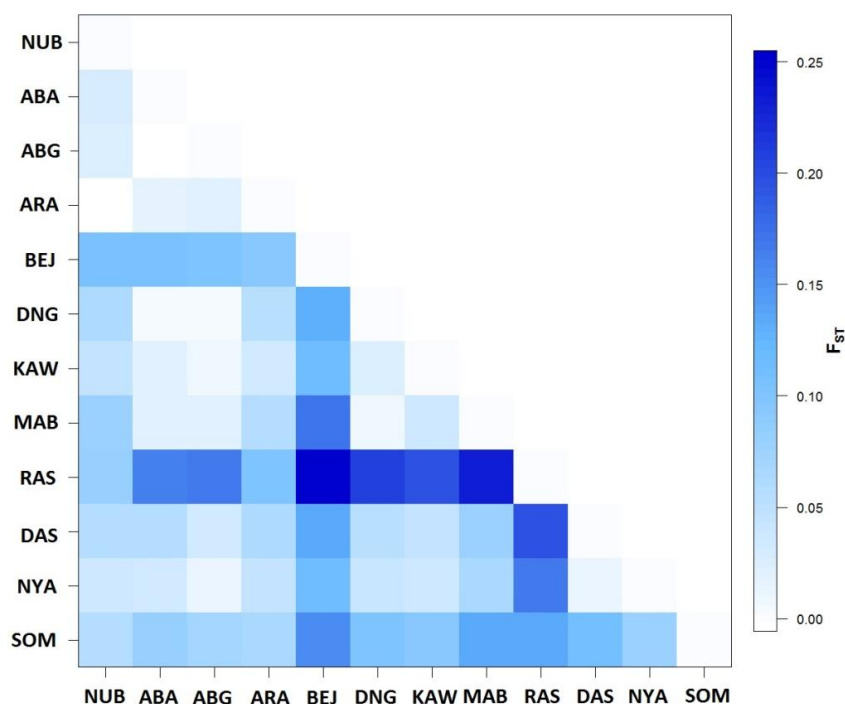
Populace	Tajima'D	P-value	Fu's Fs	P-value
Núbijci	-1.26753	0.08190	-24.26860	0.000
Baggarové Čad	-1.35973	0.06470	-19.77218	0.000
Baggarové Súdán	-1.35338	0.06900	-24.23446	0.000
s. Arabové	-1.33171	0.07120	-24.23830	0.000
Bedžové	-1.08557	0.13160	0.74809	0.65250
Dangaleati	-0.75665	0.24060	-11.02967	0.00760
Nubové Koalib	-0.55623	0.32790	-5.36451	0.05830
Mabové	-0.50576	0.35210	-7.67244	0.02430
Rašajdové	-0.81669	0.22220	-2.01743	0.28460

9.2. Inter-populační analýzy

Na úrovni inter-populační analýzy bylo porovnáváno dvanáct populací z oblasti severovýchodní Afriky. Jednalo se jak o zástupce různých jazykových rodin (nilosaharská, afroasijská, nigerokonžská), tak různých subsistenčních strategií (pastevci, zemědělci). Získané hodnoty F_{ST} jsou uvedené v příloze 3. a jejich grafické znázornění pomocí programu R. můžeme vidět na obrázku 5.

Hodnoty F_{ST} indexu nám dávají informaci o diferencovanosti populačních párů. Pokud jsou vyšší než 0,25, jedná se o populace geneticky vysoce odlišné. Hodnoty v rozmezí 0,25–0,15 vypovídají o vysoké, hodnoty mezi 0,05–0,15 o střední a hodnoty nižší než 0,05 pouze o nízké diferencovanosti (Jobling et al., 2013). Jednoznačně nejvyšší genetickou vzdálenost vůči ostatním populacím vykazuje populace Rašajdů (RAS). Její vysoké signifikantní hodnoty F_{ST} (nad 0,25) jsou pozorovány s populací Bedžů (BEJ), hodnoty v rozmezí 0,25–0,15 pozorujeme s populacemi Baggarů ze Súdánu (ABG) i Čadu (ABA), Dangaleatů (DNG), Núbů Koalib (KAW), Mabů (MAB), Daasanašů (DAS) nebo Ňangatomů (NYA). Hodnoty střední diferencovanosti (0,15–0,05) pak s Núbijci (NUB), súdánskými Araby (ARA) a Somálci (SOM). Vyšší hodnoty F_{ST} indexu, které neklesají pod 0,1 na 5% hladině významnosti (až na výjimku se súdánskými Araby), vykazuje také pastevecká populace Bedžů, což svědčí o její značné genetické izolovanosti.

Nejnižší hodnoty genetických vzdáleností vykazuje naopak populace Dangaleatů s populacemi Baggara Súdán (0,00570) nebo Baggarů Čad (0,00507). Velmi nízké hodnoty pozorujeme také u populace Núbů Koalib, kteří jsou geneticky blízcí k súdánským Baggarům (0,0063) i čadským Mabům (0,00987). Tyto hodnoty ale nejsou statisticky významné na 5% hladině významnosti.

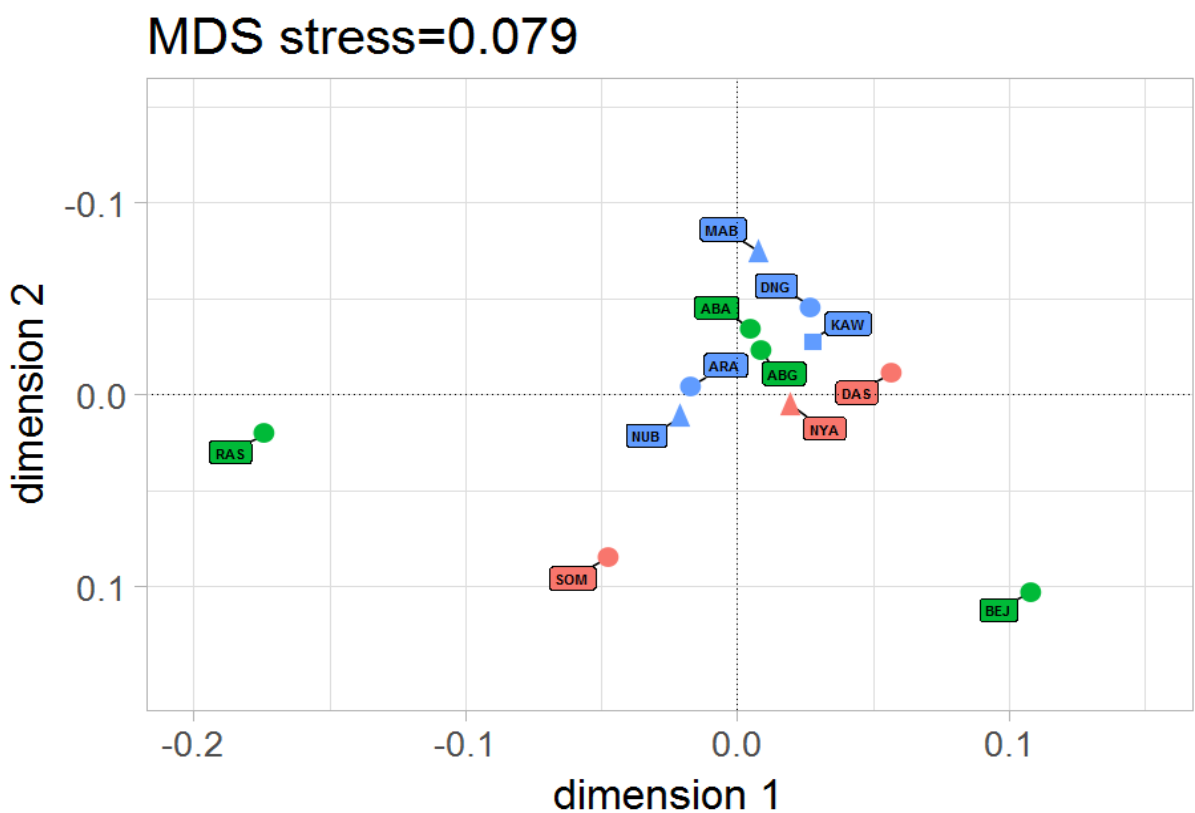


Obrázek 5. Vizualizace matice genetických vzdáleností F_{ST}

Hodnoty F_{ST} jsem znázornila pomocí grafu mnohorozměrného škálování (MDS) viz obrázek 6. Na první pohled je zřejmá genetická odlišnost pasteveckých populací Rašajdů, Bedžů a polokočovných Somálců. Populace byly na základě subsistenčních strategií rozděleny na pastevecké a zemědělské a polokočovné. Pastevecké populace Bedžů a Rašajdů vykazují výraznou genetickou diferencovanost od ostatních populací, zatímco obě populace čadských i súdánských Baggarů mají geneticky blízko jak k usedlým populacím Súdánu, tak Čadu.

Jednotlivé populace severovýchodního sahelu můžeme rozdělit i podle jejich lingvistického zařazení. U populací nilosaharské jazykové rodiny pozorujeme nižší genetické vzdálenosti než u populací afroasijské rodiny. To je dáno především vysokou genetickou izolovaností Rašajdů (semitská větev), Bedžů (kušitská větev) a Somálců (kušitská větev). Pokud z úvahy tyto tři populační celky vyřadíme, můžeme naopak pozorovat nižší genetické vzdálenosti mezi populacemi hovořícími afroasijskými jazyky. Z pohledu nilosaharské jazykové rodiny je patrné genetické oddělení mabské větve (Mabové) od větve východosúdánské (núbijšitna, ňangatomština). I přesto je genetická vzdálenost mezi zástupci východosúdánské větve (NUB, NYA) vyšší než jejich genetická vzdálenost ke geograficky bližším populacím mluvícími afroasijskými jazyky. Jediný zástupce nigerokonžské jazykové rodiny Núbové Koalib mají geneticky velmi blízko k populacím Súdánu i Čadu.

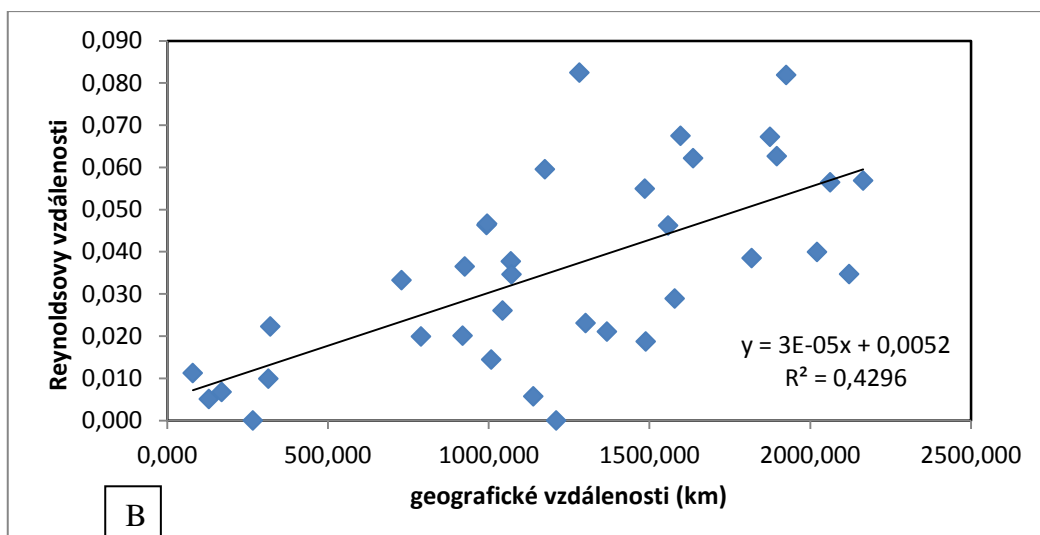
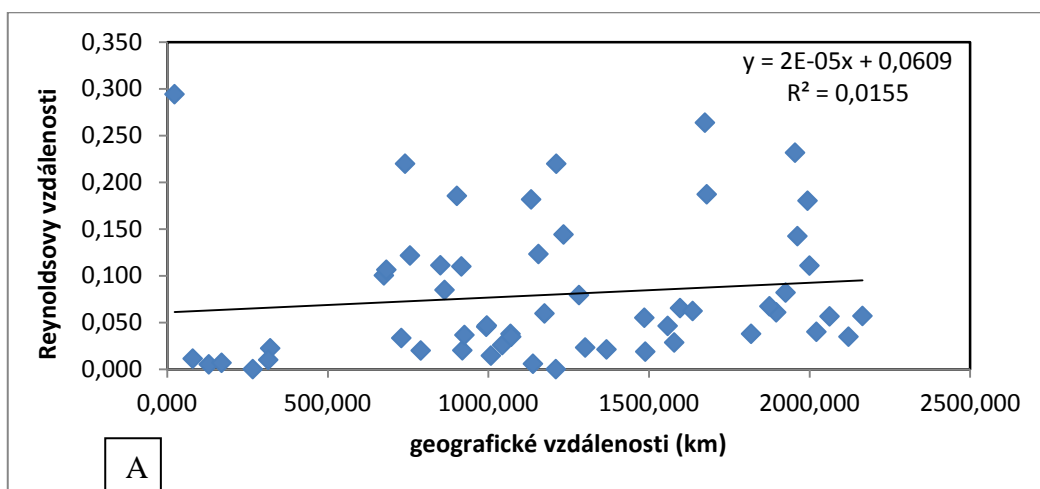
Na grafu mnohorozměrného škálování je také patrný geografický charakter rozložení jednotlivých populací. Nejvýše jsou umístěny populace Čadu (Mabové, Baggarové Čad a Dangaleaté), v levé dolní části grafu se pak sdružují populace severního Súdánu (Núbijci a súdánští Arabové), v pravé dolní části grafu populace Etiopie (Daasanašové a Ňangatomové). Odlehlá populace Rašajdů se nachází v levé části grafu a geneticky nejbližší je k populacím severního Súdánu. Podobně jsou na tom Somálci, kteří jsou si nejvíce geneticky blízcí právě s populací Núbijců a súdánských Arabů. Bedžové, kteří jsou lokalizováni v pravé dolní části grafu, jsou geneticky nejméně vzdáleni k populacím Etiopie.



Obrázek 6. Genetické vzdálenosti zobrazeny pomocí mnohorozměrného škálování (MDS). Barvy označují jednotlivé subsistenční strategie (modrá – zemědělské, zelená – pastevecké, červená – polokočovná populace). Tvary rozlišují lingvistické zařazení (trojúhelník – rodina nilosarharská, kruh - afroasijská, čtverec - nigerokonžská)

Korelaci mezi genetickými a geografickými vzdálenostmi jednotlivých populačních párů analyzuje Mantelův test. V případě, kdy jsou hodnoceny všechny populace, korelace mezi genetickými a geografickými vzdálenostmi pozorována není. Korelační koeficient r má hodnotu 0,124. Tyto výsledky však nejsou na 5% hladině významnosti signifikantní ($p=0,38281$), viz obrázek 7A.

Pokud jsou ale ze souboru odebrány dvě geneticky izolované pastevecké populace Rašajdů a Bedžů, korelace mezi geografickými a genetickými vzdálenostmi vykazuje signifikantní lineární závislost ($p=0,00032$) s korelačním koeficientem $r=0,655$ viz obrázek 7B.



Obrázek 7. Vztah genetických a geografických vzdáleností. A – celý soubor analyzovaných populací severovýchodní Afriky; B – soubor bez pasteveckých populací Bedžů a Rašajdů

9.3. Sdílení mtDNA sekvencí a haplotypů

Pro určení haploskupin jsem analyzovala kompletní kontrolní úsek mtDNA u 670 sekvencí pomocí internetové aplikace HaploGrep2. Rozbor obou segmentů D-kličky mtDNA (HVS-I a HVS-II) umožňuje podrobnější zařazení sekvencí do haploskupin a vyšší kvalitu určení než jen v případě jednoho segmentu (Mašek, 2014). Celkem bylo určeno 176 haploskupin s průměrnou kvalitou určení 87%. Z celkového počtu téměř 2/3 patří pod haploskupiny L0-L6, které se dále větví do 120 kladů, ke kterým bylo zařazeno 73,7% analyzovaných sekvencí. Zbylou třetinu tvoří větve haploskupin euroasijského původu, které jsou nejčastěji zastoupené větvemi H, M, R0a a J.

V tabulce 5. jsou uvedeny haploskupiny bez jejich podrobnějšího větvení, ke kterým je přiřazen příslušný počet sekvencí a procentuální zastoupení pro dané populační celky. Ty byly definovány na základě jejich geografického zařazení na populace Čadu (Mabové, Dangaleati a Baggarové z Čadu) Súdánu (Bedžové, Rášajdové, súdánští Arabové, Baggarové ze Súdánu, Núbijci a Núbové Koalib) a Afrického rohu (Somálci, Ňangatomové, Daasanaši). Všechny získané subklady a jejich zastoupení u jednotlivých populací jsou pak uvedené v příloze 4.

Z celkem 143 sekvencí populace Čadu můžeme pozorovat nejvyšší četnost haploskupiny L2a a jejich větví, a to 28,7%. Nižší zastoupení je patrné u populací Súdánu (12,6%) a Afrického rohu (13,2%). Mezi nejčastěji určené subklady haploskupiny L2a patří L2a1+143 nebo L2a1a+143, L2a1d1. Významné je také zastoupení větví haploskupiny L0, kdy u celého souboru pozorujeme nejvyšší četnost L0a (10,9%). U populací Súdánu a Afrického rohu bylo detekována L0f (2,2%), u Afrického rohu pak také L0b (0,6%) a L0d (0,1%). U populací Čadu pozorujeme zastoupení pouze větví haploskupiny L0a, a to L0a1a+200, L0a1a2, L0a1b a L0a1b2.

V Súdánu dominuje haploskupina L3f (15,9%), a to především vlivem vysokého zastoupení její větve L3f2 u Bedžů, ke které bylo přiřazeno 62,5% analyzovaných sekvencí této populace. U většiny zástupců byla charakterizována motivem 73-263-15944d-16209-16223-16311. Pro rozlišení mezi haploskupinou L3f2 a L3f1b je nutné znát sekvenci HVS-2 segmentu, který vylučuje mutaci 189 vyskytující se u L3f1b. Haploskupina L3f1 a její větve byly pozorovány u populací Súdánu a Čadu. L3f3 byla určena pouze u 3 zástupců súdánských Baggarů. V Africkém rohu se subklady haploskupiny L3f téměř nevyskytují (0,8%).

Původem západoafrické haploskupiny L3b, L3d a L1b jsou patrné převážně u populací Čadu a jejich frekvence se směrem na východ snižuje. Naopak se značně vyšší četností u populací Afrického rohu jsou pozorovány haploskupiny - L0b, L0f, L3a, L3i, L3x nebo některé větve haploskupin L4, L5 či L6.

V mém vzorku jsem detekovala i výskyt haploskupin euroasijského původu. Jednalo se převážně o větve haploskupin R0a, H, HV, M, N nebo J, v nižším zastoupení pak také U, W, B, G a další.

Subklady haploskupiny H a R0a2c se nejvíce vyskytují u kočovného arabského kmene Rašajdů, a to u 22 jedinců, což je téměř poloviční zastoupení. Ve velké míře u nich pozorujeme také haploskupinu J1b a její větve. Z mimoafrických haploskupin jsou kromě výše zmíněných zastoupeny také subklady M1 a N1. Africké haploskupiny tvoří u populace Rašajdů pouze 9%.

Haploskupiny euroasijského původu pozorujeme převážně u arabských populací, včetně pastevecké populace Baggarů rozšířené v Čadu i Súdánu, ale i Somálců ve východním rohu Afriky. U ostatních populací pozorujeme vyšší zastoupení u Núbijců a starší subklady haploskupiny M1 také u populace Núbů Koalib.

Tabulka 5. Zastoupení haploskupin u analyzovaných populačních celků

Haploskupina	Celý soubor		Čad		Súdán		Africký roh	
	Počet N= 670	Zastoupení %	Počet N=143	Zastoupení %	Počet N=277	Zastoupení %	Počet N=250	Zastoupení %
L0a	73	10,9%	19	13,2%	30	10,8%	24	9,6%
L0b	4	0,6%	0	-	0	-	4	1,6%
L0d	1	0,1%	0	-	0	-	1	0,4%
L0f	13	2,2%	0	-	5	1,8%	8	3,2%
L1b	19	3,2%	6	4,2%	10	3,6%	3	1,2%
L1c	13	1,9%	11	7,7%	0	-	2	0,8%
L2a	109	16,3%	41	28,7%	35	12,6%	33	13,2%
L2b	7	1,0%	3	2,0%	1	0,4%	3	1,2%
L2c	3	0,4%	2	1,4%	1	0,4%	0	-
L2e	7	1,0%	2	1,4%	3	1,1%	2	0,8%
L3a	3	0,4%	0	-	0	-	3	1,2%
L3b	12	1,8%	6	4,2%	2	0,7%	4	1,6%
L3d	32	4,8%	14	9,8%	4	1,4%	14	5,6%
L3e	25	3,7%	9	6,3%	8	2,9%	8	3,2%
L3f	62	9,3%	16	11,1%	44	15,9%	2	0,8%
L3h	23	3,4%	3	2,0%	7	2,5%	13	5,2%
L3i	14	2,0%	0	-	3	1,1%	11	4,4%
L3x	9	1,3%	1	0,7%	0	-	8	3,2%
L4	32	4,8%	4	2,8%	4	1,4%	24	9,6%
L5	27	4%	1	0,7%	11	4%	15	6,0%
L6	4	0,6%	0	-	1	0,4%	3	1,2%
R0a	26	3,9%	3	-	20	7,2%	3	1,2%
HV	12	1,8%	0	-	2	0,7%	10	4%
H	18	2,7%	1	0,7%	14	5,05%	3	1,2%
M1	38	5,7%	1	0,7%	23	8,3%	14	5,6%
N1, N2	33	4,9%	0	-	13	4,7%	20	8%
J1, J2	17	2,5%	0	-	17	6,1%	0	-
T	10	1,5%	0	-	8	2,9%	2	0,8%
U	4	0,6%	0	-	4	1,4%	0	-
Ostatní mimoafrické haploskupiny	20	3,0 %	0	-	8	2,5%	13	5,2%

10. Diskuse

10.1. Genetická struktura východního sahelu

Ve své diplomové práci se zabývám genetickou strukturou populací východního sahelu a severovýchodní Afriky. Tato oblast je antropology pokládána za místo původu anatomicky moderního člověka (McDougal et al., 2005), odkud se v závislosti na klimatických podmínkách rozšířil nejen po celé Africe, ale také do nedaleké Euroasie (Rose et al., 2011; Valladas et al. 1988). Krom toho je tento region lingvisty považován za oblast původu dvou ze tří hlavních jazykových rodin severní a střední Afriky, kdy pomocí lingvistických rekonstrukcí můžeme sledovat směry jejich šíření (Blench, 2006). Migračními centry sahelu se pak staly místa zajišťující dostatek potravy a vodních zdrojů, což bylo v jeho východní části především povodí řeky Nil, jeho přítoky a Čadské jezero (Drake et al., 2011; Kröpelin, 2006).

Vysoká genetická diverzita severovýchodní Afriky je do značné míry podmíněna demograficky významnými událostmi (změny v efektivní velikosti, genový tok či mísení) a evolučními mechanismy (přírodní výběr, rekombinace, mutace) podmíněnými také způsobem života a sociální organizací jednotlivých populací. Izolované nebo zmenšující se populace vykazují spíše nízké hodnoty genetické diverzity a vysokou diferencovanost od okolních populací, naopak pro populace expandující je díky zvýšenému genovému toku s okolními populacemi typická vysoká genetická diverzita (Rito et al. 2013, Triska et al, 2015).

10.1.1. Genetická diverzita povodí Nilu

Povodí Nilu je díky dostatečné zásobě vody považováno za extrémně dlouhou a rozsáhlou oázu východní Sahary, která umožnila růst, vývoj a migraci řadě populací. Na severu Afriky se jednalo především o civilizace Egypta, které jsou spojovány s šířením afroasijských jazyků, zatímco v Súdánu a Jižním Súdánu se rozšířily jazyky nilosaharské. Severněji se jednalo o Núbijce, kteří zde vybudovali rozsáhlé království, jižně pak o populace nilotických jazyků. Jak populace severu, tak jihu nilského povodí se ale dostávaly do vzájemného kontaktu a docházelo k mísení, které je patrné jak v genetické diverzitě současných (Krings et al., 1999; Kujanová et al., 2009), tak i minulých (Schuenemann et al., 2017) populací.

Ve své práci jsem hodnotila základní parametry genetické diverzity HVS-I a HVS-II segmentu mtDNA u pasteveckých i usedlých populací Súdánu. Hodnoty genové diverzity pastevců se pohybovaly v rozsahu 0,72–0,99, a u populací usedlých v rozsahu 0,98–0,99. Vyšší rozpětí u pasteveckých populací souhlasí s údaji pozorovanými v západní části afrického sahelu, které byly publikovány ve studii Černého et al. (2011). Nejnížší hodnoty genové diverzity a nízký počet rozdílných haplotypů jsem pozorovala především u pasteveckých Bedžů a Rašajdů, což je nejspíš důsledek silného genetického driftu při jejich nedávné početní redukci.

Podle historiků předkové Bedžů nazývaní Medjay, kteří žili v období starověkého Egypta, byli početnou populací východního Súdánu. V průběhu tisíciletí došlo k expanzivnímu růstu populací obývajících povodí Nilu (Núbijci) a k příchodu euroasijských křesťanských a arabských populací (Barnard et al., 2009), což mohlo vést k přesunutí Bedžů více k pobřeží Rudého moře a k omezení jejich populačního růstu.

Jejich genetickou izolovanost potvrzují i vysoké hodnoty genetických vzdáleností. Na grafu mnohorozměrného škálování jsem pozorovala oddělení Bedžů od ostatních populací východního sahelu. Při hodnocení diverzity Y-chromosomu (Hassan et al., 2008) a SNP analýzy (Dubon et al., 2015) takto výrazné genetické vzdálenosti pozorované nebyly. To by odpovídalo zvýšené migrační aktivitě mužské části populace a jejich mísení s okolními populacemi, což je charakteristické především pro matrilokální způsob života. Vliv by ale také mohl mít odlišný výběr populací, se kterými byli Bedžové porovnáváni.

Hassan et al. (2008) se soustředil na 15 populací Súdánu a Etiopie a na základě analýzy bialelických markerů Y chromosomu pozoroval nejnížší genetickou diferencovanost Bedžů vůči arabským populacím, což vysvětluje jejich lokalizaci při pobřeží Rudého moře, kde docházelo ke střetu původních obyvatel s nově příchozími arabskými a tureckými populacemi (Hassan et al., 2008). Nejnížší hodnoty F_{ST} pak pozoroval s etiopskou populací Amharů. Podobně i Dubon et al. (2015) při porovnání populací východní Afriky zaznamenal nejnížší genetické vzdálenosti Bedžů vůči populacím Etiopie, což může být vysvětleno šířením kušitské větve afroasijské jazykové rodiny z Etiopie do východního Súdánu (Blench, 2006). To souhlasí i s údaji pozorovanými v mé práci, kdy nejnížší hodnoty F_{ST} Bedžů byly pozorovány s populacemi Núbijců, súdánských Arabů, ale také s etiopskými Ňangatomy a Daasanaši. Genetická diverzita populací Súdánu tedy odpovídá více než geografické lokalizaci jejich lingvistické

strukturu, což je patrné i z Mantelova testu, kde nebyla pozorována korelace mezi genetickými a geografickými vzdálenostmi.

Dubon et al. (2015) ve své práci pozoroval souvislost mezi geografickou, lingvistickou a genetickou diverzitou u populací východní Afriky. Výjimkou byl výše zmiňovaný vztah Bedžů s etiopskými populacemi a Núbijci, kteří byli řazeni k populacím afroasijské jazykové rodiny i přesto, že přísluší do východosúdánské větve rodiny nilosaharské. Nízké genetické vzdálenosti mezi arabskými populacemi a Núbijci jsem pozorovala i ve své práci, kdy nejnižší hodnoty F_{ST} zaujímali se súdánskými Araby a Baggary a k podobným závěrům došel i Hassan et al. (2008) na úrovni Y chromosomu. Tento fakt lze vysvětlit geografickou lokalizací Núbijců v blízkosti řeky Nil, kudy pronikaly arabské populace během islamizace Afriky v 7. století (Dubon et al., 2015).

Jednou z arabských populací, která migrovala v období raného středověku do severovýchodní Afriky, jsou i pastevci dobytka Baggarové, kteří se nachází v oblasti tzv. baggarského pásu v Čadu a Súdánu. Jejich vysoká genová diverzita a nízká diferencovanost vypovídá o silném genovém toku s okolními populacemi, což je podobné např. i většině pasteveckých skupin Fulbů, které na základě analýzy STR Y chromosomu hodnotila ve své dizertační práci Jana Nováčková (Nováčková, 2016). O mísení Baggarů s okolními populacemi vypovídá i vysoký počet sdílených haplotypů.

Historikové uvádí dvě možné cesty, kterými předkové Baggarů putovali, než dosáhli jejich dnešní lokalizace. První trasa kopíruje povodí řeky Nil až k jižnímu Súdánu, kde zatačí a sahelským pásmem pokračuje západním směrem k Čadskému jezeru. Druhá vede z Egypta západně do Libye, kde se Baggarové vydali jižním směrem k Čadskému jezeru a od něj pokračovali na východ směrem k Nilu (Zeltner, 2002).

Při porovnání genetické struktury čadské (ABA) i súdánské (ABG) skupiny Baggarů bylo možné pozorovat mírné rozdíly. Model jejich cesty přes Libyi podporuje především zastoupení afrických haploskupin, které bylo vyšší u súdánských Baggarů, což by mohlo být dáno jejich delším kontaktem se subsaharskými populacemi. S tím souhlasí i výsledky studie Priehodové et al. (2017), která pozorovala u súdánských nikoli čadských Arabů pokles frekvence alely 13 915*G pro laktázovou perzistenci. Tato alela je charakteristická pro arabské populace Arabského poloostrova a africké Araby, především pro ty populace, které si uchovaly původní životní styl chovu velbloudů. Hodnoty genetických vzdáleností korelují s jejich geografickou lokalizací, což je dáno především úzkými sociálními a obchodními kontakty, které Baggarové s okolními populacemi

udržují. U súdánských Baggarů můžeme pozorovat velmi nízké hodnoty F_{ST} i s usedlými čadskými populacemi, Mabové mají dokonce geneticky blíže k súdánským než čadským Baggarům, což by naznačovalo spíše jejich západovýchodní migraci.

Společně s Baggary do Afriky vstoupily i kočovní Abbalové, kteří dnes žijí na severu Čadu a chovají velbloudy. Na rozdíl od Baggarů jsou geneticky velmi odlišní od subsaharských populací a podobně jako Rašajdové nesou velmi nízký počet subkladů africké haploskupiny L (Priehodová et al., 2017). Rašajdové do Súdánu imigrovali v druhé polovině 19. Století (Fadlalla, 2007) a vzhledem k jejich recentní migraci můžeme při analýze jejich genetické struktury pozorovat silný efekt zakladatele, nízkou genovou diverzitu a vysokou genetickou diferencovanost od populací východní Afriky. Jejich genetická izolovanost byla pozorována i na základě analýzy Y chromozomu (Nováčková, 2016). Rašajdové vykazují vyšší afinitu k severní a střední části Arabského poloostrova, tedy k oblasti, která je považována za místo jejich původu (Čížková, 2014).

10.1.2. Genetická diverzita Čadské pánve

Tisíce let demografických změn v oblasti Čadské pánve se odráží nejen ve vysoké etno-lingvistické rozmanitosti, kdy zde pozorujeme až 200 různých etnických skupin, ale také ve vysoké genetické diverzitě. Čadské jezero sloužilo v minulosti jako migrační centrum pro mnohé populace západní i východní Afriky (Černý 2006, Černý et al., 2007). Kromě toho docházelo i k migracím ze severní Afriky, a to především na konci holocenního klimatického optima vlivem postupné desertifikace Sahary (Kröpelin et al., 2008).

Populace sahelu byly hodnoceny na základě jejich subsistenčních strategií v práci Černého et al. (2011), který pozoroval velký počet sdílených haplotypů u pasteveckých populací především mezi Fulby. To lze vysvětlit jejich společným původem, vysokým genovým tokem mezi jejich subpopulacemi nebo kombinací obou faktorů. Podobné výsledky jsem zaznamenala i u populací Čadu a západního Súdánu, a to především u Dangaelatů, Mabů a Núbů Koalib. Dnes se tyto populace žíví převážně zemědělským způsobem života, avšak předpokládá se, že domestikace a zpracování rostlin má v sahelu mladší tradici než pastevectví (Neumann, 2003). Je tedy možné, že původem mobilní a mezi sebou vzájemně geny si vyměňující pastevecké populace se usadily v úrodných oblastech a přijaly zemědělství a patrně i odlišný jazyk.

Nízké genetické vzdálenosti mezi těmito populacemi by mohl vysvětlovat jejich společný původ ve východní Africe, avšak vzhledem k jejich různému lingvistickému zařazení a časově nesourodým migracím jednotlivých jazykových rodin, které prokázaly lingvistické studie (Blench, 2006), je pravděpodobnější model jejich intenzivního mísení během migrace sahelem směrem k Čadskému jezeru. Podobné mísení dnes pozorujeme i u pasteveckých populací západního sahelu (Triska et al., 2015) nebo u arabských Baggarů, kteří se i přes svou recentní imigraci do sahelu vyznačují nízkou diferencovaností od okolních populací, jak ukazují v této diplomové práci. Pomocí Mantelova testu jsem detekovala u populací Čadu spojitost mezi jejich geografickými a genetickými vzdálenostmi, což odpovídá tomu, že jejich geografická lokalizace má na genetickou strukturu vyšší vliv než jejich lingvistická diverzita.

I přesto je však možné pozorovat souvislost mezi zastoupením některých jazyků a haploskupin. Příkladem je afroasijská čadská větev, ke které patří i jazyk Dangaleatů, která se od východní kušitské větve oddělila přibližně před 6 tisíci lety a je spojována s archeologickými nálezy v řečišti Wádí Howar, které vypovídají o tamější migraci pasteveckých skupin. To dokládá i šíření mtDNA haploskupiny L3f východozápadním směrem podél sahelu, která je dnes rozšířena zejména u populací mluvící čadskou větví afroasijských jazyků (Černý et al., 2009; Soares et al., 2012). To se také shoduje i s vyšším zastoupením této haploskupiny u čadských populací, které jsem detekovala ve své práci, především subkladu L3f1b+16292 u Dangaleatů, kteří k čadské větví afroasijských jazyků také patří.

Přesun nilosaharských populací je podle lingvistů a archeologů datován minimálně o několik tisíciletí dříve, než došlo k expanzi jazykové rodiny afroasijské (Blench, 2006; Sutton 1974). O možné dřívější separaci nilosaharských Mabů z východní Afriky a jejich usídlení v Čadské pánvi vypovídají i vyšší hodnoty genetické vzdálenosti vůči etiopským populacím, než jaké pozorujeme u Dangelatů či Núbů Koalib.

Výskyt nigerokonžských skupin Núbů v západním Súdánu není dosud zcela objasněn. První model předpokládá jejich rozšíření ze západní Afriky, odkud putovaly první nigerokonžské jazyky (kordofánská větev) směrem na východ, druhý model vychází z hypotézy původu nigerokonžské rodiny ve střední Africe, odkud se později její mladší větve rozšířily směrem na západ. Núbové jsou pak označováni jako jedna z prvotních populací, které zůstala v okolí pohoří Núba a zachovala si svůj původní jazyk (Blench, 2006).

Společný původ nigerokonžských a nilosaharských jazyků je stále předmětem lingvistických diskusí. Kordofánská větev, kterou dnes hovoří většina súdánských Núbů, je považována za nejstarší samostatnou větev proto-nigerokonžských jazyků. Krom toho u Núbů pozorujeme i významné zastoupení jazyků Kaduguli, které byly nově zařazeny pod středosúdánkou větev nilosaharské rodiny (Blench, 2006).

O společném původu Núbů s populacemi východní Afriky vypovídají i výsledky práce Dubona et al. (2015), který zaznamenal jejich nejnižší genetické vzdálenosti s nilotickými populacemi Jižního Súdánu. Ve své studii však hodnotí pouze nilosaharské skupiny Núbů. Při porovnání Núbů Koalib (kordofánská větev) s populacemi Čadu a Súdánu jsem pozorovala jejich nejnižší hodnoty F_{ST} s čadskými populacemi. Jejich bližší genetický vztah k populacím západního sahelu než k populacím východní Afriky byl mimochodem nedávno pozorován i na základě analýzy Alu-inzercí (Čížková et al., 2017). Při hodnocení zastoupení haploskupin u Núbů Koalib bylo patrné vyšší zastoupení haploskupin euroasijského původu než u usedlých populací Čadu. Detekovala jsem zastoupení především starších subkladů haploskupiny M, což by mohlo nasvědčovat kontaktu s populacemi severovýchodní Afriky již v raném holocénu (Pennarun et al., 2012). Zastoupení subkladů haploskupiny L se od Mabů ani Dangaleatů významně nelišilo.

Pro úplnost je však nutné dodat, že genetická struktura Núbů mohla být ovlivněna i nedávnými historickými událostmi, jako např. Súdánskou občanskou válkou, která vedla v minulém století k přesunům některých skupin Núbů do bezpečnějších oblastí. Rozsáhlejší studie zahrnující jednotlivé lingvistické skupiny obyvatel pohoří Núba a jejich porovnání s okolními populacemi Afriky by mohla napomoci v objasnění jejich původu, a tím i původu nigerokonžských jazyků ve východoafrickém sahelu.

10.1.2.1. Euroasijská komponenta Čadské pánve

Genetickou strukturu Čadské pánve významně ovlivnily i etapové migrace populací z Euroasie, které byly pozorovány na úrovni mtDNA (Černý et al. 2007; Cerezo et al., 2012, Kulichová et al, 2017) Y chromozomu (Arredi et al. 2004; Cruciani et al., 2010) i celogenomových analýz (Tříška et al., 2015; Haber et al., 2016).

Haber et al. (2016) ve své práci porovnával vliv euroasijské komponenty u populací východní, severní a subsaharské Afriky. U čadských populací pozoroval vyšší genetickou

diferenciaci vůči mimoafrickým populacím, než jaké byly patrné u zástupců východní a severní Afriky, s čímž souhlasí i minimální zastoupení euroasijských haploskupin, které jsem detekovala ve své práci.

Při porovnání genového toku a populační struktury populací Čadské pánve zaznamenal vliv euroasijské komponenty v několika etapách. K nejstarší z nich měl dojít před 4750 – 7200 lety, a její vliv je dnes možné pozorovat především u usedlých populací na jihu Čadu. Vhodné klimatické podmínky vedly k migraci neolitických zemědělců z Blízkého východu, což mělo za následek zvýšený populační růst v severovýchodní Africe a rozšíření populací směrem na západ. Tato migrace je doložena také na základě šíření haploskupiny Y chromosomu R1b-V88, která byla spojována s migrací afroasijských populací přes střed Sahary k jezeru Čad (Cruciani et al., 2010). Haber et al. (2016) stejně jako nedávno Kulichová et al. (2017) však popisují výskyt této haploskupiny i nezávisle na afroasijských populacích.

Druhá etapa je spojována se zpětnou migrací z Blízkého východu, která započala před 3000 lety. Její význam je pozorován především v oblasti východní Afriky. Haber et al. (2016) zaznamenali rozšíření euroasijské komponenty i u nilosaharské pastevecké populace Tubů obývajících severní Čad. Podobně byl také prokázán výskyt mtDNA haploskupin M1 a U6 u příbuzné nilosaharské populace Daza (Podgorná et al., 2013). Ukazuje se tedy, že populace z Blízkého východu v tomto období neputovaly pouze podél povodí Nilu, ale pronikaly také do střední Afriky. Zatím není zcela jasné, proč je v tomto období pozorován euroasijský vliv především v úrovni Čadské pánve, avšak vzhledem k tomu, že u Tubů byl stejně jako u Laalů (jedna ze jihočadských populací) detekován výskyt haploskupiny Y chromosomu R1b-V88, nepředpokládá se, že by se Tubové do oblasti severního Čadu rozšířili až před 3000 lety. Pro objasnění by bylo nutné analyzovat genetickou strukturu i dalších populací Čadu.

Při porovnání zastoupení haploskupin mtDNA jsem u populace Mabů a Dangaleatů nepozorovala výskyt mimoafrických haploskupin, avšak zaznamenala jsem jejich výrazně nižší genetickou diferencovanost vůči Baggarům, kteří z Blízkého východu dorazili před 1100 lety. V tomto období však Haber et al. (2016) genetické mísení s euroasijskými populacemi u Tubů nezaznamenal. Islám přijali nejspíš před 200 lety od severoafrických populací.

10.1.3. Genetická diverzita Afrického rohu

Vysoká genetická diverzita Afrického rohu je dána častými paleolitickými a neolitickými migracemi a geografickou blízkostí jihozápadního cípu Arabského poloostrova (Pagani et al., 2012). Významným spojením se severovýchodní Afrikou bylo po dlouhá tisíciletí údolí řeky Nil, což mj. dokládají i archeobotanické nálezy domestikovaného ječmene a pšenice v Etiopii (Phillipson et al., 1993). Hojně dokumentováno bylo i spojení s jižní a západní Afrikou, z nichž nejvýznamnější se stala expanze jazyků Bantu (Silva et al., 2015).

Porovnáním populací jižního, severního a západního regionu Afriky s etiopskými populacemi se zabýval na základě analýzy SNP autozomální DNA Pagani et al. (2012). Z grafu analýzy hlavních komponent bylo možné pozorovat umístění Etiopanů mezi populace severní a subsaharské Afriky, což odpovídá i geografickému významu tohoto regionu. Při porovnání genetických vzdáleností mezi jednotlivými lingvistickými skupinami bylo možné pozorovat rozdělení na nilotické, omotické, kušitské a semitské jazyky. Nilosaharské nilotické populace měly nejbližší k zástupcům nejstarších omotických jazyků afroasijské rodiny, což se shoduje i s lingvistickými rekonstrukcemi jejich původu. U těchto populací byl také pozorován vyšší vliv západoafrické komponenty, než u populací kušitských a semitských, u kterých byla významnější komponenta neafrická (Pagani et al., 2012).

Na rozdíl od Paganiho et al. (2012) jsem jasnou korelaci mezi lingvistickým zařazením a genetickými vzdálenostmi u populací Afrického rohu nepozorovala. U kušitské populace Daasanašů jsem zaznamenala minimální zastoupení neafrických haploskupin a významně nižší genetickou diferenciaci k nilotickým Ňangatomům než k populaci Somálců. Krom toho Poloniová et al. (2009) pozorovala vyšší genetické vzdálenosti nilosaharských Turkanů vůči Ňangatomům než Daasanašům, což vysvětluje hypotézou o jejich společném nilosaharském původu, podle které Daasanašové přijali kušitský jazyk až později v průběhu 19. století (Poloni et al., 2009).

K populační nestabilitě Afrického rohu přispěly také imigrace mimoafrických populací v období holocénu. Předpokládány jsou dvě možné trasy, kterými se euroasijská komponenta mohla šířit. První vede přes Levantu a severovýchodní Afriku podél údolí řeky Nil, druhá využívá ke spojení s Arabským poloostrovem kanál Bab-Al-Mandeb (Luis et al., 2004). Většina fylogenetických studií mtDNA podporují spíše její severní šíření přes oblast Levanty. Tato hypotéza je založena především na výskytu a rozšíření starších

mimoafrických subkladů nejen v Etiopii, ale také u většiny semitských a některých nilosaharských a nigerokonžských populací severní a východní Afriky (Haber et al., 2016, Kivisild et al. 2004; Winters 2010). Severní trasu podporuje i zastoupení haploskupiny E3b*-M35 Y chromosomu, která je charakteristická pro neolitickou expanzi z Blízkého východu. Luis et al. (2004) zaznamenal její četné zastoupení u populací východní Afriky, avšak v Ománu detekována nebyla.

Analýzou euroasijské komponenty u afroasijských populací byla potvrzena afinita etiopských a egyptských populací. V případě analýzy na úrovni celého genomu bylo patrné spojení s obyvateli Jemenu (Pagani et al., 2010), což koresponduje i výsledky analýzy mtDNA (Richards et al., 2003; Černý et al., 2008; 2016). Tento fakt je vysvětlován pravděpodobným obchodem s otroky anebo hadramí diasporou (Černý 2016). Střet africké a euroasijské komponenty u semitských populací v Etiopii byl datován Paganim et al. (2010) přibližně před 3 tisíci lety, což souhlasí se vznikem etiosemitské afroasijské jazykové větve. Pagani et al. (2010) pozorovali kontakt africké a euroasijské komponenty u semitských populací i v severní Africe, kde k němu došlo přibližně o dva tisíce let dříve než v Etiopii.

Z výsledků fylogenetických analýz zaměřujících se na šíření haploskupin mezi Arabským poloostrovem a Afrikou je jak na úrovni Y chromosomu (Luis et al., 2004), tak i mtDNA (Fernandes et al., 2012; 2015; Gandini et al. 2016) patrné významné využití jižní trasy mezi těmito regiony v období pleistocénu společně s prvními migracemi mimo Afriku. Spojení jižní Arábie a Etiopie v holocénu mělo na genetickou diverzitu populací východní Afriky pouze minimální vliv (Gandini et al., 2016).

10.2. Sdílení haplotypů mezi sahelskými a okolními populacemi

Ve své práci jsem hodnotila rozšíření haploskupin jednotlivých populací severovýchodní Afriky na základě analýzy jejich HVS-I a HVS-II segmentu mtDNA. V souboru bylo pozorováno celkem 181 různých haploskupin, z toho se téměř ze dvou třetin (117) jednalo o subklady africké haploskupiny L, jejichž šíření do velké míry koreluje s lingvistickými studiemi (Tiskhoff et al., 2009). Významný vliv sehrál také příchod euroasijských populací, které genetickou výbavu afrických populací obohatili o mimoafrické (non-L) haploskupiny (Cerezo et al., 2016)

10.2.1. Šíření afrických haploskupin východním sahelem

Obousměrné migrace sahelem můžeme sledovat pomocí fylogeografických studií, které porovnávají stáří či diverzitu jednotlivých haploskupin s jejich dnešním rozšířením. Na základě původu a výskytu subkladů L2a, L2c, L0a a L3f (Rito et al., 2013, Soares et al., 2012, Salas et al., 2002, Černý et al., 2009) byly stanoveny tři hlavní časové období zvýšené migrační aktivity ve východní Africe (Silva et al., 2015).

První období je spojováno se šířením haploskupiny L2a5, která se oddělila v klimatickém optimu pleistocénu před 40 – 50 tisíci lety. Tato haploskupina je dnes hojně rozšířena především v jižní a jihovýchodní Africe u bantuských populací, což bylo donedávna vysvětlováno vlivem recentní bantuské expanze (Salas et al., 2002). Silva et al. (2015) se ve své práci zabývala zastoupením subkladů haploskupiny L0a u zástupců východní (Etiopie, Súdán, Somálie), jihovýchodní (Mozambik) a západní Afriky (Sao Paulo). Vyšší četnost subkladu L2a5 pozorovala především u populací súdánských a na základě toho se došla k závěru, že k rozšíření této haploskupiny do jihovýchodní Afriky došlo již v pleistocénu. Existenci koridoru mezi jihovýchodní a západní Afrikou v období před 60 – 40 tisíci lety dokládá i šíření haploskupin L3e a L3b'd (Kivisild et al., 2004). Výskyt u bantuských populací by mohl být dle Silvy et al. (2015) vysvětlen zastávkou prvních bantuských migrantů při cestě do jižní Afriky u Viktoriina jezera.

Na rozdíl od Silvy et al. (2015) jsem zastoupení L2a5 u súdánských populací nezaznamenala. Její výskyt jsem detekovala pouze u jihoetiopských Ňangatomů, pro které je charakteristické zastoupení především mladších subkladů spojovaných s bantuskou expanzí. To podporuje úvahy o jejím mladším rozšíření do východní Afriky. Pro přesnější závěry by však bylo nutné provést i další fylogenetické studie, především populací Ugandy v okolí Viktoriina jezera.

Druhé období je spojeno se šířením haploskupin, jejichž vznik je datován do postglaciálního období a k jejichž šíření došlo před 15–7 tisíci lety podél sahelského koridoru. Jedná se především o subklady L2a2, L2a1d1 a L2a1+143 (Silva et al., 2015). Toto období je spojováno s populační expanzí, přijetím nových subsistenčních strategií, příchodem populací z Euroasie a celkově zvýšenou migrační aktivitou severovýchodní Afriky (Salas et al., 2002).

Vznik haploskupiny L2a1+143 je datován krátce po posledním glaciálním maximu, přibližně před 24 tisíci lety, a její rozšíření je patrné po celé severovýchodní Africe a také

v oblasti Blízkého východu (Silva et al., 2015; Černý et al., 2016). Ve své práci jsem ji zaznamenala u všech populací kromě Rašajdů se snižující se frekvencí směrem na východ. Významné zastoupení bylo možné pozorovat i u arabské pastevecké populace Baggarů, která se s ní pravděpodobně setkala ještě před příchodem do východního sahelu. Vyšší zastoupení u čadských Baggarů podporuje spíše jejich severní trasu šíření k jezeru Čad.

U mladších subkladů haploskupiny L2a jsem detekovala jejich vyšší četnost směrem na východ, což je dáno jejich pozdějším oddělením během západovýchodní migrace sahelem. Příkladem je haploskupina L2a1d1 stará přibližně 10 tisíc let, která je dnes rozšířena až na území Levantu (Silva et al., 2015). Její zastoupení jsem pozorovala převážně u súdánských populací, zejména u Baggarů. Na rozdíl od starších haploskupin nebyla zaznamenána u nilosaharských Mabů, což potvrzuje její pozdější původ východněji v sahelu. Zajímavé je, že mladší subklady nebyly detekovány ani u Núbů Koalib, což by mohlo vypovídat o jejich oddělení od nilosaharských populací Čadu na přelomu pleistocénu a holocénu.

Mimo subkladů L2a a L2c, které dokládají migrace v západovýchodním směru, můžeme v období raného holocénu pozorovat i šíření haploskupin L0a a L3f avšak ve směru opačném. Haploskupina L0a se od L0a' b oddělila na území východní Afriky přibližně před 40-50 tisíci lety, avšak směrem na západ se začala rozšiřovat až v období raného holocénu. Rito et al. (2013) ve své studii určila dobu vzniku většiny subkladů haploskupiny L0a. Ve střední Africe pozorovala haploskupiny staré přibližně 10–15 tisíc let a zastoupení těchto haploskupin jsem s vyšší četností u čadských populací pozorovala i ve své práci, zatímco subklady starší byly charakteristické pro východní Afriku. Zajímavé je rozšíření haploskupiny L0a1a+200, které spojuje nilosaharskou populaci Mabů, žijících ve středním Čadu s východosúdánskými Núbijci a Bedži, což by mohlo vypovídat o počátku migrace Mabů směrem na západ přibližně před 15 tisíci lety.

Pro období raného holocénu je charakteristické rozšíření východoafrické haploskupiny L3f. Její sesterské větve L3e, L3b' d se na území západní Afriky dostaly již v pleistocénu, zatímco mladší L3f začala s východozápadní expanzí až před 8 tisíci lety, a je spojována se šířením proto-čadských pasteveckých populací (Černý et al., 2009). V oblasti Čadské pánve jsem zaznamenala vyšší zastoupení subkladu L3f1b, jehož původ byl datován do období před 15 tisíci lety mezi východní a střední Afrikou (Soares et al., 2012). U čadských Dangaleatů jsem pak detekovala významné zastoupení L3f1b+16292, což by mohlo souviset s výše zmíněným proto-čadským šířením před přibližně 6 tisíci lety

(Blench, 2006). Tyto souvislosti by ovšem bylo možné řešit jen sekvenováním kompletních mtDNA genomů.

Zajímavé je pak rozšíření haploskupiny L3f2, kterou jsem zaznamenala u 30 zástupců populace Bedžů. Jedná se o jednu z dceřinných haploskupin L3f, která vznikla přibližně před 50–60 tisíci lety (Behar et al., 2008) a jejíž výskyt je spojován výhradně s východní Afrikou s kušitsky mluvícími populacemi (Černý et al., 2009). U populací Čadu jsem ji pozorovala pouze u jediného zástupce baggarských pastevců a ve třech případech u Arabů a Núbijců žijících podél středního Nilu.

Absence výskytu subkladu L3f u kušitsky mluvící populace Daasanašů potvrzuje hypotézu Estelly Poloniové, která ve své studii (Poloni et al., 2009) uvažuje nad jejich společnými nilosaharskými předky s kmenem Pokotů, který se dnes nachází o něco jižněji v Keni (Poloni et al., 2009).

Třetí nejmladší období začalo přibližně před 3 tisíci lety a zaznamenává přesun bantuských zemědělců ze západní do jižní Afriky. Proto dnes u bantuských populací lze pozorovat zastoupení spíše mladších subkladů, které se oddělily již ve střední a západní Africe. Předpokládá se, že jejich trasa vedla přes oblast Velkých jezer v jihovýchodní Africe, kde vlivem genového toku došlo k rozšíření „bantuských“ haploskupin do genetické výbavy jihoetiopských populací, což vysvětluje i výskyt typicky východoafrických haploskupin u populací Bantu (Silva et al., 2015).

To souhlasí i s výsledky mé práce, kde jsem u jihoetiopských Daasanašů a Ňangatomů zaznamenala vyšší zastoupení mladších haploskupin pocházejících ze západní Afriky. Příkladem může být zastoupení subkladu L2b2a u Ňangatomů, jehož starší sesterské větve L2b1a2 či L2b1a1 jsem detekovala pouze u populací Čadu.

10.2.2. Haploskupiny euroasijského původu ve východní a severní Africe

Vysoká genetická diverzita východní Afriky není ovlivněna pouze diverzifikací afrických (L) haploskupin, ale také zastoupením řady haploskupin euroasijského původu (tzv. non-L). Tyto haploskupiny se odvozují od dvou linií označených M a N, které vznikly přibližně 60–70 tisíci lety v Euroasii jako dvě ze sedmi dceřinných linií východoafrické L3 (Soares et al., 2012). Výskyt později vzniklých euroasijských haploskupin v Africe je dán vlivem zpětných migrací z Blízkého východu či Arabského poloostrova (Haber et al., 2016, Fernandes et al., 2015).

Pro porovnání zastoupení těchto haploskupin ve východní Africe jsem využila studie Abu-Amera et al. (2007, 2008), ve které se zabývají genetickou strukturou Arabského poloostrova. U semitských populací Súdánu a kušitských Somálců jsem pozorovala bohaté zastoupení subkladů haploskupin M1, N1, R0a a HV1, což se z velké části shodovalo s jejich výskytem v Saúdské Arábii (Abu-Amero et al., 2007) a Jemenu (Černý et al., 2008, Černý et al., 2016; Musilová et al., 2011). Tyto haploskupiny jsou bohatě zastoupené i na území dnešní Etiopie, avšak u agropastevckých Ňangatomů a Daasanašů převažují spíše africké haploskupiny spojované s bantuskou expanzí (Poloni et al., 2009, Silva et al., 2015). Rozdíly v jejich zastoupení jsem pozorovala i u populací Súdánu. Zatímco u pasteveckých Bedžů byl jejich výskyt minimální, u nilosaharských Núbijců tvořily až polovinu detekovaných haploskupin, což je vysvětlováno mísením Núbijců s euroasijskými populacemi (Krings et al., 1999; Winters, 2010).

Původ euroasijské haploskupiny M1 není zatím zcela objasněn. Gonzáles et al. (2007) její vznik umístili do západní Asie před 20–10 tisíci lety, zatímco Winters (2010) argumentuje jejím zastoupením v západní a jižní Africe a za místo jejího původu označuje povodí dolního Nilu. Svoji hypotézu opírá o zastoupení M1 u populací nejen afroasijské, ale i nigerokonžské jazykové rodiny. To se shoduje s výsledky mé práce, kde jsem pozorovala zastoupení haploskupiny M1 a jejich subkladů u nigerokonžské populace Núbů Koalib a u většiny súdánských populací mluvících semitskými jazyky. Dle Winterse (2010) tato haploskupina dokumentuje společný původ afrických jazykových rodin v oblasti dolního toku Nil, což podporuje i řada lingvistických studií (Heine and Nurse, 2000; Blench, 1999). Ve své práci pak uvažuje i nad společným původem nigerokonžské a nilosaharské jazykové rodiny, avšak pro potvrzení této hypotézy by bylo nutné provést širší fylogenetickou analýzu jednotlivých lingvistických skupin.

Při porovnání populací východní Afriky s populacemi Arabského poloostrova můžeme vidět společné vysoké zastoupení haploskupiny M1a1 (Abu-Amero et al., 2007), která vznikla přibližně před 16,5 tisíci lety ve východní Africe (González et al. 2007). Od ní se přibližně o 6 tisíc let později oddělila mladší větev M1a2, kterou lze pozorovat výhradně v Etiopii (Kivisild et al., 2004), což odpovídá zastoupení subkladu M1a2b u Somálců, které jsem detekovala ve své práci. Zajímavé je také rozšíření přibližně 19 tisíc let staré větve M1b (Gonzales et al. 2007), která se dnes nachází v severní a severozápadní Africe a do Saúdské Arábie se rozšířila z východní Afriky přes Středomoří (Winters, 2010).

Další bohatě zastoupenou haploskupinou ve východní Africe, která je zároveň rozšířena i v Saúdské Arábii a Jemenu je N1a (Abu-Amero et al. 2007), jejíž stáří bylo určeno před 23,5 tisíci lety. Pro východní Afriku, především pro Somálce, je charakteristická její mladší větev N1a1a (Palanichamy et al. 2010; Fernandes et al., 2012). U Somálců jsem detekovala také subklad N1b2, který je spojován s aškenázskými Židy a jeho původ je lokalizován do oblasti Blízkého východu (Costa et al., 2013).

Zastoupení subkladů makrohaploskupiny R0 bylo ve východní Africe charakterizováno především výskytem HV1b1 (Musilová et al., 2011) a v menší míře pak R0a a R0a1a (Černý et al., 2011). Na rozdíl od haploskupiny R0a, která se vyskytuje především v jižní Arábii včetně Sokotry (Černý et al., 2009, 2011), HV1 je typická pro východní Afriku a Blízký východ. Pouze dva subklady HV1 jsou pozorovány v Jemenu a Etiopii zároveň, a to HV1b1, která se oddělila před asi 10 tisíci lety a mladší HV1a3, jejíž stáří je přibližně 7 tisíc let. Podle Musilové et al. (2007) se může jednat o důsledek námořních cest mezi regiony Afrického rohu a jižní Arábie.

Haploskupina R0a je velmi diverzifikovanou skupinou pozorovanou v jižní Arábii, která se dále dělí na tři hlavní větve. Jedná se o R0a1, která je stará přibližně 22 tisíc let a R0a2'3, které se rozdělily před 15–12 tisíci lety. V této době je podle Rose et al. (2013) možné pozorovat intenzivní kontakt populací mezi Saúdskou Arábii a východní Afrikou (Etiopií). Pro interní expanzi populací v Arábii, která započala v průběhu středního holocénu, je typický vznik mladších haploskupin R0a1a1, R0a1a4, R0a2a či R0a2c (Gandini et al., 2016).

Výskyt mladších arabských haploskupin jsem detekovala především u arabských nomádů Rašajdů. Jedná se především o výše zmíněny subklad R0a2c, který jsem zaznamenala u celkem 12 jedinců (23%). Poměrně četné bylo i zastoupení arabských haploskupin J1b8 a N1a3a. J1b8 je dnes hojně rozšířená v Alžírsku a Arménii a od arabské haploskupiny J1b se oddělila přibližně před 6,5 tisíci lety (Fernandes et al., 2015), N1a3a (dříve N1c) je stará přibližně 11,5 tisíc let a kromě Arábie ji můžeme pozorovat i na Kavkaze. Zastoupení afrických haploskupin je u Rašajdů minimální, což můžeme vysvětlit jednak jejich nedávnou imigrací, ale také i jejich socio-kulturní izolací.

11. Závěr

Ve své diplomové práci jsem se zabývala populační strukturou a migrační aktivitou severní a východní Afriky na základě genetické analýzy kompletního kontrolního úseku mtDNA. Analyzované populace zastupovaly tři významné oblasti tohoto regionu, a to oblast Čadu, Súdánu a Afrického rohu a tři hlavní africké jazykové rodiny (nigerokonžskou, nilosaharskou a afroasijskou). Jednalo se o zástupce jak pastevecké, tak i zemědělské subsistenční strategie.

Výsledky jsem se snažila interpretovat s ohledem na geografické poměry, které měly výjimečný vliv na vývoj genetické struktury populací v severní a východní Africe. Jednalo se především o důležité migrační body východního sahelu, mezi které byly zařazeny údolí řeky Nil, jeho během časného a středního holocénu rozvodněné přítoky jako je např. Wádí Howar a Čadské jezero, které představovalo jakési těžiště afrických migrací (Černý, 2006). Význam těchto oblastí byl značný především v klimaticky nepříznivých obdobích, kdy sloužily jako refugia pro populace opouštějící vysychající Saharu. Povodí řeky Nil však sehrálo i důležitou roli při nových i zpětných migracích mezi východní Afrikou, Levantou a zprostředkovaně i Arabským poloostrovem.

Intra- a inter-populační analýzy Čadské pánve vypovídají o nízké vzájemné genetické diferencovanosti tamějších populací i přesto, že lingvistické zařazení a z části i zastoupení haploskupin mtDNA značí jejich odlišný původ. Genetické vzdálenosti mezi jednotlivými populacemi do jisté míry korelují se vzdálenostmi geografickými a jejich nízké hodnoty lze vysvětlit vysokou migrační aktivitou v tomto regionu, která byla s velkou pravděpodobností iniciována změnami přírodního prostředí v minulých obdobích. K asi nejdůležitější změně došlo během tzv. holocenního klimatického optima, kdy se nehostinná Sahara proměnila v rozsáhlý systém řek a neobyčejně velkých jezer, včetně tzv. Mega-Čadského jezera. Toto období je spojováno se šířením nilosaharských populací, jejichž obživou byly podle hypotézy vodní civilizace především ryby a vodní zvířata. Postupně došlo i k přesunu populací dalších jazyků, příkladem je doložená východozápadní migrace proto-čadských pastevců postupujících podél tehdejšího Žlutého Nilu (dnes Wádí Howar). Konec úrodného vlhkého období vystřídala postupná desertifikace Sahary, což pravděpodobně vedlo k masivní mobilitě populací ze Sahary směrem na jih k Čadskému jezeru. Během této migrace mohlo dojít k intenzivnímu kontaktu mezi kulturně i lingvisticky různými populacemi, což by mohlo vysvětlovat

vysokou genetickou diverzitu a nízkou diferencovanost, které jsem u populací východního sahelu pozorovala.

Dnešní genetická struktura populací Súdánu je výrazně ovlivněna arabskou komponentou, která etapově vstupovala do regionu podél údolí řeky Nil. Ve své práci jsem hodnotila jak původní populace Súdánu (Bedžové, Núbijci, Núbové), tak i imigrované zemědělce súdánské Araby či pastevce Baggary a Rašajdy. Genetická diverzita vybraného souboru odpovídá více než geografické lokalizaci jednotlivých populací jejich lingvistické a socio-kulturní heterogenitě. Zatímco blízký kontakt Núbijců a Arabů se bohatě odráží v jejich genetické struktuře, u Bedžů a Núbů na úrovni mtDNA výrazné spojení s arabskými populacemi detekováno nebylo. Genetická izolace Bedžů a nízká genová diverzita by mohla být následkem odděleného pasteveckého způsobu života při okraji Rudého moře spojeného s recentním zmenšením efektivní velikosti populace, minimálně její ženské části. Historie Núbů je více spjatá s populacemi Čadské pánve, jejich původ v pohorí Núba však stále není zcela objasněn.

Součástí arabizace v 7. století byl i příchod pasteveckých Baggarů, kteří jsou dnes hojně rozšířeni v sahelu na území Súdánu a Čadu. Vzhledem k dlouhodobému a intenzivnímu kontaktu s okolními populacemi v jejich genetické struktuře pozorujeme silný vliv okolních afrických populací. Přesná trasa jejich migrace je stále diskutí řady genetických i jiných studií, z mých výsledků je možné uvažovat spíše o jejich severní trase přes Libyi a Čadskou pánev. Geneticky málo diferencovaní Baggarové se svojí genetickou strukturou výrazně liší od kočovných Arabů Rašajda, kteří žijí při pobřeží Rudého moře a do Afriky dorazili až v průběhu 19. století. Jejich recentní migrace vysvětluje jak vliv genetického driftu, tak i převažující zastoupení mimoafrických haploskupin.

Genetická struktura populací Afrického rohu prokázala u většiny populací silný vliv euroasijské komponenty, který si lze vysvětlit migracemi z Blízkého východu a dále podél údolí řeky Nil, anebo přes úžinu Bab-al-Mandeb, která odděluje jižní Arábii od východní Afriky jen v délce 26 km a v sušších obdích ještě méně (Černý, 2016). Společné zastoupení haploskupin mtDNA u populací severní a východní Afriky vypovídá spíše o jejich holocénní migraci z Blízkého východu. Genetická skladba u jihoetiopských populací je pak ovlivněna i bantuskou migrací, což se projevuje zejména vyšším zastoupením mladších haploskupin západoafrického či středoafického původu.

Sahel, díky svému umístění mezi Saharou a tropickými pralesy, sloužil po většinu času jako prostor pro migrace subsaharských populací v horizontálním směru (Černý et al., 2007). Ve vlhčích obdobích, naposledy před 10–5 tisíci lety, docházelo ale také ke kontaktům se středomořskými populacemi, jejichž stopy lze detekovat především v genetické výbavě pasteveckých populací (Podgorná et al., 2013; Kulichová et al., 2017). Abychom mohli zachytit a popsat populační dynamiku afrického sahelu, je nutné analyzovat i genetickou strukturu okolních regionů. Ve své práci jsem uvedla základní poznatky o genetické struktuře mtDNA dvanácti populací severovýchodní Afriky, které jsem konfrontovala s dalšími genetickými studii, ale také s lingvistickými a archeologickými údaji. Výsledky mé práce by mohly přispět k pochopení a odhalení komplikované populační struktury tohoto neprávem opomíjeného regionu.

12. Seznam zkratek

aDNA	ancient DNA; starobylá DNA
AMOVA	analýza molekulárního rozptylu
AVČR	Akademie věd České republiky
C	cytosin
CRS	Cambridge reference sequence; cambridžská referenční sekvence
dNTP	deoxynukleosidtrifosfátů
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
G	guanin
HVS-I	hypervariabilní segment I
HVS-II	hypervariabilní segment II
ITCZ	intertropická konvergenční zóna
LPH	laktasa-phlorizin hydroláza
MDS	multidimensional scalling; mnohorozměrné škálování
ML	maximum likelihood; metoda maximální pravděpodobnosti
mtDNA	mitochondriální DNA
n.l.	našeho letopočtu
PCR	Polymerase Chain Reaction, polymerázová řetězová reakce
rCRS	revised Cambridge reference sequence; revidovaná cambridžská referenční sekvence
SNP	single nucleotide polymorphism; jednonukleotidový polymorfismus
STR	short tandem repeats; krátká tandemová repetice
TBE	Tris-Borate-EDTA

13. Seznam použité literatury

- Abu-Amero KK, González AM, Larruga JM., Bosley TM., Cabrera VM. 2007. Eurasian and African mitochondrial DNA influences in the Saudi Arabian population. *BMC Evolutionary Biology* 32(7). DOI: 10.1186/1471-2148-7-32.
- Abu-Amero KK, Larruga JM, Cabrera VM, González AM. 2008. Mitochondrial DNA structure in the Arabian Peninsula. *BMC Evolutionary Biology* 8(45). DOI: 10.1186/1471-2148-8-45.
- Adam BM. 2012. Baggar of Sudan: Culture and Environment. CreateSpace Independent Publishing Platform.
- AMCEN. 2011. Adressing Climate Change Challenges in Africa. Nairobi, Kenya.
- Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Howell N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature genetics* 147(23). DOI: 10.1038/13779.
- Arredi BE, Polloni ES, Paracchini S. 2004. A Predominantly Neolithic Origin for Y-Chromosomal DNA Variation in North Africa. *American Journal of Human Genetics* 75(2), 338-345. DOI: 10.1086/423147.
- Bandelt HJ, Forster P, Rohl A, 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16(1), 37-48. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036.
- Barnard H. 2009. The Archeology of Pastoral Nomads between the Nile and the Red Sea. Nomads, Tribes, and the State in the ancient Near East 15-43.
- Batello C, Marzot M, Touré AH, Kenmore PE. 2004. The future is an ancient lake: traditional knowledge, biodiversity, and genetic resources for food and agriculture in Lake Chad Basin ecosystems. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. ISBN 92-510-5064-3.
- Beaujard P. 2011. The first migrants to Madagascar and their introduction of plants: linguistic and ethnological evidence. *Azania: Archeological Research in Africa* 46(2), 169-189. DOI: 10.1080/0067270X.2011.580142.
- Behar DM, VILLEMS R, Soodyall H. 2008. The Dawn of Human Matrilineal Diversity. *American Journal of Human Genetics* 82(5), 1130-1140. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.04.002.

- Beltrame MH, Rubel MA, Tikshoff SA. 2016. Inferences of African evolutionary history from genomic data. *Current Opinion in Genetics* 41, 159-166. DOI: 10.1016/j.gde.2016.10.002. ISSN 0959437x.
- Beránek M. 2016. *Molekulární genetika pro bioanalytiky*. Praha: Karolinum. ISBN 978-802-4632-247.
- Blench R. 2006. *Archaeology, Language, and the African Past*. Lanham: AltaMira Press. ISBN 978-075-9114-210.
- Blench R, Spriggs M. 1999. *The languages of Africa: macrophyla proposals and implications for archeological interpretation*. London: Routledge.
- Blome MW, Cohen AS, Tryon CA, Brooks AS, Russell J. 2012. The environmental context for the origins of modern human diversity: A synthesis of regional variability in African climate 150,000–30,000 years ago. *Journal of Human Evolution* 62(5), 563-592. DOI: 10.1016/j.jhevol.2012.01.011.
- Bubbenzer O, Bolten A, Darius F. 2007. *Atlas of cultural and environmental change in arid Africa*. Köln: Heinrich-Barth-Institut, ISBN 978-3-927688-32-2.
- Budowle B, Wilson MR, Dizinno JA, Stauffer C, Fasano MA, Holland MM, Monson KL. 1999. Mitochondrial DNA regions HVI and HVII population data. *Forensic Science International* 103(1), 23-35. DOI: 10.1016/S0379-0738(99)00042-0.
- Bunter M, Magid A. 1989. The Sudanese Red Sea: 2. New developments in petroleum geochemistry. *Journal of Petroleum Geology* 12(2), 167-186. DOI: 10.1111/j.1747-5457.1989.tb00231.x.
- Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A. 1994. *The history and geography of human genes*. Princeton, N.J.: Princeton University Press. ISBN 978-069-1087-504.
- Cerezo M, Achilli A, Olivieri A. 2012. Reconstructing ancient mitochondrial DNA links between Africa and Europe. *Genome Research* 22(5), 821-826. DOI: 10.1101/gr.134452.111.
- Cerezo M, Gusmao L, Černý V, et al. 2016. Comprehensive Analysis of Pan-African Mitochondrial DNA Variation Provides New Insights into Continental Variation and Demography. *Journal of Genetics and Genomics* 43(3), 133-143. DOI: 10.1016/j.jgg.2015.09.005.

- Clark JD. 1982. The cultures of the Middle Palaeolithic/Middle Stone Age. *The Cambridge History of Africa* 248-341. DOI: 10.1017/CHOL9780521222150.005.
- Costa MD, Pereira JB, Pala M, Fernandes V, Olivieri A, Achilli A, Perego UA. 2013. A substantial prehistoric European ancestry amongst Ashkenazi maternal lineages. *Nature Communications* 4.
- Cox, M. 2006. Extreme Patterns of Variance in Small Populations: Placing Limits on Human Y-Chromosome Diversity through Time in the Vanuatu Archipelago. *Annals of Human Genetics* 71(3), 390-406. DOI: 10.1111/j.1469-1809.2006.00327.x.
- Cook GC, and al-Torki MT. 1975. High intestinal lactase concentrations in adult Arabs in Saudi Arabia. *BMJ* 3(5976) 135-136.
- Cruciani F, Trombetta B, Sellitto D, et al. 2010. Y chromosome haplogroup R-V88: a paternal genetic record of early mid Holocene trans-Saharan connections and the spread of Chadic languages. *European Journal of Human Genetics* 18(7), 800-807. DOI: 10.1038/ejhg.2009.231.
- Currie T, Bogaard A, Edward R, Francois P, Holden P. 2015. *Agricultural Productivity in Past Societies: Toward an Empirically Informed Model for Testing Cultural Evolutionary Hypotheses*. University of California: Chiodynamics.
- Černý V, Mulligan CJ, Rídl J, Žaloudková M, Edens CM, Hájek M, Pereira L. 2008. Regional differences in the distribution of the sub-Saharan, West Eurasian, and South Asian mtDNA lineages in Yemen. *American Journal of Physical Anthropology* 136(2), 128-137. DOI: 10.1002/ajpa.20784.
- Černý V. 2006. *Lidé od Čadského jezera*. Praha: Academia. ISBN 978-802-0013-644.
- Černý V. 2016. *Po stopách 'Ádů: Jižní Arábie v čase a prostoru*. Praha: Academia. ISBN 978-802-0025-180.
- Černý V, Čížková M, Poloni ES, Al-Meerri A, Mulligan CJ. 2016. Comprehensive view of the population history of Arabia as inferred by mtDNA variation. *American Journal of Physical Anthropology* 159(4), 607-616. DOI: 10.1002/ajpa.22920.
- Černý V, Fernandes V, Costa M, Hájek M, Mulligan CJ, Pereira L. 2009. Migration of Chadic speaking pastoralists within Africa based on population structure of Chad Basin and phylogeography of mitochondrial L3f haplogroup. *BMC Evolutionary Biology* 9(1), 63. DOI: 10.1186/1471-2148-9-63.

- Černý V, Pereira L, Musilová E, et al. 2009. Genetic Structure of Pastoral and Farmer Populations in the African Sahel. *Molecular Biology and Evolution* 9(1), 2491-2500. DOI: 10.1093/molbev/msr067.
- Čížková M, Hofmanová Z, Mokhtar MG, Janoušek V, Diallo I, Muclinger P, Černý V. 2017. Alu insertion polymorphisms in the African Sahel and the origin of Fulani pastoralists. *Annals of Human Biology* 1-9. DOI: 10.1080/03014460.2017.1328073.
- Čížková M. 2014. Genetické vazby v okolí Rudého moře hodnocené pomocí mtDNA. Praha.
- Damania B. 1997. The origins of agriculture and crop domestication: proceedings of the Harlan Symposium, 10 - 14 May 1997, Aleppo, Syria. Aleppo: ICARDA. ISBN 92-912-7084-9.
- De Filippo C, Bostoen K, Stoneking M, Pakendorf B. 2012. Bringing together linguistic and genetic evidence to test the Bantu expansion. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279(1741), 3256-3263. DOI: 10.1098/rspb.2012.0318.
- Dobon B, Hassan HY, Laayouni H, et al. 2015. The genetics of East African populations: a Nilo-Saharan component in the African genetic landscape. *Scientific Reports* 5(1). DOI: 10.1038/srep09996.
- Drake NA, Blench R, Armitage SJ, Bristow CS, White KH. 2011. Ancient watercourses and biogeography of the Sahara explain the peopling of the desert. *PNAS* 108(2), 458-462. DOI: 10.1073/pnas.1012231108.
- Drake NA, Bristow C. 2006. Shorelines in the Sahara: geomorphological evidence for an enhanced monsoon from palaeolake Megachad. *The Holocene* 16(6), 901-911. DOI: 10.1191/0959683606hol981rr.
- Ehret C. 2002. *The civilizations of Africa: a history to 1800*. Charlottesville: University Press of Virginia. ISBN 08-139-2085-X.
- Emelyanov VV. 2003. Mitochondrial connection to the origin of the eukaryotic cell. *The FEBS Journal* 270(8), 1599-1618. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2003.03499.x.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131(2), 479-491.

- Excoffier L, Heidi E, Lischer L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10(3), 564-567. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
- Fadlalla AH. 2007. *Embodying honor: fertility, foreignness, and regeneration in eastern Sudan*. Madison, Wis.: University of Wisconsin Press. ISBN 02-992-2380-9.
- Fernandes V, Alshamali F, Alves M, et al. 2012. The Arabian Cradle: Mitochondrial Relicts of the First Steps along the Southern Route out of Africa. *American Journal of Human Genetics* 90(2), 347-355. DOI: 10.1016/j.ajhg.2011.12.010.
- Fernandes V, Triska P, Pereira JB, et al. 2015. Genetic Stratigraphy of Key Demographic Events in Arabia. *PLoS One* 10(3). DOI: 10.1371/journal.pone.0118625.
- Flegr J. 2007. *Úvod do evoluční biologie*. Academia. Galileo. ISBN 978-80-200-1539-6.
- Fu XY. 1997. Statistical Tests of Neutrality of Mutations against Population Growth Hitchhiking and Background Selection. *Genetics* 147(2), 915-925.
- Gandini F, Achilli A, Pala M, Bonder M, Brandini S, Huber G, Egyed B, Ferretti L. 2016. Mapping human dispersals into the Horn of Africa from Arabian Ice Age refugia using mitogenomes. *Scientific Reports* 6(1). DOI: 10.1038/srep25472.
- Gautier A, Eters P, Brink JJ, Heanen W. 1994. Late Quaternary Extinction of Ungulates in Sub-Saharan Africa: a Reductionist's Approach. *Journal of Archaeological Science* 21(1), 17-28. DOI: 10.1006/jasc.1994.1004.
- Gebrault P, Liebert A, Itan Y, Powell A, Currat M, Burger J, Swallow DM, and Thomas MG. 2011. Evolution of lactase persistence an example of human niche construction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 336(1566) 863-877.
- Gonder MK, Mortensen HM, Reed FA, De Sousa A, Tishkoff SA. 2007. Whole-mtDNA Genome Sequence Analysis of Ancient African Lineages. *Molecular Biology and Evolution* 24(3), 757-768. DOI: 10.1093/molbev/msl209.
- González AM, Larruga JM, Abu-Amero KK, SHI Y, Pestano J, Cabrera VM. 2007. Mitochondrial lineage M1 traces an early human backflow to Africa. *BMC Genomics* 8, 223. DOI: 10.1186/1471-2164-8-223.
- Greenberg JH. 1987. *Language in the Americas*. Stanford, Calif.: Stanford University Press. ISBN 08-047-1315-4.
- Haber M, Mezzavilla M, Bergström A, et al., 2016. Chad Genetic Diversity Reveals an African History Marked by Multiple Holocene Eurasian Migrations. *The American Journal of Human Genetics* 99(6), 1316-1324. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.10.012.

- Harpending HC, Sherry ST, Rogers AR, Stoneking M. 1993. The Genetic Structure of Ancient Human Populations. *Current Anthropology* 34(4). DOI: 10.1086/204195.
- Hassan HY, Underhill PA, Cavallis-Sforza LL, Ibrahim ME, Hisham Y, Peter A. 2008. Y-chromosome variation among Sudanese: Restricted gene flow, concordance with language, geography, and history. *American Journal of Physical Anthropology* 137(3), 316-323. DOI: 10.1002/ajpa.20876.
- He Y, Wu J, Dressman DC, et al. 2010. Heteroplasmic mitochondrial DNA mutations in normal and tumour cells. *Nature* 464(72888), 610-614. DOI: 10.1038/nature08802.
- Heine B, Nurse D. 2000. *A linguistic geography of Africa*. New York: Cambridge University Press. ISBN 978-052-1876-117.
- Herries A. 2011. A Chronological Perspective on the Acheulian and Its Transition to the Middle Stone Age in Southern Africa: The Question of the Fauresmith. *International Journal of Evolutionary Biology* 2011 1-25. DOI: 10.4061/2011/961401.
- Hirbo JB, Ranciaro A, Tishkoff SA. 2012. *Population structure and migration in Africa: correlations between archeological, linguistic and genetic data*. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 978-1-107-01286-8.
- Hoelzmann P, Keding P, Berke H, Kröpelin S, Kruse HJ. 2001. Environmental change and archaeology: lake evolution and human occupation in the Eastern Sahara during the Holocene. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology* 169(3-4), 193-217. DOI: 10.1016/S0031-0182(01)00211-5.
- Holl FC. 2016. Here come the brides: reading the neolithic paintings from Uan Derbuaen (Tasili-n-Ajjer, Algeria). *TRABAJOS DE PREHISTORIA* 211-230. DOI: 10.3989/tp.2016.12171.
- Howell N, Elson JL, Howell C, Turnbull DM, Clarke LA, Mackey DA, Preston G, Herrnstadt C. 2007. Relative Rates of Evolution in the Coding and Control Regions of African mtDNAs. *Molecular Biology and Evolution* 24(10), 2213-2221. DOI: 10.1093/molbev/msm147.
- Harlan JR. 1998. *The living fields: our agricultural heritage*. Cambridge [England]: Cambridge University Press. ISBN 978-052-1649-926.
- Jahns S. 1995. A holocene pollen diagram from El Atrun, northern Sudan. *Vegetation History and Archaeobotany* 4(1). DOI: 10.1007/BF00198612.

- Jesse F, Keding B, Pöllath N, Bechhaus-Gerst M, Lanssen-Erz T. 2007. Cattle herding in the southern Libyan Desert. *Atlas of Cultural and Environmental Change in Arid Africa*.
- Jobling MA. 2013. *Human evolutionary genetics*. 2nd ed. New York: Garland Science. ISBN 978-0815341482.
- Jobling MA, Gill P. 2004. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. *Nature Reviews Genetics* 5(10), 739-751. DOI: 10.1038/nrg1455.
- Kitchen A, Ehret C, Assefa S, Mulligan CJ. 2009. Bayesian phylogenetic analysis of Semitic languages identifies an Early Bronze Age origin of Semitic in the Near East. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276(1668), 2703-2710. DOI: 10.1098/rspb.2009.0408.
- Kivisild T, Reidla M, Metspalu E, et al. 2004. Mitochondrial DNA Heritage: Tracking Gene Flow Across and Around the Gate of Tears. *American Journal of Human Genetics* (5), 752-770. DOI: 10.1086/425161.
- Kloss-Brandstätter A, Pacher D, Schönherr S, Weissensteiner H, Binna R, Specht G, Kroneberg F. 2011. HaploGrep: a fast and reliable algorithm for automatic classification of mitochondrial DNA haplogroups. *Human Mutation* 32(2), 25-32. DOI: 10.1002/humu.21382.
- Krinner G, Lezine AM, Braconnot P, Sepulchre P, Ramstein G, Grenier C, Gouttevin C. 2012. A reassessment of lake and wetland feedbacks on the North African Holocene climate. *Geophysical Research Letters* 39(7), n/a-n/a. DOI: 10.1029/2012GL050992.
- Kröplein S, Verschuren D, Lezine AM et al. 2008. Climate-Driven Ecosystem Succession in the Sahara: The Past 6000 Years. *Science* 320(5877), 765-768. DOI: 10.1126/science.1154913.
- Kröpelin S, Kuper R. 2006. Climate-Controlled Holocene Occupation in the Sahara: Motor of Africa's Evolution. *Science* 313(5788), 803-807. DOI: 10.1126/science.1130989.
- Kujanová M, Pereira L, Fernandes V, Pereira JB, Černý V. 2009. Near Eastern Neolithic genetic input in a small oasis of the Egyptian Western Desert. *American Journal of Physical Anthropology* 140(2), 336-346. DOI: 10.1002/ajpa.21078.
- Kulichová I, Fernandes V, Deme A, Nováčková J, Stenzl V, Novelletto A, Pereira L,

- Černý V. 2017. Internal diversification of non-Sub-Saharan haplogroups in Sahelian populations and the spread of pastoralism beyond the Sahara. *American Journal of Physical Anthropology* DOI: 10.1002/ajpa.23285.
- Kutzbach JE, Liu Z. 1997. Response of the African Monsoon to Orbital Forcing and Ocean Feedbacks in the Middle Holocene. *Science* 278(5337), 440-443. DOI: 10.1126/science.278.5337.440.
- Levy TE, Holl FC. 2002. Migrations, Ethnogenesis, and Settlement Dynamics: Israelites in Iron Age Canaan and Shuwa-Arabs in the Chad Basin. *Journal of Anthropological Archaeology* 21(1), 83-118. DOI: 10.1006/jaar.2001.0390.
- Lízal P. 2013. Genetika populací. Masarykova univerzita Brno.
- Lošťák P. 2006. Desertifikace - globální problém lidstva. Olomouc.
- Luis JR, Rowold DJ, Regueiro et al. 2004. The Levant versus the Horn of Africa: Evidence for Bidirectional Corridors of Human Migrations. *American Journal of Human Genetics* 74(3), 532-544. DOI: 10.1086/382286.
- Maca-Mayer N, Gonzales AM, Larruga JM, Flores C, Cabrera VM. 2001. Major genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions. *BMS Genetics* 13(2). DOI: 10.1186/1471-2156-2-13.
- Marjorie M. 2012. Ancient Nubia: African kingdoms on the Nile. Cairo: American University in Cairo Press. ISBN 97-741-6478-4.
- Mašek J. 2014. Populační struktura a migrace v africkém sahelu z pohledu variability kontrolního úseku mtDNA. Praha.
- McCracken RD. 1971. Lactase deficiency – example of dietary evolution. *Current Anthropology* 12(45) 479-497.
- McDougall I, Browns FH, Fleagle JG. 2005. Stratigraphic placement and age of modern humans from Kibish, Ethiopia. *Nature* 433, 733-736. DOI: 10.1038/nature03258.
- Musilová E, Fernandes V, Silva NM et al. 2011. Population history of the Red Sea-genetic exchanges between the Arabian Peninsula and East Africa signaled in the mitochondrial DNA HV1 haplogroup. *American Journal of Physical Anthropology* 145(4), 592-598. DOI: 10.1002/ajpa.21522.
- Nanne Op'T Ende. 2010. History of the Nuba. In: Nuba Mountains homepage. Dostupné z: <http://www.occasionalwitness.com/>
- Neumann K, Butler A, Kahlheber S. 2003. Food, Fuel and Fields: Progress in African Archeobotany. Köln: Heinrich-Barth-Institute.

- Nicoll K. 2004. Recent environmental change and prehistoric human activity in Egypt and Northern Sudan. *Quaternary Science Reviews* 23(5-6), 561-580. DOI: 10.1016/j.quascirev.2003.10.004.
- Nováčková J. 2016. Vplyv geografie a subsistencie na distribúciu haploskupin chromozómu Y v Európe a Afrike. Praha.
- Pagani L, Kivisild T, Tarekegn A et al. 2012. Ethiopian Genetic Diversity Reveals Linguistic Stratification and Complex Influences on the Ethiopian Gene Pool. *The American Journal of Human Genetics* 91(1), 83-96. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.05.015.
- Pakendorf B, Stoneking M. 2005. Mitochondrial DNA and Human Evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 2005, 6(1), 165-183. DOI: 10.1146/annurev.genom.6.080604.162249.
- Palanichamy MG, Zhang CL, Mitra B, Mayarchuk B, Derenko M, Chaudhuri TK, Zhank YP. 2010. Mitochondrial haplogroup N1a phylogeography, with implication to the origin of European farmers. *BMC Evolutionary Biology* 10, 304. DOI: 10.1186/1471-2148-10-304.
- Peakall R, Smouse PE. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics* 28(19), 2537-2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460.
- Pennarun E, Kivisild T, Metspalu E. 2012. Divorcing the Late Upper Palaeolithic demographic histories of mtDNA haplogroups M1 and U6 in Africa. *BMC Evolutionary Biology* 12(1), 234-. DOI: 10.1186/1471-2148-12-234.
- Petraglia MD. 2011. Archaeology: Trailblazers across Arabia. *Nature* 470(7332), 50-51. DOI: 10.1038/470050a.
- Phillipson DW. 1993. *African Archeology*. New York: Cambridge University Press. ISBN 052144103X.
- Podgorná E, Soares P, Pereira L, Černý V. 2013. The Genetic Impact of the Lake Chad Basin Population in North Africa as Documented by Mitochondrial Diversity and Internal Variation of the L3e5 Haplogroup. *Annals of Human Genetics* 77(6), 513-523. DOI: 10.1111/ahg.12040.

- Poloni ES, Naciri Y, Bucho R, Niba R, Kervaire B, Excoffier L, Langaney A, Sanche-Mazas A. 2009. Genetic Evidence for Complexity in Ethnic Differentiation and History in East Africa. *Annals of human genetics* 73(6), 562-600. DOI: 10.1111/j.1469-1809.2009.00541.x.
- Priehodová E, Austerlitz F, Čížková M, Mokhtar MG, Poloni ES, Černý V. 2017. The historical spread of Arabian Pastoralists to the eastern African Sahel evidenced by the lactase persistence -13,915*G allele and mitochondrial DNA. *American Journal of Human Biology* 29(3), e22950. DOI: 10.1002/ajhb.22950.
- Renfrew C. 2001. From molecular genetics to archaeogenetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(9), 4830-4832. DOI: 10.1073/pnas.091084198.
- Richards M, Rengo C, Cruciani F, Graptrix F, Wilson JF, Scozzari R, Macaulay V, Torroni A. 2003. Extensive Female-Mediated Gene Flow from Sub-Saharan Africa into Near Eastern Arab Populations. *American Journal of Human Genetics* 72(4). DOI: 10.1086/374384.
- Rito T, Richards MB, Fernandes V, Alshamali F, Černý V, Pereira L, Soares P, Gilbert T. 2013. The First Modern Human Dispersals across Africa. *PLoS One*. DOI: 10.1371/journal.pone.0080031.
- Rogers AR, Harpending H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9(3), 552-569.
- Rose JI, Usik VI, Marks AE et al. 2011. The Nubian Complex of Dhofar, Oman: An African Middle Stone Age Industry in Southern Arabia. *PLoS One*. DOI: 10.1371/journal.pone.0028239.
- Rosenberg MS, Anderson MC. 2011. PASSaGE: Pattern Analysis, Spatial Analysis and Geographis Exegesis. *Methods in Ecology and Evolution* 2(3), 229-232.
- Salas A, Richards M, De La Fe T, Lareau MV, Sorbrino B, Sanchez-Diz P, Macaulay V, Carraceda A. 2002. The Making of the African mtDNA Landscape. *The American Journal of Human Genetics*. 71(5), 1082-1111. DOI: 10.1086/344348.
- Shahin M. 2002. *Hydrology and water resources of Africa*. Dordrecht: Kluwer Academic. ISBN 978-030-6480-652.
- Scheinfeldt LB, Soi S, Tishkoff SA. 2010. Working toward a synthesis of archaeological, linguistic, and genetic data for inferring African population history. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(Supplement_2), 8931-8938. DOI: 10.1073/pnas.1002563107.

- Schuenemann VJ, Peltzer A, Welte B et al. 2017. Ancient Egyptian mummy genomes suggest an increase of Sub-Saharan African ancestry in post-Roman periods. *Nature Communications*. DOI: 10.1038/ncomms15694.
- Sidahmed AS, Sidahmed A. 2005. *Sudan: continuing conflict in a contested state*. New York: Routledge. ISBN 04-152-7417-6.
- Simons GF, Fenning GF. 2017. *Ethnologue: Languages of the World*. Dostupné z: www.ethnologue.com
- Simoons FJ. 1970. Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biologic and cultural interrelations. II. A culture historical hypothesis. *American Journal of Digestive Diseases*. 15(8) 659-710.
- Snustad DP, Simmons MJ. 2009. *Principles of genetics*. 5th ed. Hoboken, NJ: John Wiley. ISBN 978-0470388259.
- Soares P, Alshamali F, Pereira JB et al. 2012. The Expansion of mtDNA Haplogroup L3 within and out of Africa. *Molecular Biology and Evolution* 29(3), 915-927. DOI: 10.1093/molbev/msr245.
- Soares P, Ermini L, Thomson N, et al. 2009. Correcting for Purifying Selection: An Improved Human Mitochondrial Molecular Clock. *The American Journal of Human Genetics* 84(6), 740-759. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.05.001.
- Strouhal E. 1989. *Sedmkrát do Núbie*. Praha: Vyšehrad. ISBN 978-807-0210-055.
- Sutovsky P, Van Leyen KV, McCauley T, DAY BN, Sutovsky M. 2004. Degradation of paternal mitochondria after fertilization: implications for heteroplasmy, assisted reproductive technologies and mtDNA inheritance. *Reproductive BioMedicine Online* 8(1), 24-33. DOI: 10.1016/S1472-6483(10)60495-6.
- Sutton JEG. 1974. The Aquatic Civilization of Middle Africa. *The Journal of African History* 15(04), 527. DOI: 10.1017/S0021853700013864.
- Šerý M. 2011. *Regionální geografie Afriky*. Dostupné z: <http://distgeo.upol.cz/uploads/vyuka/skripta-sery.pdf>
- Šimková H. 2011. *Breviář forenzní genetiky*. Praha: Tribun EU.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123(3), 585-595.
- Tishkoff SA, Reed FA, Friendlaender FR et al. 2009. The Genetic Structure and History of Africans and African Americans. *Science* 324(5930), 1035-1044. DOI: 10.1126/science.1172257.

- Triska P, Soares P, Patin E, Fernandes V, Černý V, Pereira L. 2015. Extensive Admixture and Selective Pressure Across the Sahel Belt. *Genome Biology and Evolution* 7(12), 3484-3495. DOI: 10.1093/gbe/evv236.
- Valladas H, Reyss JL, Joron JL, Valladas G, Bar-Yosef O, Vandermeersch B. 1988. Thermoluminescence dating of Mousterian Troto-Cro-Magnon' remains from Israel and the origin of modern man. *Nature* 331(6157), 614-616. DOI: 10.1038/331614a0.
- Veeramah KR, Hammer MF. 2014. The impact of whole-genome sequencing on the reconstruction of human population history. *Nature Reviews Genetics* 15, 149-162. DOI: 10.1038/nrg3625.
- Wahlund S. 1928. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen vom Standpunkt der Vererbungslehre aus Betrachtet. *Hereditas* 11(1), 65-106. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1928.tb02483.x.
- Walberg MW, Clayton DA. 1981. Sequence and properties of the human KB cell and mouse L cell D-loop regions of mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Research* 9(20), 5411-5421. DOI: 10.1093/nar/9.20.5411.
- Wendorf F, Schild R. 1998. Nabta Playa and Its Role in Northeastern African Prehistory. *Journal of Anthropological Archaeology* 17(2), 97-123. DOI: 10.1006/jaar.1998.0319.
- Willoughby PR. 2007. *The evolution of modern humans in Africa: a comprehensive guide*. Lanham, MD: AltaMira Press. ISBN 978-075-9101-197.
- Winters C. 2010. The African Origin of mtDNA Haplogroup M1. *Current Research Journal of Biological Sciences* 2(6), 380-389.
- Young WC. 1996. *The Rashaayda Bedouin: Arab pastoralists of eastern Sudan*. Fort Worth, Tex.: Harcourt Brace College Publishers. ISBN 01-550-1513-3.
- Zeltner JC. 2002. *Historie des Arabes sur les rivières du lac Tchad*. Paris: Karthala.

14. Seznam příloh

Příloha 1.

Seznam vybraných populací využitých pro analýzu mtDNA diverzity

	Populace	Zkratka	Počet	Stát	Zeměpisná délka	Zeměpisná šířka	Rok sběru	Jazyková Rodina	Jazyková větev	Subsistence	Reference
1	Súdánští Arabové	ARA	46	Súdán	30.75	18.40	2011	afroasijská	semitská	zemědělci	Tato práce
2	Núbijci	NUB	54	Súdán	30.48	20.78	2011	nilosaharská	východosúdánská	zemědělci	Tato práce
3	Rašajdové	RAS	52	Súdán	36.30	15.34	2012	afroasijská	semitská	pastevci	Tato práce
4	Bedžové	BEJ	48	Súdán	36.34	15.55	2012	afroasijská	kušitská	pastevci	Tato práce
5	Baggarové Čad	ABA	51	Čad	17.95	13.17	2014	afroasijská	semitská	pastevci	Tato práce
6	Mabové	MAB	42	Čad	20.83	13.86	2014	nilosaharská	mabská	zemědělci	Tato práce
7	Dangaleati	DNG	50	Čad	18.51	Dec-15	2014	afroasijská	čadská	zemědělci	Tato práce
8	Baggarové Súdán	ABG	53	Súdán	28.34	Nov-53	2015	afroasijská	semitská	pastevci	Tato práce
9	Núbové Koalib	KAW	38	Súdán	30.47	Nov-86	2015	nigerokonžská	kordofánská	zemědělci	Tato práce
10	Daasanaši	DAS	36	Etiopie/Jižní Súdán	35.58	4.49	-	afroasijská	kušitská	pastevci/zemědělci	Poloni et al., (2009)
11	Ňangatomové	NYA	72	Etiopie/Jižní Súdán	35.50	5.20	-	nilosaharská	nilotická	pastevci/zemědělci	Poloni et al., (2009)
12	Somálci	SOM	148	Somálsko	47.77	6.08	2008	afroasijská	kušitská	pastevci/zemědělci	Soares et al., (2012)

Příloha 2.

Izolační protokol Oragene DNA kitu – převzato a upraveno z Laboratory protocol for manual purification of DNA from 0,5 ml of Oragene DNA/saliva:

- 1) Vzorek slin uložený ve zkumavce s Oragene DNA roztokem pečlivě promíchejte a protřepte.
- 2) Inkubujte ho při 50°C ve vzdušném inkubátoru 2 hodiny (ve vodním inkubátoru 1 hodinu).
- 3) Přeneste 500 µl směsi slin a Oragene DNA do 1,5 ml mikrozkuhavky.
- 4) Přidejte 20 µl čistícího média OragenePurifier (OG-L2P) do mikrozkuhavky a vortexujte několik sekund.
- 5) Inkubujte na ledu po dobu 10 minut.
- 6) Zinkubovanou mikrozkuhavku centrifugujte při pokojové teplotě 5 minut při 13 000 otáčkách za minutu.
- 7) Odejměte supernatant do nové mikrozkuhavky.
- 8) Přidejte 500 µl 95–100% ethanolu pokojové teploty a promíchejte.
- 9) Nechte vzorek stát asi 10 minut při pokojové teplotě.
- 10) Centrifugujte 2 minuty při 13 000 otáčkách za minutu.
- 11) Opatrně odejměte supernatant.
- 12) Přidejte 250 µl 70% etanolu, nechte vzorek 1 minutu stát, odejměte ethanol.
- 13) Přidejte 100 µl vody k rozpuštění pelety, alespoň 5 sekund vortexujte.
- 14) Uložte do mrazáku a pro dlouhodobé skladování udržte teplotu -20°C.

Příloha 3.

Tabulka s hodnotami F_{ST} vzdáleností. Znak + značí statisticky významné hodnoty ($p < 0,05$), znak – hodnoty statistiky nevýznamné ($p > 0,05$).

	NUB	ABA	ABG	ARA	BEJ	DNG	KAW	MAB	RAS	DAS	NYA	SOM
NUB	***	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ABA	0,02809	***	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+
ABG	0,02540	0	***	+	+	–	–	+	+	+	+	+
ARA	0	0,01855	0,01971	***	+	+	+	+	+	+	+	+
BEJ	0,10513	0,10483	0,10405	0,09537	***	+	+	+	+	+	+	+
DNG	0,06320	0,00507	0,00570	0,05347	0,13260	***	+	–	+	+	+	+
KAW	0,04428	0,02085	0,00673	0,03271	0,11445	0,02283	***	+	+	+	+	+
MAB	0,07617	0,02203	0,01990	0,05781	0,17057	0,00987	0,03702	***	+	+	+	+
RAS	0,08120	0,16486	0,16920	0,10083	0,25480	0,20669	0,19729	0,23177	***	+	+	+
DAS	0,05896	0,05528	0,03405	0,06028	0,13412	0,05488	0,04556	0,07863	0,19725	***	–	+
NYA	0,03706	0,03410	0,01433	0,04516	0,11584	0,03915	0,03584	0,06502	0,16602	0,01117	***	+
SOM	0,05536	0,08123	0,06984	0,06704	0,15664	0,10398	0,09298	0,13555	0,13526	0,11068	0,07600	***

Příloha 4.

Zastoupení haploskupin u vybraných populací východoafrického sahelu

Haploskupiny	MAB	DNG	ABA	NUB	ARA	ABG	KAW	RAS	BEJ	NYA	DAS	SOM
L0a												1
L0a1'4	1	2				1						
L0a1+16293						2				1	1	2
L0a1+200				1								
L0a1a										1		
L0a1a+200	5		4	6	4	4			5			
L0a1b		2										
L0a1b1										1		1
L0a1a2	2											
L0a1b2			2			1						
L0a1c1							2			3		
L0a1d			1				1		2			
L0a'b'g											1	
L0a2						1				3	1	1
L0a2b												1
L0a2c												1
L0a2a2										1	1	1
L0b										3	1	
L0d3b												1
L0f										1		1
L0f1											3	
L0f2a1									1		1	2
L0f2b				1	1				2			
L1b			1									2
L1b1a+189	1											
L1b1a1		1										
L1b1a2		1										
L1b1a2a				1	3	1						1
L1b1a7a				1								
L1b1a1'8			1									
L1b2		1				1	3					
L1c												1
L1c1	1											
L1c1d	1											
L1c2a1a												1
L1c3a	5	3	1									
L2a1		1								1		1
L2a1+143	6	8	3	2	3	3	6		1		1	

L2a1+143+16189	1		2									8
L2a1+16189												2
L2a1a2												1
L2a1a3	2					1						
L2a1a3c												1
L2a1b+143	5	3		1		5			1			3
L2a1b1a												2
L2a1c+16129										1		1
L2a1c2										1		
L2a1d1		1	7	1	1	2			2			2
L2a1f3		2										
L2a2'3						1						
L2a2'3'4					1					1		
L2a2b				1	1	1						
L2a2b1a												5
L2a5										2		
L2b		1						1		1		
L2b1a		1	1									
L2b2a										2		
L2c1	2					1						
L2e	1	1						3		1		
L2'3'4'5'6										1		
L3a1a												3
L3b		1										
L3b1a+@16124												2
L3b1a3		1										
L3b2											1	1
L3b2a	3											
L3d		3	2									
L3d1a1'2			2			1				3		1
L3d1a1a												5
L3d1a1b												1
L3d2b			1					1				
L3d4	1	1	3									
L3d5						1				4		
L3e1		1		1								
L3e1a1										3		1
L3e1d												
L3e2	1					1						
L3e2b						1						
L3e4a				1								
L3e3												3

L3e5	1	2	3			4						
L3e'i'k'x											1	
L3f				1								1
L3f1b+16292	3	7	5	1	2	4	1					
L3f1b4e			1									
L3f2			1	2	1		1		30			
L3f2a1a												1
L3f3						2						
L3h1										2	1	
L3h1a1					1	1	2					
L3h1a2a							2			1	3	
L3h1b											1	
L3h1b1a		2	1									
L3h2						1						5
L3i1										5	1	
L3i1a				1					1			
L3i2									1			5
L3x										4		
L3x1a1											1	
L3x1b												2
L3x2			1									1
L4a1a												1
L4a2												1
L4b1						1				1		
L4b2		4		1		1				6	5	1
L4b2a2											2	1
L4b2a2b								1				
L4b2a2c										4	1	
L5						1						
L5a										4	3	
L5a1						2						
L5b1				1	1	2	4			1	1	1
L5b1a			1							4		
L5b2											1	
L6												1
L6a									1			2
L6b								1				
B4a1a1												2
D4j3												1
D6a												1
G2b1a2												1
H1'5								4				

H1ap1								1				
H1ml								1				
H1e1a1			1									
H2a2a1c												1
H2a2a1g												1
H4c1										1		
H5					2							
H57			3	2	2			3				
H6b				2				1				
HV1b1				1								8
I												2
I2'3												1
J1b								4				2
J1b8					1			5				
J1c+16261								1				
J1d1					1							
J1d1a										1		
J2a2				3								
J2a2b					1							
K				1								
K1a						1						
K1a+195					1							
M1							3	3				1
M1a1			1	1	5	2	4	2	1		2	
M1a1+16093												3
M1a1i												6
M1a1h				1	1							
M1a2b												1
M1a5												1
M7b1a1d												1
N												2
N1a1'2				1		1						
N1a1a					1	1						11
N1a3								1				
N1a3a								6				
N1b2												5
N2								1			1	
N2a											1	
N9b1b								1				1
O										1		2
R0a				2								2
R0a1a					1							1

R0a2c								12				
S+152										1		
T1a				1	4							
T1a7				1								
T2c1												1
T2e+152												1
U2e1b				1								
U3					1							
U3b2				1								
U6a+16189					1							
W+194									1			
X												1