

LES APPORTS GENETIQUES DE L'EMIGRATION ANDALOUSE AU MAGHREB MOUSSOUNI Abdelletif

RESUME

Située à l'extrémité septentrionale du continent africain, l'Afrique du Nord, constitue un espace géographique distinct, en connexion avec le sud du continent européen au travers de la mer Méditerranée, avec le continent asiatique via le Proche Orient, où se trouve l'origine des humains modernes qui auraient peuplé le Maghreb.

Les données issues des recherches archéologiques et génétiques soulignent, dans cette zone géographique Méditerranéenne tant une complexité des mouvements humains, qu'un plus grand degré d'hétérogénéité génétique. Notre recherche se propose, à partir d'un fait historiquement décisif survenus dans cette région, qui est l'expulsion des populations andalouses vers le Maghreb, d'étudier les apports génétiques de cet événement sur le pool génétique des populations maghrébines en particulier et de mieux connaître l'origine biologique des peuplements humains de l'Afrique du nord en général.

Mots clés :

Diversité humaine, Marqueurs génétiques, ADN, al- Andalus, Péninsule Ibérique, Maghreb, Afrique du Nord.

I. RAPPEL HISTORIQUE DU PEUPLEMENT DE L'AFRIQUE DU NORD

Depuis la nuit des temps, l'homme a eu le réflexe de la très longue histoire du monde et de l'humanité. Bien plus, il s'est montré avec une énorme diversité de telle sorte qu'il n'y a guère d'endroits de la planète où il n'ait laissé des traces.

Divers supports de recherche à l'instar des données archéologiques, linguistiques et des récits des événements historiques ont documenté qu'il a toujours existé des relations entre les différentes civilisations (des antagonismes, des compétitions, ou des complémentarités), des migrations ou diffusions de cultures successives.

Même si les vestiges archéologiques et paléanthropologiques témoignent l'occupation humaine ancienne du Nord de Afrique à des périodes différentes, le peuplement et l'évolution des groupes humains vivants dans cette zone n'est pas encore claire. Ceci est principalement dû à la succession d'un grand nombre d'événements préhistoriques et historiques qui se sont produits, particulièrement à travers deux voies de passages migratoires intercontinentaux ; le canal de Suez Isthme à l'Est et le détroit de Gibraltar à l'ouest reliant, respectivement cette région du Proche-Orient et de l'Europe (Coudray et al, 2009).

Les premiers représentants connus du peuplement d'Afrique septentrionale remontent au pléistocène moyen comme en atteste la présence des plus anciens vestiges qui date de 700.000 ans avant notre ère attribués à l'Homo erectus(*Atlanthropusmaurétanicus*)du gisement Acheuléen deTernifine en Algérie (Arambourg, 1963 ; Dutour, 1995;kefi et al.,2005).

Les différents changements morphologiques et technologiques décelés sur les spécimensdu Paléolithique Moyen marquent une transition de l'Homo erectus vers l'Homo sapiens,avec l'apparition également d'une industrie originale : l'atérienne, spécifique de l'Afrique du Nord-Ouest (Maroc, Algérie et Tunisie) (Camps, 1974, Debenath et al., 1986, kefi et al.,2005).

Deux grandes théories ont été proposées pour expliquer l'origine de (l'homme anatomiquement modernes): celle de la continuité régionale ou «modèle de candélabre » et celle du remplacement rapide soutenue par les données génétique(Templeton, 2002 ; Stevanovitch et al., 2003), appelée également Out of Africa (Cavalli-Sforza et al., 1994 ; Quintana-Murci, 2000).

Après un long hiatus durant le paléolithique supérieur, une nouvelle industrie de lamelle a succédé l'atérienne, est attribuée aux hommes de Mechta-Afalou (23000 à 10000 avant notre ère), nommée Ibéromaurusien (Wendorf et al., 1994 ; Bekada et al., 2013).

Deux sites majeurs sont associés avec cette industrie (Afalou Bou Rhummel, en Algérie et Tafouralt, dans le Maroc oriental (Aouraghe, 2006 ; Chadli, 2009).

Outre l'Ibéromaurusien, une autre civilisation s'est mise en place dans l'Afrique du Nord, marquée par l'installation des premiers ancêtres des populations berbères actuelles: les Capsiens (10 000 à 4 700 ans avant notre ère) (Coudray et al, 2009).

Ces derniers, étaient localisés sur un territoire beaucoup plus limité que celui de l'Ibéromaurusien, d'abord dans le sud Tunisien et le Constantinois Algérien, envahit vers l'ouest par les plaines centrales, mais n'a jamais franchi l'Atlas Tellien. Selon Chamla (1975), à cette époque, le côté Ouest était occupé par des Ibéromaurisiens, malgré le faible niveau de leur culture comparée à celle capsienne, il semble probable que des échanges génétiques auraient lieu (Larrouy, 2004).

Le débat sur l'origine de ces groupes humains fait jusqu'à nos jours l'objet d'hypothèses contradictoires. La plus privilégiée est celle, d'une origine proche-orientale, en raison de l'existence d'une civilisation protoméditerranéenne natoufienne, chronologiquement antérieure au Capsien (Hachid, 2000 ; Dugoujon et al., 2005 ; Ferembach D, 2001).

Postérieurement, ces hommes ont eu une histoire riche en invasions, conquêtes et tentatives d'assimilation par, tour à tour, des phéniciens, des romains, des vandales, des byzantins(Coudray,2006).

Les dernières occupations de l'Afrique du Nord, au temps des colonialismes, ont été celles des Européens: les Portugais et les Espagnoles au Maroc; les Français au Maroc, Algérie et Tunisie; les Italiens en Libye et les Turques Ottoman, particulièrement en Egypte (Chadli, 2009).

II. Brève Histoire d'al-Andalus

Dans le même contexte, l'un des faits les plus considérables de l'histoire du Maghreb, cette immense zone géographique dont font partie l'Algérie, la Libye, le Maroc, la Mauritanie et la Tunisie, est la conquête arabe amorcée au VIIe siècle. (Coudray et al., 2006).

L'épopée des musulmans va être spectaculaire, l'islam arrive très vite, et érige la première structuresacrée, la mosquée-université de Kairouan (Tunisie), qui convertit le site en ville sainte, au même titre queFès (Maroc) et Tombouctou (Mali).

Cet islam, qui vientd'Arabie, a conduit à de profonds changements culturels, linguistiques, religieux et génétiques sur les autochtones nord-africains (Coudray et al., 2006) et a égalementdéterminé durablement le destin des Berbères et fait de sorte que tous les habitants soient dénommésarabes et, par le fait même de l'islamisation,qu'ils soient tous musulmans(Carrillo, 2004).

Un autre moment clef de cette fulgurante ascension est la conquête d'al Andalus, initiée à partir de 711 après J.-C, puisque la péninsule ibérique islamisée va devenir l'un des pôles majeurs de la production de l'une des plus brillantes civilisations et de sa diffusion, notamment vers l'Europe, plongée dans l'obscurantisme du moyen-âge.

Sur ordre de Moussa Ibn Nucaïr, le gouverneur du Maghreb, son lieutenant berbère Tariq Ibn Ziyad sous slogan liberté de culte et justice franchit le détroit de Gibraltar, qui portera son nom, pour débarquer sur la péninsule ibérique.

La contribution démographique initiale des populations nord africaines dans cette nouvelle aire géographique n'est pas connue avec précision; il paraît être de l'ordre 10 000 individus dans la population ibérique totale de quelques millions (McEvedy et Jones, 1978; Chadli, 2009).

A leur arrivée dans la péninsule ibérique, les musulmans y trouvent deux cultures bien différenciées, l'une chrétienne, l'autre juive, et une lutte entre elles. Les chrétiens exigeaient que les juifs embrassent leur religion ou sinon qu'ils soient expulsés du pays. Quand les Arabes sont arrivés, ils ont trouvé ce climat de dissensions etont permis aux chrétiens et aux juifs de conserver leur religion ; beaucoup d'entre eux cependant se sont convertis à l'islam, et c'est ainsi que s'est formée la riche culture d'al-Andalus, au sein de laquelle trois religions différentes vivaient en bonne harmonie et croyaient en un seul Dieu, dans un climat de tolérance où les sciences et les arts étaient florissants et où ils échangeaient leurs savoirs (Izidbih, 2001).

Quand le jeune prince omeyyade Abderrahman a réussi à s'enfuir des abbasides, il a gagné al-Andalus et y installe son nouveau pouvoir.

Cet Andalus a connu son apogée au Xe siècle, lorsque les rênes du pays étaient tenues par Al-Mansour. Cordoue fait alors cette époque-là figure de capitale intellectuelle de l'Europe, centre culturel à la pointe de la civilisation andalouse dans tous les domaines scientifiques : mathématiques, astronomie, géographie, médecine, littérature, architecture,...etc.

Juste après, suite à l'amour du pouvoir ainsi qu'à la mort d'Al-Mansour, les querelles de succession s'achèvent de ruiner le califat et al-Andalus se voit divisé en une constellation ethniques tribales, de petites principautés indépendantes et souvent rivales, dirigées par des chefs de clans (les reyes de taifas) : Grenade, Malaga et surtout Séville, ...etc (Trock., 2009).

Egalement, c'est à cause des luttes entre ces taifas, que ces petits États se trouvent bien vite menacés par les premières tentatives de reconquête chrétienne. La prise de Tolède en 1085 constitue ainsi « le moment fondamental dans l'histoire de la péninsule ibérique, c'était pour les musulmans, les débuts de la perte du contrôle d'al-Andalus ».

Toutefois, suite à la demande de l'aide des musulmans d'al-Andalus, deux autres principales pénétrations Berbères ont marqué l'histoire de l'Andalousie, c'était les Almoravides (1056-1147) et les Almohades (1121-1269) (Kasule 1998; Chadli, 2009).

Après une difficile lutte, l'effondrement était inévitable lorsque les villes musulmanes commencent à tomber aux mains des chrétiens les unes après les autres jusqu'à l'achèvement de la reconquête de la Péninsule ibérique par la prise du royaume de Grenade en 1492 et le départ des andalous.

Les musulmans qui ont choisi de rester en Andalousie sont à ce moment bien tolérés, qu'on appelle les mudéjars disposaient de leurs propres quartiers au sein des villes et leur propre juridiction, continuent à pratiquer leur Religion jusqu'au XVe siècle (Trock., 2009).

Au fur et à mesure, avec le traitement qu'on leur inflige en Andalousie pendant plus d'un siècle toutes les villes de l'Afrique du Nord, ont reçu leurs précieux immigrants Andalous, depuis les cités du Maroc jusqu'à Tunis (Braudel, 1947).

Maistout change avec le mouvement de rébellion des mudéjars et surtout la pression exercée par l'église religieuse, lorsque les rois avaient une seconde excuse de rompre officiellement le pacte, ainsi les chrétiens avaient une autre attitude hostile envers les musulmans ou du moins d'indulgence : les

morisques(Moriscos), nouvelle appellation quelque peu péjorative pour désigner les mudéjars, sont sommés de choisir entre la conversion au christianisme ou sont contraints de s'exiler.

A la suite de ce décret d'expulsion des morisques, Une partie se convertit. aux christianisme, l'autre se réfugie ailleurs en Europe, le reste entre 1409 et 1614 au total 272 140 morisques (selon Lapeire), par différents ports d'al-Andalusont été définitivement expulsés de la péninsule ibériquepour se rendre en masse vers les villes du maghreb, dont : Fès, Tanger, Oran , Tlemcen , Nedroma , Mostaganem , Cherchell , Blida , Alger , Koléa , tunisetc(Izidbih, 2001).

Dans le malheur et la détresse de l'exil, ces grandes familles qui sont débarquées au Maghreb, sont forcées à vivre dans une terre qui leur est tout à fait inconnue, et qui tous gardaient l'espoir de retrouver un jour la patrie de leurs ancêtres,

Leur apport était très important dans la société, qui va changer pour beaucoup le décor de la scène sociale de l'époque dans le Maghreb. L'influence de ces derniers ne se limite d'ailleurs pas au seul domaine intellectuel mais de nombreuses autres traces de cette influence ont subsisté dans les domaines les plus variés : culture, gastronomie, musique,architecture de nos plus beaux monuments arabo-mauresques, et dans certaines coutumes et belles manières de multiples autres manifestations de la vie quotidienne témoignent ainsi de l'impact profond des andalous sur le Maghreb. (Rafaa, 1998).

De plus, leur beauté physique, acquise au fil de siècles de métissage (gènes) avec l'élément européen, slave et scandinave, leur parler particulier, et le sentiment d'avoir appartenu à une grande civilisation, les rapprochent les uns des autres. Ils habitent les mêmes villes, dans un premier temps ne se marient qu'entre eux et se tiennent relativement éloignés de leurs autres coreligionnaires du cru, jusqu'à l'occupation française qui bouleverse les équilibres sociaux, et abatles barrières sociales et ethniques entre les populations autochtones. Au Maroc et en Tunisie, leur sort a été plus heureux. Ils sont parvenus à se faire une place au reconnue. En Algérie, les deux brutalités, coloniale et celle du régime de parvenus qui confisque l'indépendance du pays, les confinent dans les recoins de l'oubli (Benchenouf, 2009).

III. CONTRIBUTION DE L'ANTHROPOLOGIE MOLECULAIRE A L'ETUDE DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET DU PASSE DE L'HUMANITE

III.1. PRECEPTES FONDAMENTAUX DE LA GENETIQUE

Depuis la fin du XIX^e siècle, les mécanismes de l'hérédité sont de mieux en mieux compris : chaque individu porte en chacune de ses cellules un patrimoine génétique qui détermine un grand nombre de ses caractéristiques. Ce patrimoine, qui est appelé le génome, est composé d'une ou plusieurs entités appelées les chromosomes.

Le nombre de chromosomes dépend de l'espèce ; les bactéries n'ont par exemple qu'un seul chromosome tandis que l'espèce humaine en compte 46 : 22 paires de chromosomes homologues et 2 chromosomes sexuels.

On désigne par locus une position du génome et par allèle une version donnée du texte génétique. Un haplotype correspond alors à la combinaison de plusieurs allèles situés sur des locus différents d'un même chromosome (diversité génétique).

Dans le même contexte, les modalités du peuplement ont constamment alimenté les débats (elles les alimentent toujours d'ailleurs, et l'émergence de la biologie moléculaire a permis de relancer cette problématique. Parmi les outils disponibles, l'ADN (acide désoxy-ribonucléotide) qui a permis une avancée décisive dans la connaissance de nos premiers ancêtres ainsi que des premières migrations et du peuplement de la terre.

Dès 1928, une succession de recherches réalisées par l'anglais Fred Griffith (1877 - 1941) suivie en 1944 de son compatriote, Oswald Avery (1877 - 1955), de l'américain Alfred Hershey (1908 - 1997) puis de l'autrichien Erwin Chargaff (1905 - 1992) en 1950, montre que l'Acide Désoxyribonucléique (ADN) est le constituant essentiel des chromosomes. Situé dans le noyau des cellules, l'ADN compose nos gènes (Gourdine, 2006). Cette molécule d'ADN est la plus grosse molécule de l'organisme, sa masse moléculaire variant de 3,3. 10⁹ chez l'homme à 10⁵ chez les bactéries.

C'est une double hélice faite de deux monomères enroulés les uns sur les autres (fig1. a & b). Cette molécule est composée d'une succession répétitive de nucléotides composés eux-mêmes, dans l'ordre, d'une base purique ou pyrimidique, d'un sucre, le Désoxyribose, et d'un acide phosphorique. La séquence sucre-acide phosphorique est la séquence invariable de l'ADN. Les nucléotides ne se distinguent les uns des autres que par leur base. Il y en a, dans

l'ADN, quatre types : l'Adénine, A, et la Guanine, G, qui sont des purines, la Cytosine, C, et la Thymine, T, qui sont des pyrimidines. La Thymine est la seule base spécifique de l'ADN, elle ne se retrouve pas dans l'Acide RiboNucléique, ARN, où elle est remplacée par l'Uridine, U. Ces bases ont une structure particulière qui confère à la molécule ses propriétés :

– (1) Elles ont les unes pour les autres des affinités spécifiques et s'apparient d'une manière invariable T-A et C-G, c'est-à-dire que les bases puriques s'apparient aux bases pyrimidiques, mais ne peuvent contracter de liaisons entre elles, et vis versa. Cette propriété donne à la molécule sa stabilité et permet l'établissement de liaisons d'une hélice (ou monomère) à l'autre. Ce sont des liaisons hydrogène, mais leur nombre varie selon le couple de bases concerné (3 liaisons pour C-G; 2 pour T-A). Ces liaisons sont très spécifiques et puisque G ne peut se lier qu'à C et T qu'à A, les deux brins d'ADN ont une structure en image, et sont dits complémentaires, ce qui veut dire que la structure de l'un permet de prédire celle de l'autre.

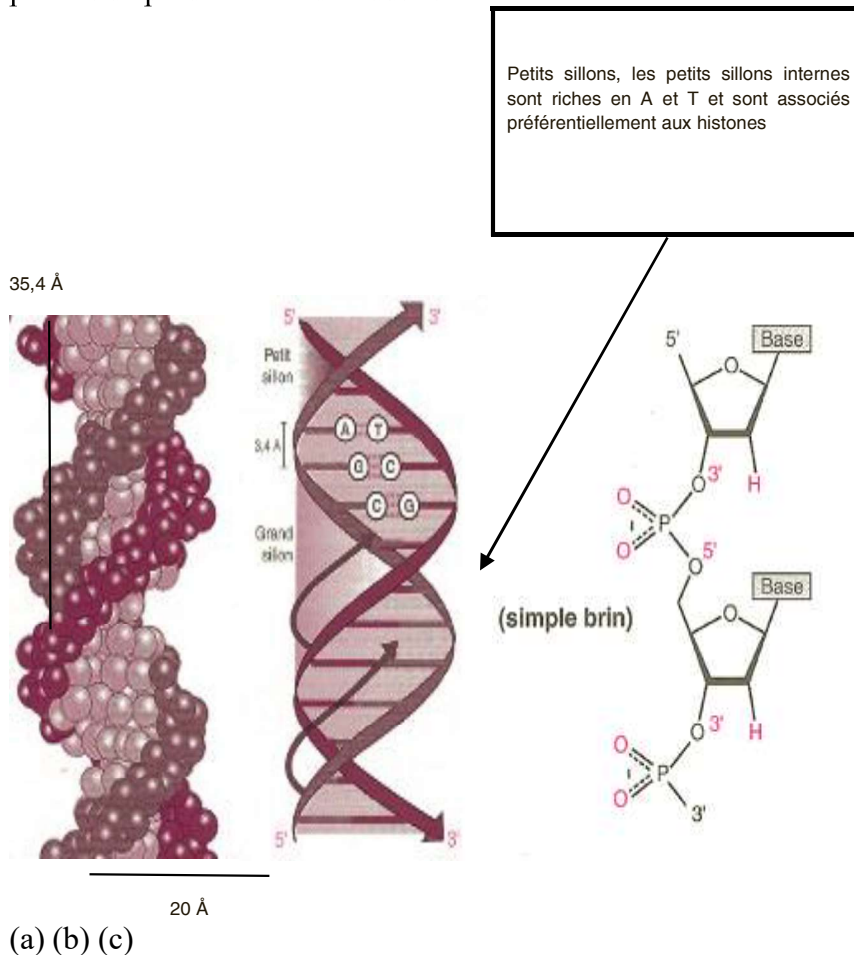


Figure 1 : Molécule d'ADN (Swynghedauw et Silvestre, 2008).

– (2) Le nucléotide représente l'unité de longueur utilisée pour mesurer un fragment d'ADN. Un nucléotide contenant par définition une base, on dira qu'un fragment monobrin d'ADN de 100 nucléotides a une longueur de 100 bases, ou 1 kb, et l'on dira que le fragment apparié double brin est composé de 100 paires de bases, pb.

– (3) L'enchaînement désoxyribose-acide phosphorique-base est asymétrique. Sur un plan strictement chimique, la molécule peut donc être orientée. Il faut dès lors qualifier cette orientation. On utilise pour cela la structure de l'anneau ribose qui possède deux radicaux hydroxyles libres, l'un en position 3', l'autre en 5' (fig. 1c)(Swynghedauw et Silvestre, 2008).

Il est aujourd'hui admis que l'ADN est détenteur de l'information génétique impliquée dans les mécanismes héréditaires, mais aussi le support de ses variations à l'origine de la biodiversité.

Cette information génétique appelée aussi gène, passe par l'acide ribonucléique (ARN) et est traduite en protéines, constituants fonctionnels et structurels de la cellule, des tissus, de l'organe et ainsi de l'organisme entier (Gourdine, 2006).

Depuis que l'on connaît la séquence complète du génome humain (HumanGenome Project5) on estime entre environ 20,000 et 25,000 le nombre de gènes présents chez l'Homme, ce qui représente à peu près 5% du génome. Les 95% restants contiennent des éléments de régulation de l'expression génique ainsi qu'une grande quantité d'ADN dont la fonction reste à déterminer

III.2. ANTHROPOLOGIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE ET VARIABILITE HUMAINE

Depuis plusieurs siècles, l'étude de la lignée humaine passionne. En particulier, l'origine de l'Homme moderne, mais aussi sa dispersion et son adaptation à des environnements extrêmement variés dans le monde entier intriguent et font l'objet de vifs débats.

Trop souvent, la variabilité des populations humaines nous est accessible Par la seule voie de l'anthropologie classique, Une science jeune, comparative des cultures passées et contemporaines, mettant l'accent sur les modes de vie et les coutumes de tous les peuples du monde ou encore plus précisément, sur l'histoire naturelle de l'Homme depuis ses origines jusqu'à l'heure actuelle.

Les avancées de recherches biologiques, ont permis d'élargir le champ de cette discipline et la naissance d'une science nouvelle, l'anthropologie physique, qui

sur le plan méthodologique est fort similaire à celui de la paléontologie. Durant ces premiers jours et pendant longtemps, son principal objectif consistait, à accomplir l'inventaire des phénotypes humains classés, sur la base d'attributs plus ou moins nombreux, en races ou en types. C'était une époque d'exploration et de simple enregistrement des faits attestant de la variabilité humaine. On mesurait des nez, des oreilles, des têtes, des bras, des torsos, des tailles, on notait la couleur des yeux, des cheveux, la pilosité corporelle (Clermont, 1979).

Il était donc légitime d'espérer élaborer, par l'étude de la variation de ces unités d'observation anthropométriques ou anthroposcopiques, des classifications et des reconstitutions, plus ou moins phylétiques, qui auraient permis de juger de l'apparement des populations et de l'intensité de leurs divergences.

Aujourd'hui, au-delà de ces mesures élémentaires de l'identification biologique, l'introduction dans ce domaine des techniques de la biologie moléculaire (génétique, immunologique) représente un second niveau d'analyse.

Ces nouvelles possibilités d'analyse ne changent pas la philosophie de la recherche anthropologique, elles apportent des outils lui permettant d'étudier d'une part, l'ensemble des processus macro et micro évolutifs, d'autre part, les différents facteurs (métissage, dérive génétique, mutation, sélection) à l'origine de la variabilité humaine observable (Desideri et Besse., 2012).

Néanmoins, si des schémas généraux de peuplement peuvent être proposés, la dynamique précisée de ces processus est difficilement abordable à partir des données contemporaines seules, étant donné que des événements démographiques récents (mouvements de populations, mélanges ...) ont pu modifier les pools géniques ancestraux (Mendisco, 2011). Ainsi, étudier les populations anciennes conjointement apparaît donc comme indispensable pour retracer de manière fiable la dispersion de l'Homme moderne dans le temps et dans l'espace et éviter les biais qui peuvent être induits (Mendisco, 2011).

III.3. OUTILS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

Les techniques de biologie moléculaire reposent sur l'emploi de quatre outils de base :

- Des enzymes telles que:
 - Polymérases capables de copier une molécule d'acide nucléique à partir d'une matrice monobrin (ADN ou ARN) ;

- Enzymes de restriction qui reconnaissent spécifiquement des séquences du génome et clivent ce génome. La séquence et la taille des sites de reconnaissance (de quelques bases à plusieurs dizaines) définissent le nombre de sites potentiels de coupure pour un germe donné : enzymes à sites fréquents de coupure et enzymes à sites peu fréquents. La séquence reconnue est spécifique d'une enzyme. De ce fait, toute modification d'une base d'un site de reconnaissance se traduit par la perte du site de reconnaissance et de coupure de cette enzyme.

- L'hybridation qui permet l'appariement de molécules d'acides nucléiques monobrin. Cette hybridation repose sur la complémentarité des brins qui peut être totale ou partielle. Dans ce dernier cas, les conditions d'hybridation (stringence, température) sont essentielles pour obtenir l'hybridation.

- L'électrophorèse en gel : elle permet la séparation des molécules d'acides nucléiques en fonction de leur poids moléculaire (et donc de leur taille), la charge de ces molécules étant uniforme.

- Le séquençage des acides nucléiques. Ces techniques sont parfois employées seules ou, le plus souvent, combinées entre elles pour étudier tout ou partie du génome des germes à comparer. Selon qu'est mise en jeu une reconnaissance spécifique de séquence cible (par hybridation par exemple) ou non, on peut regrouper ces techniques en deux catégories, celles qui permettent une étude globale du génome, et celles qui s'intéressent à l'étude de séquences spécifiques (Boulouis et al., 2001).

III.4. MARQUEURS MOLECULAIRES

Pendant de nombreuses années, les généticiens ont étudié les variations génétiques entre les individus et les populations dans le but de comprendre ces différences et les éventuelles interactions historiques des peuples (Cavalli-Sforza, 1994 ; Quintana-Murci, et al, 1999).

La redécouverte des lois de Mendel par Hugo De Vries (1848-1935) et les généticiens du 20ème siècle, marque un tournant dans la compréhension des mécanismes de l'évolution de l'espèce humaine. Avec Thomas Morgan (1866-1945) ils établissent que la variabilité au sein des populations résulte de remaniements chromosomiques de mutations.

Avec la mise au point de la PCR en 1987 par l'américain Kary Mullis de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (Mullis et al. 1987) ainsi que l'émergence d'un certain nombre de techniques différentes et depuis

l'introduction dans les années 1980s de la notion de marqueur génétique, la majorité des études de diversité et de fonctionnement des populations est faite aujourd'hui à partir de données moléculaires (Lacan, 2011).

Comme toutes les autres espèces, l'homme doit sa variabilité à l'action conjuguée des mutations, qui créent de nouveaux gènes de temps en temps, et à la sexualité qui à chaque génération renouvelle les associations de gènes présentent chez les individus

C'est au cours de la duplication de l'ADN qui est fidèle mais pas parfaite, que peuvent se produire des erreurs (mutations), en particulier le remplacement d'une base par une autre), indels (transition ou transversion), fusion des gènes, expansion de répétitions tri nucléotides. Les modifications peuvent être dues à des échanges de séquences nucléotidiques avec un autre ADN, ce qui est défini comme étant une recombinaison génétique, décrit encore comme les brassages intra et interchromosomique.

Chez les organismes diploïdes (organismes à deux jeux de chromosomes, l'un d'origine maternelle, l'autre de provenance paternelle), un caractère n'est pas en général commandé par un gène unique, mais par couple de gènes homologues, dits allèles. Du fait des mutations l'allèle peut se présenter sous des multiples formes. Le caractère alors est dit polymorphique. Quand deux allèles sont identiques, on parle d'homozygotie ; dans le cas contraire, on parle d'hétérozygotie. Nous sommes en général hétérozygotes pour la majorité de nos gènes. D'une manière générale, le polymorphisme génétique se traduit par l'existence, à un locus donné, de plusieurs types de gènes, ou de séquences présents à plus 1% dans la population. Chacune de ces formes constituant un allèle (Crubézy et al.,2002).

D'une façon très globale, la définition des marqueurs moléculaires utilisés en génétique des populations se base sur le polymorphisme de l'ADN ("N'importe quelle séquence polymorphe d'ADN peut servir de marqueur génétique.") D. Botstein et al. (1980 ; Levy-hartmann, 2011), en recherchant des variations spécifiquement repérables dans les séquences nucléotidiques. En fonction de leur localisation dans le génome, du nombre de nucléotides touchés et de l'environnement des individus concernés, les mutations vont avoir des effets variables, exprimés ou silencieux, sur les caractéristiques individuelles.

Les variations génotypiques, qui ne sont pas forcément exprimées au niveau phénotypique, servent à définir des marqueurs moléculaires permettant des caractérisations à différents niveaux (caractérisation individuelle par empreinte

génétique (fingerprint), ou populationnelle ou encore cartographie de gènes ou liens de parentés). Pour les marqueurs moléculaires, chacun possède des caractéristiques propres. Selon Bretting&Widrlechner,1995 (Levy-hartmann, 2011), le marqueur génétique idéal doit rassembler un maximum des caractéristiques suivantes :

- ces marqueurs doivent être polymorphes, afin de pouvoir différencier les individus ;
- être relativement neutres, tant au niveau de la valeur du caractère étudié que de la valeur sélective ;
- être des caractères mendéliens à hérédité simple ;
- avoir plusieurs allèles ;
- être codominants, afin de pouvoir distinguer les hétérozygotes des homozygotes ;
- ne pas avoir d'effet épistatique⁷ ou pléiotropique⁸ ;
- être dispersés le long du génome ;
- ne pas être liés à un autre marqueur ;
- être insensibles au milieu ;
- être stables à tous les stades du développement ;
- ne pas avoir d'effet sur la croissance ou la reproduction sexuée ;
- être facilement observables, sans ambiguïté possible.

L'étude de différents marqueurs moléculaires d'intérêt, localisés sur différentes parties du génome va alors permettre de recréer des phylogénies, d'identifier, de dater et de retracer plus finement des voies de migrations et donc de reconstruire l'histoire du peuplement et l'évolution des populations humaines (Crubezy et al. 2008).

Leurs utilisations permettent différentes analyses en fonction du degré de la variabilité génétique qu'ils révèlent. elle peut être évaluée de manière indirecte, par l'analyse du polymorphisme au niveau phénotypique, c'est à dire au niveau du produit des gènes (protéines ou dérivés) ou de manière directe par l'analyse du polymorphisme de l'ADN

Deux grandes catégories de marqueurs moléculaires sont habituellement étudiées : les marqueurs à transmission biparentale et les marqueurs à transmission uniparentale.

Les marqueurs à transmission biparentale sont des polymorphismes localisés sur le génome nucléaire, plus précisément sur l'ADN autosomal, c'est-à-dire au

niveau des 22 paires de chromosomes non-sexuels que comprennent les noyaux des cellules. Ils sont transmis à 50% par la mère et 50% par le père et sont soumis à recombinaison. Leur étude permet d'avoir une vue d'ensemble sur la diversité génétique de populations.

Les marqueurs à transmission uniparentale sont situés sur des parties non-recombinantes de l'ADN, ils sont donc transmis tels quel à la descendance. Les polymorphismes ainsi retrouvés, permettent d'étudier des populations sur de nombreuses générations et donc de retracer des phylogénies sur plusieurs dizaines de milliers d'années. En se basant sur l'horloge moléculaire, il est également possible de dater les mutations qui y apparaissent et donc, en théorie, de dater certains phénomènes démographiques importants.

Ils sont localisés sur l'ADN mitochondrial dont l'analyse permet de suivre les lignées génétiques maternelles et sur la partie non recombinante du chromosome Y (NRY) dont l'étude permet de tracer les lignées paternelles (Lacan, 2011).

III.4.1. Marqueurs à transmission biparentale

Sans exhaustivité, les principaux marqueurs moléculaires sont :

Les SNP

Les SNP (prononcés « snip ») ou Single Nucléotide Polymorphism constituent la majorité du polymorphisme du génome (90% du polymorphisme du génome humain) (Brookes, 1999).

Les marqueurs SNP, causés par mutagenèse chimique ou erreurs de réplication (lors du changement d'une base en une autre : transition ou transversion (les insertions et délétions d'une seule base). il existe un grand nombre de SNP, un tous les 1000 à 3000 pb dans les régions codantes, et un tous les 500-1000pb dans les parties non-codantes. Exception faite pour l'ADN mitochondrial (Mazières, 2006).

Les RFLP

La « RFLP » (développée par Botstein et al. 1980) ou Restriction Fragment Length Polymorphism pour polymorphisme de longueur des fragments de restriction) repose sur des enzymes de restriction et la variabilité de taille des fragments d'ADN obtenus via ces enzymes de restriction.

Pour une enzyme de restriction, la distance entre deux sites de coupure peut varier d'un individu à un autre (du fait de mutations ou de recombinaisons), lorsque les produits d'une restriction sont séparés suivant leur taille par électrophorèse, le profil de migration obtenu peut donc montrer un polymorphisme spécifique.

Cependant, la RFLP ne détecte que les variations importantes dans la taille des fragments ADN, sans détecter les mutations ponctuelles (les taux de polymorphisme par locus sont en conséquence assez faibles) (Liu 2007) et l'héritabilité est monoparentale (histoire d'un seul sexe). De plus, les difficultés techniques de mise en œuvre (notamment le besoin d'informations génétiques telles que la disponibilité de sondes pour l'espèce), la faible polymorphie mise en évidence (peu de sites de restriction caractérisés), le risque d'introgession et l'impossibilité d'automatisation sont des points négatifs à ne pas négliger (Levy-hartmann, 2011).

Les RAPD

Les RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA), marqueurs dominants révélés en masse (polymorphisme important), hérités de façon Mendélienne. Leur large utilisation résulte de leur facilité d'utilisation (important criblage des loci et des individus), de leur rapidité de mise en place et de la possibilité d'automatisation. De plus, il n'est pas nécessaire de connaître la séquence amplifiée. Ils peuvent néanmoins présenter des problèmes de reproductibilité et de transférabilité d'un laboratoire à un autre, d'autant que les conditions de PCR sont très sensibles (faibles températures d'hybridation) (Liu 2007 ; Levy-hartmann, 2011).

Les AFLP

Les AFLP (ou Amplified Fragment Length Polymorphism, pour polymorphisme de longueur de fragments amplifiés), combine la technique de la RFLP à la PCR. Ce sont des marqueurs dominants également. Ils permettent de révéler un polymorphisme important de type présence/absence et peuvent produire des marqueurs issus de toutes les zones du génome. Leur principal avantage est de permettre le calcul de distances génétiques assez fiables entre individus.

La RFLP utilise ainsi les enzymes de restriction et l'hybridation d'amorce PCR. L'ADN est clivé par deux enzymes de restriction (exemple Eco RI et Mse I2). Des adaptateurs de séquences connues (20pb) sont ajoutés de part et d'autre des fragments d'ADN. Les bouts ajoutés constituent un template pour la fixation d'amorces PCR. On amplifie ainsi les fragments d'ADN via PCR.

Dans une deuxième étape dite sélective, on utilisera les mêmes amorces mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (1 à 3). Cette étape permet de n'amplifier que les fragments complémentaires des bases arbitraires entraînant une réduction du nombre de fragments amplifiés. Une centaine de fragments sont finalement révélés en gel d'acrylamide après électrophorèse.

Ceux-ci correspondent aux fragments dont le polymorphisme provient des sites de restriction mais également des sites d'hybridation des bases arbitraires.

Cependant, les profils des AFLP sont hautement informatifs dans le cadre de l'évaluation des relations entre les races (Levy-hartmann, 2011).

Les mini-satellites

La notion d'empreintes génétiques est due à A. JEFFREY qui, en 1985, a montré l'existence dans le génome humain de séquences identiques répétées en tandem un nombre variable de fois (VNTR pour variable number of tandem repeats) d'un chromosome à l'autre, donnant lieu à un polyallélisme important (6 à 10 allèles de tailles différentes en moyenne pour un même locus) (Swynghedauw et Silvestre, 2008). Le nombre de répétitions (généralement di- ou tri-nucléotidiques (Liu 2007).

Ces mini-satellites, hérités de façon Mendélienne, sont des marqueurs codominants. Grâce à leur pouvoir de différenciation, ils sont très largement utilisés dans l'analyse de la diversité génétique ou la génétique des populations. Leur avantage principal réside dans leur capacité à révéler un grand polymorphisme et donc de permettre de distinguer des sous-populations génétiquement proches (Levy-hartmann, 2011).

Les micro-satellites :

En raison de la lourdeur des techniques, les VNTR ont été rapidement abandonnés au profit des microsatellites (ou STR pour short tandem repeats), c'est-à-dire de séquences de 2 à 5 nucléotides, également répétées en tandem un certain nombre de fois. Et polyalléliques, très nombreuses (1 STR tous les 40-50

Kb), réparties de façon à peu près homogène dans le génome (Swynghedauw et Silvestre, 2008).

Ces microsatellites sont à présent les marqueurs les plus utilisés dans les études de caractérisation génétique des animaux d'élevage. Le taux de mutation élevé et la nature codominante favorisent l'estimation de la diversité intra et interrassiale, et le mélange génétique entre les races, même si elles sont très proches.

Cependant, ces marqueurs sont étudiés par PCR en utilisant des amorces dont les séquences sont complémentaires de celles situées de part et d'autre du microsatellite; les produits d'amplification sont ensuite séparés en fonction de leur taille par une technique électrophorétique. Le marquage des amorces par un fluorochrome permet de visualiser les fragments sous l'action d'un laser. En combinant les couleurs des fluorochromes et la diversité de taille des fragments amplifiés, plusieurs microsatellites peuvent être étudiés simultanément (Swynghedauw et Silvestre, 2008).

Les puces à ADN :

Les puces à ADN (qui correspondent davantage à un outil technologique, la technologie Microarray), produisant un polymorphisme très fiable, mais ayant un coût assez élevé (technologie encore récente) et donc encore assez difficiles à utiliser (Levy-hartmann, 2011).

- Et enfin le séquençage direct de gènes nucléaires ou mitochondriaux est Rendu possible par les performances atteintes par des séquenceurs d'ADN automatiques.

Cette dernière technique n'a commencé que récemment est de loin la plus performante dans la mesure où elle peut fournir le maximum de renseignements sur des fractions limitées et précises du génome, mais elle était parfois jusqu'il y a peu, pour des raisons de budget et de temps, peu compatible avec l'analyse d'un grand nombre d'individus. L'automatisation du séquençage permet dorénavant de s'affranchir de ces limites et d'accumuler rapidement un grand nombre de séquences d'ADN (plusieurs milliers de bases par heure). De plus, les autres techniques moléculaires s'accompagnent d'un certain nombre d'inconvénients. En effet, une étude sur la reproductibilité des marqueurs a été effectuée par Jones (1997) et montre que les RAPD sont les moins reproductibles, que les AFLP le sont davantage, mais que les difficultés de mise en place peuvent apporter quelques problèmes.

Avec les allozymes, l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial sont les trois principales catégories de marqueurs génétiques couramment utilisés en génétique des populations. Ceux-ci ont été soumis de façon récurrente à des révisions (Levy-hartmann, 2011).

III.5.2. Marqueurs uniparentaux et état de recherches anthropo-génétique sur les populations nord africaines

Parmi les marqueurs génétiques les plus adaptés (à l'étude des origines des différentes populations humaines, la microévolution et les voies de migrations conduisant à la reconstitution de l'histoire des peuplements humains (Anderson et al., 1981), les marqueurs uniparentaux tels que l'ADN mitochondrial et le chromosome Y. Ils sont transmis sans modification d'une génération à l'autre (ils échappent tous deux au brassage génétique), ces marqueurs permettent de retracer des lignées maternelles ou paternelles sur un grand nombre de générations.

L'ADN mt est une molécule circulaire à double brin de 16569 paires de base, présente dans les mitochondries dont la séquence complète est bien connue depuis 1981 (Anderson et al., 1981; Andrews et al., 1999 ; Razafindrazaka, 2010). Il est transmis uniquement de la mère à l'enfant, et principalement sans recombinaisons (Kumar, et al., 2000 ; Ferré, 2009). Ces spécificités lui permettent à la fois, de s'affranchir des difficultés dues au brassage génétique et de mieux comprendre la structure et les relations interpopulationnelles.

Son polymorphisme est défini par diverses mutations localisées au niveau de la séquence non codante (notamment le segment hypervariable I (ou HVI), le plus grand segment de la région de contrôle « D-loop » de l'ADN mt), ainsi que des mutations dans la région codante (Anderson, 1999).

Les combinaisons de ces mutations permettent de décrire différents haplotypes que l'on peut regrouper, d'après leurs relations phylogénétiques, en haplogroupes. Ces haplogroupes mitochondriaux sont répartis en différentes familles très fréquentes et semblaient spécifiques à un continent et furent extrêmement utiles pour distinguer les populations entre elles.

Grâce à l'identification de ces haplogroupes et à leur comparaison entre populations, il est possible de connaître, avec une certitude relative, les déplacements migratoires réalisés par des peuples. Ces techniques permettent

donc de remonter la lignée généalogique sur autant de siècles et de déterminer la zone géographique dans laquelle nos ancêtres vécurent

Ainsi, les populations européennes ont des fréquences élevées d'haplogroupes H, HV, I, J, K, T, U, V, W et X. Les lignées fréquentes au Proche-Orient et au Sud de l'Asie sont M et N (lignées ancestrales), E, F, G, P, Q, R, Y et Z (Coudray et al., 2009).

Les données paléogénétiques indiquent que l'ADN mt humain est, de loin, plus variable en Afrique que dans les autres populations humaines, ce qui suggère que les humains modernes seraient originaire d'Afrique (McBrearty et Brooks, 2000 ; White et al 2003) peut-être il y a 196000 années avant notre ère (McDougall et al. 2005) et auraient ensuite colonisé les autres continents depuis l'Afrique de l'Est, diffusant ainsi un sous-ensemble des variations accumulées dans la population d'origine (Tishkoff et al 1996; . Quintana Murci - et al., 1999 ; Kivisild et al. 2004 ; Gonder et al., 2006).

Des résultats issus de l'étude de la structure génétique mitochondriale du Maghreb ont montré que ses populations sont composées majoritairement d'haplogroupes (H, J, T, V...) fréquents dans les populations européennes (de 45 à 85 %), d'haplogroupes L (de 3 à 50 %) très fréquents dans les populations subsahariennes, et d'autres haplogroupes très minoritaires.

De plus, ces Maghrébins sont donc , globalement,

- à 60% d'ascendance berbère et à 20% d'ascendance arabe du côté paternel,

- à plus de 50% d'ascendances diverses, qu'il partage avec les Européens, du côté maternel.

Il apparaît également, à la vue des nombreuses autres études réalisées à partir de populations contemporaines, que la structure génétique des populations de l'Afrique du Nord est une mosaïque due à la présence, à côté de l'haplogroupe U6 d'une origine locale (Rando et al. 1998, Plaza et 2003) avec un âge estimé à $47\,000 \pm 18\,000$, réparti majoritairement entre les Mozabites (28,2%) et Mauritaniens (20%). (Plaza et 2003), des haplogroupes eurasiatiques auxquels s'ajoute l'haplogroupe M1 originaire de l'Afrique de l'Est (Quintana- Murci et al. 1999, Coudray et al., 2009), avec une fréquence de 0 à 12% au Maghreb (Coudray et al., 2009), et enfin des haplogroupes subsahariens (L1, L2 et L3a)

(Rando et al. 1998, Brakez et al. 2001, Plaza et al. 2003, Fadhlaoui-Zid et al. 2004 ; kefi et al., 2005) montrant un certain flux de gènes à travers le désert du Sahara (Plaza et 2003).

Les comparaisons entre les populations de l'Afrique du Nord et celles de la rive Nord de la Méditerranée (Bosch et al., 2001 ; Plaza et 2003) révèlent de fortes différenciation génétique en raison de la contribution indépendante du Paléolithique supérieur dans les deux zones par

flux génétique depuis le Sud (la lignée L) et de l'Afrique de l'Est (la lignée M), suivi par le flux de gènes depuis le Proche-Orient à l'époque néolithique, et le flux génétique plus au moins limité à travers la Méditerranée. (Plaza et 2003).

Le deuxième marqueur anthropogénétique génétique uniparental est le chromosome Y. il présente des particularités et d'avantages qui le rendent un outil incontournable dans les études de l'évolution et de migrations humaines, de l'histoire et de la généalogie familiale.

Il est long de 57 701691pb et renferme 156 unités de transcription, dont 78 gènes codants. Malgré son état haploïde, les deux régions pseudo autosomiques, PAR1 et PAR2 du chromosome Y permettent l'appariement des deux chromosomes X et Y lors de la première phase de la méiose, au cours de laquelle a lieu le processus de recombinaison homologue. la région située entre les deux PARs est appelée MSY (male Specific Y chromosom), précédemment NRY (non recombining Y chromosom). Elle représente 95% de la longueur du chromosome Y, est ne recombine jamais avec le chromosome X (Skaletsky, et al, 2003).

Tous les gènes de cette région non_recombinante sont par conséquent en déséquilibre de liaison et sont intégralement transmis par le père.

Cette partie porte deux catégories de marqueurs polymorphes permettant d'étudier la diversité du chromosome Y : les marqueurs bialléliques (insertions ALU et SNPs) déterminants les haplogroupes et les marqueurs multialléliques (microsatellites ou Y-STR) déterminants les haplotypes.

La distribution géographique des fréquences des 15 plus importants haplogroupes (A, B, E, G, I, J, L, H, D, R, N, O, T, C, Q) a été illustrée à partir d'un grand ensemble de données publiées. Les haplogroupes K, M et S ne sont pas inclus parce qu'ils ont une distribution très restreinte. De même pour les haplogroupes F et P qui sont paraphylétiques (Chiaronie et al, 2009)

Au cours des dernières décennies, la génétique a produit de nombreuses études au Nord de l'Afrique par l'analyse du polymorphisme génétique, dont la majeure partie était concentrée sur les marqueurs à transmission uniparentale (l'ADN mt et le chromosome Y) des populations contemporaines (Corte-Real et al, 1996 ; Rando et al. 1998 ; Krings et al. 1999; Macaulay et al. 1999; Bosch et al., 2000, 2001 ; Brakez et al, 2001 ; Maca-Meyer et al., 2003 ; Pereira et al 2003 ; Plaza et al. 2003; Stevanovitch et al. 2003 ; Arredi et al, 2004 ; Fadhlouli-Zid et al. 2004 ; Achilli et al 2005 ; Cherni et al. 2005 ; kefi et al., 2005 ; Loueslati et al. 2006; Olivieri et al. 2006;Robino et al, 2008 ; Coudray et al., 2009 ; Fedhlouli et al 2009 ;Rhouda et al., 2006, 2009, Harich et al., 2010 ; Ennafaa et al, 2009, 2011 ;Ottoni, 2010 ;Bekada et al 2013, 2015.

IV. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DE LA NOTRE ETUDE

Aborder les traits de continuité et les points de rupture, les aspects d'unité et de complémentarité entre le Maghreb et la péninsule ibérique musulmane, n'est pas une tâche aisée.

Il s'agira alors de cerner les trajectoires des populations qui mènent à l'hybridation du pool génétique nord-africain maghrébin en Méditerranée et celui Andalous au Maghreb respectivement.

Le contact entre les « deux rives » s'est développé lorsque les milliers de conquérants musulmans (l'armée berbère de Tarik Ibn Ziyad et les renforts de Moussa Ibn Nouceir, composés de contingents qaysites et yéménites) se sont mélangés avec les populations de la péninsule ibérique. Sans aucun doute, au cours de 800 ans le métissage (flux de gènes bidirectionnel par le biais des mariages interreligieux et les conversions) ainsi opéré entre les communautés : arabes, berbères et européens (juifs et chrétiens) a donné ce qu'on appelait la population musulmane andalouse.

Immédiatement, pendant d'un siècle après la chute de Grenade, le rapatriement des musulmans, au nord de l'Afrique, va conditionner la composition génétique des populations autochtones du Maghreb. Cette fusion, illustre l'importance de l'influence génétique des andalous dans cette aire géographique. Des andalous qui sont bien encore vivants au sein de l'identité biologique (gènes) des populations maghrébines contemporaines.

La problématique de la présente étude ainsi que d'autres travaux du même genre s'inscrit dans le cadre de questionnements sur le peuplement des deux rives de la Méditerranée et en particulier l'Afrique du Nord : Quelles étaient les voies de migrations possibles qui ont servi au peuplement de l'Afrique du nord par l'homme ? Comment s'est faite l'installation des populations actuelles dans cette région, et quelles sont leurs origines ? Quelle est l'amplitude de la variabilité génétique de ces populations ? Comment ces populations sont évoluées dans le temps ? Sont-elles différentes les unes des autres ou possèdent-elles un patrimoine génétique commun ? Dans quelle mesure se sont effectués les échanges avec les populations de l'Europe, l'Asie et l'Afrique subsaharienne ?

L'objectif majeur de ce travail est de quantifier l'apport des populations méditerranéennes, plus particulièrement celles d'al Andalus dans le patrimoine génétique des populations maghrébines actuelles, afin de contribuer à une meilleure connaissance de la structure anthropogénétique du Maghreb.

L'hypothèse de la présente étude est, qu'en raison de l'expulsion des morisques, les marqueurs génétiques des populations andalouses seront présents dans la distribution génétique des populations maghrébines actuelles. Pour tester cette hypothèse, nous allons explorer la diversité génétique de l'une des populations clés actuelles du Maghreb celle de Tlemcen (Algérie).

Cette étude va donc se faire en deux grandes étapes : une première étape utilisant des méthodes de biologie moléculaire (génétique) permet l'obtention d'es séquences d'ADN et l'analyse d'une part les marqueurs autosomaux afin de définir les haplotypes transmis au fil des générations qui peuvent être caractéristiques des populations, d'autres part les marqueurs uniparentaux (chromosomes Y et ADN mt) pour déterminer les haplogroupes. Au travers de comparaisons avec des populations géographiquement proches (notamment du sud-ouest de l'Europe, du Proche-Orient et des régions subsahariennes).

La deuxième étape utilise des méthodes de bio-informatique (phylogénétiques et statistiques) dans le but d'analyser et d'exploiter les informations portées par les séquences d'ADN. Pour décrire d'abord, le profil génétique (diversité anthropogénétique) de la population actuelle (Tlemcenienne), ensuite retracer les lignées paternelles et maternelles et identifier les contributions génétiques des andalous qui ont côtoyé la population autochtone.

V. MATÉRIELS ET MÉTHODES

V.1. Obtention et description de l'échantillon à analyser

Notre étude va se concentrer sur l'étude de l'influence de l'émigration andalouse dans le patrimoine génétique des populations maghrébines actuelles (étude de cas : population de Tlemcen située dans l'ouest algérien).

Les individus de notre échantillon devraient être adultes, sains, originaire de Tlemcen, leurs parents ainsi que grands parents.

Nous allons sélectionner les prélèvements sanguins d'un échantillon représentatif (5-10 cm³ de sang dans des tubes EDTA :acide éthylène diamine tétra acétique) de sujets consentants, des deux sexes, âgés de 15 à 90 ans pour la réalisation de l'étude. Ces tubes seront stockés à -20 °C.

Cependant, à l'aide d'un questionnaire relatif aux critères d'inclusion préalablement établis, nous pourrions recueillir quelques informations concernant les éléments biologique et socioculturelle des personnes de cette région.

V.2. Extraction d'ADN

Cette étape se déroulera sur une journée. Il convient de signaler une fois pour toute que tout le matériel utilisé lors des différentes étapes d'analyses, soit stérile (gants, tubes, pointes cotonnées), soit préalablement autoclave avant l'utilisation (tampons, réactifs, pipettes ...).

Depuis la publication des premières études, plusieurs protocoles d'extraction (salting out, méthode phénol chloroforme) ont considérablement évolué et sont encore continuellement améliorés (Keyser-Tracqui et al., 2003 ; Lacan, 2011 ; Campos et al., 2011; Rohland et al., 2010 ; Mendisco, 2011) avec la fabrication des kits commerciaux dédiés à l'extraction d'ADN, Au cours de ce travail, Nous allons adapter les techniques testées avec les meilleurs rendements et développer notre propre protocole d'extraction.

Exemple : extraction d'ADN selon le protocole phénol/chloroforme/alcool isoamylique

Principe

Dans une première étape on procède à la lyse des globules rouge et des globules blancs.

A 5 ml du sang total d'une cinquantaine de personnes prélevé dans les tubes EDTA on ajoute 20 ml de solution de lyse I. Puis on met à incuber dans de la glace entre 10 à 15 minutes.

Par la suite, on centrifuge à 3000 rpm pendant 10 minutes. Sur le culot globulaire (buffycoat et globules rouges) sera déposé 1 ml TBS afin de le suspendre, puis on ajoute 1 ml de solution de lyse de lyse II et on ajuste avec du SDS à 10 % ainsi que 50µl de protéinase K. Le tout sera incubé pendant 1 à 2 heures à 55° C ou bien pendant une nuit à 50°C.

La procédure d'extraction au phénol/chloroforme/alcool isoamylique peut être entamée.

1ml de solution de phénol sera ajouté dans le tube plus 1 ml du mélange chloroforme/alcool isoamylique. Le mélange laiteux obtenu sera agité pendant 5 minutes avant qu'il soit centrifugé à 2500 rpm pendant 7 minutes à température ambiante. Puis la phase aqueuse (supérieure) sera récupérée à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans un tube à hémolyse. Par la suite, 2 ml du chloroforme/alcool isoamylique sera ajouté, encore à nouveau le tout sera agité pendant 5 minutes et centrifuger à 2500 rpm pendant 7 minutes.

Dans un flacon de 15 ml La phase supérieure (surnageant) sera récupérée, à laquelle sera mélanger 10 M de l'acétate d'ammonium, afin d'obtenir une concentration finale de 2,5 M, soit 6,25 µl ; Ainsi on va ajouter 2,5 volume d'éthanol absolu à 95% (conservé à -25°C).

Le tube est retournée plusieurs fois jusqu'à obtenir une précipitation (méduse d'ADN). Le tube est conservé à -25°C pendant une nuit.

Enfin, durant le processus de lavage, le tube est d'abord centrifugé à 4000 rpm de manière à obtenir le culot contenant l'extrait. Ensuite, ce culot sera lavé à l'éthanol à 70%, centrifugé pendant 30 mn à 4000 rpm et séché. Une fois le culot séché, on élue l'extrait dans une solution tampon d'extraction ou dans l'eau (Boulouis et al., 2001).

V.3. Quantification de l'ADN

Cette étape également sera réalisée selon plusieurs méthodes, classique, PCR en temps réel, nano drop.

Principe

La quantité d'ADN est ensuite calculée par spectrophotométrie en mesurant la densité optique (DO), d'un aliquote dilué au 1/100 de l'un volume extrait.

Une première lecture sera effectuée à 260 nanomètres car les acides nucléiques absorbent à cette longueur d'onde. Pour rechercher une éventuelle contamination protéique, un dosage est effectué à 280 nm.

Le rapport DO 260nm/DO 280nm doit être compris entre 1,5 et 2, témoignant la pureté de l'ADN et l'absence de contamination.

Si la valeur est inférieure à 1.5, la solution d'ADN renferme une contamination par les protéines alors qu'une valeur supérieure à 2, témoigne d'une contamination par les sels. Une unité de densité optique (DO) à 260 nm correspond à une solution d'ADN double brin à 50µg/ml parfaitement pur et en solution homogène (Kaplan et Delpech, 1998).

Après le dosage, le test de qualité des ADN obtenus sera réalisé par électrophorèse sur gel d'agarose à 3%. Ce test consiste à vérifier si les ADN sont de haut poids moléculaire et donc non dégradé.

Une fois ces étapes réalisées l'ADN obtenu pourrait servir pour l'amplification et le séquençage d'un gène d'intérêt.

Deux types de polymorphismes seront analysé dans notre travail : les SNPs (single nucléotide polymorphim) et STRs (short tandem repeat) pour les deux marqueurs : uniparentaux (ADN mt et chrosome Y) et autosomaux.

L'analyse commencera d'abord par une étape d'amplification PCR de la région d'ADN contenant le polymorphisme recherché. Une analyse post-PCR sera ensuite réalisée pour déterminer le variant allélique au site polymorphe considéré.

V.4. Amplification in vitro de l'ADN par PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR est une technique de biologie moléculaire mise au point par Mullis (1985), lauréat du prix Nobel de Chimie en 1993.elle permet la multiplication in vitro d'une courte séquence d'ADN (jusqu'à 2 ou 3 Kb en routine) appelée séquence cible, comprise entre deux régions de séquences connues, à partir d'une infime quantité d'ADN génomique. Elle est même possible à partir de l'ADN génomique issu d'une cellule unique. Elle a révolutionné le diagnostic moléculaire des maladies génétiques comme bien d'autres domaines.

Le taux de multiplication (ou taux d'amplification) est tel que la réaction revient à rendre négligeable le reste du génome qui n'a pas été amplifié car le produit de PCR contient presque exclusivement des millions d'exemplaires de la séquence cible. Il est donc facilement analysable par exemple sur un gel d'électrophorèse en fluorescence UV sans avoir à rechercher spécifiquement la séquence cible par hybridation moléculaire comme c'était le cas auparavant (technique de Southern). La PCR est utilisée dans la très vaste majorité des diagnostics moléculaires.

Principe

La séquence cible est multipliée par synthèses successives à l'aide d'amorces oligonucléotidiques (de 20 à 25 nucléotides complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN) et d'une ADN polymérase thermostable issue du micro-organisme *Thermus Aquaticus* (Taq polymérase). Chaque synthèse ou cycle de PCR est constituée de 3 étapes constituées de trois plateaux de température différents : dénaturation (autour de 95°C) qui permet de séparer les 2 chaînes complémentaires en ADN simple brin en rompant les liaisons hydrogènes, qui vont servir de modèle à la synthèse de nouveaux brins, hybridation des amorces (entre 50 et 60°C) et polymérisation ou élongation (autour de 72°C).

Les températures de dénaturation et de polymérisation sont fixes, seule la température d'hybridation devra être calculée pour chaque nouvelle PCR. En effet, cette température d'hybridation est égale à la température de dissociation des brins complémentaires (T_m) diminuée de 5°C. La température de dissociation est la température à laquelle 50% des molécules d'ADN sont dénaturées par rupture des liaisons hydrogènes entre les brins. Pour les oligonucléotides de 10 à 20 bases, une estimation de la température de dissociation peut être obtenue par la formule suivante : $T_m (^{\circ}\text{C}) = 4 (\text{nombre de bases G et C}) + 2 (\text{nombre de bases A et T})$.

Chaque cycle dure quelques minutes. La séquence cible étant doublée à chaque cycle, le taux d'amplification (théorique) est de 2^n (n = nombre de cycles), si bien qu'après une trentaine de cycles de PCR, le nombre de copies de la séquence cible est plusieurs dizaines de millions de fois supérieur à n'importe quelle autre séquence du génome. Cette sur-représentation la rend facilement analysable et manipulable.

La PCR est une technique incomparablement plus rapide que d'autres techniques telles que la méthode de Southern ou le clonage. Il faut deux ou trois heures pour réaliser une PCR.

La réaction

Le milieu réactionnel doit contenir :

- l'ADN contenant la séquence à amplifier ; il peut s'agir de l'ADN génomique d'un patient pour lequel on cherche à réaliser le diagnostic moléculaire d'une maladie génétique, d'ADN mitochondrial ou d'ADN plasmidique contenant une séquence d'intérêt etc...
- les deux amorces oligonucléotidiques monobrins complémentaires chacune d'une des extrémités du fragment à amplifier. Chaque amorce est ainsi allongée dans le sens 5'P vers 3'OH d'une séquence complémentaire du brin recopié.
- des déoxynucléotides libres dATP, dCTP, dGTP, dTTP qui sont incorporables pour former le brin d'ADN néosynthétisé.
- l'enzyme permettant la synthèse d'un néobrin à partir des amorces ; il s'agit d'une ADN polymérase thermostable, par exemple la Taq DNA polymerase.
- du MgCl₂ et une solution donnant au milieu réactionnel un PH et une concentration saline optimale pour le fonctionnement de l'enzyme

Le tube contenant le milieu réactionnel est placé dans un appareil appelé « thermocycleur », sorte de plaque chauffante programmable en temps et en température et disposant de délais de montée et de descente en température extrêmement courts. Il délivre à chaque instant au milieu réactionnel une température donnée permettant la réalisation de l'une des trois étapes du cycle de PCR : dénaturation, hybridation ou synthèse.

Cependant le rendement réel de la réaction d'amplification de l'ADN est d'environ 70%. (Etienne MORNET).

Pour réaliser les différentes amplifications, il faut que les ADN aient la même concentration. Pour cela, une première dilution a été effectuée pour une concentration finale allant de 40 à 250ng/μl pour la majorité des ADN et une

deuxième dilution a été effectuée pour chaque échantillon d'ADN à une concentration finale de 25ng/μl dans un volume d'eau distillée stérile pour une quantité suffisante de 250 μl. Les ADN dilués ont été conservés à -20°C.

La PCR multiplex

Cette technique permet d'amplifier au cours d'une même PCR plusieurs régions différentes entourant les SNP d'intérêt.

Pour cela il suffit d'ajouter une série de couples d'oligonucléotides (et non un seul couple) dans le milieu d'incubation. Chacun permettra d'amplifier une région différente du DNA. Il faut que les tailles de chacun des amplicons soient suffisamment différentes pour être discriminées. la technique est en général utilisée pour rechercher des délétions dans des grandes gènes, elle permet d'analyser dans le même temps différentes régions du gène en cause. La mise au point d'une PCR multiplexe est particulièrement complexe car il est impératif que toute hydratation entre chacun des oligonucléotides utilisés soit impossible. Le produit d'amplification est ensuite analysé par électrophorèse. Chaque bande observée correspond à une région spécifique du DNA qui est repérée par la taille de la bande (Kaplan et Delpech., 2007).

Test d'amplification

Prélever 2μl et analyser par électrophorèse sur gel agarose 3 % (la concentration varie en fonction de la taille des fragments d'ADN étudiés) : ceci permet de vérifier que l'amplification a bien eu lieu (Lombard, 2011).

Le tampon de migration utilisé est le TBE1X (Tris/HCl 0,089M, EDTA Na2 2.5mM ; Acide borique 0,089M, pH 8.0).

2μl de l'ADN amplifié de quelques échantillons, additionnés à 2μl de tampon de charge (Tris/HCl 0.2M pH 7.6 ; EDTA 0.2M pH 8.0 ; bleu de bromophénol 0.4% comme indicateur du front de migration et du sucrose à 40% comme allourdisseur de l'ADN) sont déposés sur le gel. Un marqueur de taille (DNA Ladder) approprié de poids moléculaire allant de 100 à 1000pb a été aussi déposé dans le gel. Il permet d'évaluer la taille des fragments d'ADN amplifiés. La migration est effectuée sous une tension de 100 volts pendant 30 minutes.

Le gel est ensuite visualisé sous illumination aux ultraviolets à une longueur d'onde de 360nm après coloration au bromure d'ethidium (BET) ou agent intercalant de l'ADN à une concentration finale de 0.1mg/ml dans le gel d'agarose.

Au final, les ADN ont été amplifiés et le fait qu'il y ait une seule bande montre que la PCR a bien « pêché » une seule séquence : les amorces ont bien été sélectives.

Purification du produit de PCR

Avant de pouvoir séquencer, il faut purifier les fragments amplifiés en enlevant les sels, les restes de desoxynucléotides et d'amorces non incorporées.

Ceci s'effectue simplement par digestion avec une phosphatase qui va déphosphoryler les desoxynucléotides et les rendre impropres à l'incorporation, et en digérant les amorces avec une exonuclease qui va les dégrader (Lombard, 2011).

V.5. Le séquençage de l'ADN

Les mutations et les recombinaisons génétiques occasionnant un polymorphisme au niveau de l'enchaînement nucléotidique des séquences d'ADN (Giovannoni et al., R., 2006).

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre des nucléotides sur la molécule d'ADN. C'est le niveau de résolution le plus élevé pour rechercher la présence de mutations ponctuelles dans un gène. La méthode utilisée aujourd'hui, proposée par F. Sanger en 1977 (prix Nobel de chimie en 1980), repose sur l'utilisation de nucléotides particuliers appelés didéoxynucléotides, qui bloquent la synthèse d'ADN par les ADN polymérases après leur incorporation. Ce blocage est dû à l'impossibilité qu'ont ces nucléotides de former une liaison phosphodiester avec un autre nucléotide en raison de l'absence du groupement hydroxyle sur le carbone 3'. Comme les 4 ddNTPs sont marqués par des fluorochromes différents, il est possible d'identifier le dernier nucléotide incorporé. Grâce à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide, les fragments sont séparés suivant leur taille et leur fluorescence.

La séquence d'intérêt sera ensuite reconstituée puis comparée avec les divers génotypes répertoriés dans les bases de données existantes (Giovannoni et al., 2006).

Depuis 1977, la méthode a considérablement évolué grâce à la mise au point de séquenceurs automatiques et de marquages des nucléotides à l'aide de fluorochromes. Elle est devenue aujourd'hui une technique rapide et fiable utilisée fréquemment dans la détection des polymorphismes de l'ADN,

génomique et mitochondrial ainsi que dans le diagnostic des maladies héréditaires (Theves et al., 2006).

Principe

Le fragment d'ADN à séquencer (il peut s'agir par exemple d'un exon du gène d'intérêt) est obtenu par PCR puis mis en présence d'un milieu réactionnel contenant :

- l'amorce (oligonucléotide) à partir de laquelle la synthèse du néobrin sera réalisée par une ADN polymérase,
- les 4 déoxynucléotides (dA,dT,dC,dG),
- les 4 didéoxynucléotides (ddA,ddT,ddC,ddG) marqués chacun par un fluorochrome distinct
- une ADN polymérase (en général la Taq DNA polymerase).

L'ensemble est soumis à une succession de cycles de polymérisation au cours desquels l'ADN polymérase peut, au niveau de chaque nucléotide de l'ADN matrice, incorporer un déoxynucléotide ou un didéoxynucléotide. Dans le cas où elle incorpore un déoxynucléotide, la synthèse peut continuer, dans le cas contraire elle s'arrête. Ce choix étant aléatoire, chaque base de l'ADN matrice aura statistiquement vu un certain nombre de fois l'incorporation d'un didéoxynucléotide, si bien que le milieu réactionnel contient l'ensemble des molécules néosynthétisées possibles. Ces molécules sont ensuite dénaturées puis migrées dans un gel d'électrophorèse afin d'être séparées selon leur taille. On peut ainsi reconstituer la séquence en analysant la nature du fluorochrome terminant chacun de ces fragments néosynthétisés, du plus petit (premier nucléotide de la matrice) au plus grand (dernier nucléotide de la matrice).

Cette analyse est réalisée à l'aide d'un séquenceur automatique : cet appareil est pourvu d'une source laser ou infra-rouge qui excite les fluorochromes portés par les didéoxynucléotides après que les fragments aient migrés sur le gel d'électrophorèse. Cette excitation provoque une émission de lumière à une longueur d'onde dépendant de la nature du fluorochrome qui sera enregistrée et l'ensemble de la séquence sera retranscrite sous la forme d'un électrophorégramme. Cette technique nous permet d'aborder toute la séquence dans la région analysée, d'identifier les polymorphismes dans la région cible et leurs conséquences.

Le séquençage automatique de l'ADN est une technologie répandue et utilisée de façon routinière par les laboratoires de recherche et médico-légal pour les études génétiques de population ou dans les cas d'identification individuelle. Mais, il a été démontré que les techniques de séquençage automatique ne peuvent mettre en évidence des mutations présentes à moins de 20 % du total des molécules pour d'une part, des raisons techniques et d'autre part, par l'interprétation des profils de séquence (Theves et al., 2006).

Pour ce qui concerne notre étude, L'analyse des marqueurs SNPs sera réalisée soit par digestion enzymatique (PCR-RFLP), soit par séquençage de la séquence portant le ou les polymorphismes ou encore par technique d'extension des amorces (miniséquençage SNaPshot). Les produits de l'amplification des marqueurs STRs (PCR ou PCR multiplex) seront analysés par électrophorèse capillaire sur un analyseur génétique (sequenceur).

V.6. Méthodes de bioinformatique et analyse statistique

Les résultats obtenus à partir des différents marqueurs seront exploités juste après le calcul de plusieurs paramètres statistiques.

Dans cette étude, le calcul de la diversité génétique intra-populationnelle dont les fréquences alléliques et haplotypiques ainsi que les indices de fixation R_{ST} et F_{ST} , de la diversité moléculaire (h) sera réalisé à l'aide du programme ARLEQUIN version 2.000 (Schneider et al., 2000).

Des distances génétiques de Reynolds (Reynolds et al., 1983), directement liées aux F_{ST} , seront calculées dont le but est de quantifier les différences entre des groupes d'individus. Chaque groupe est défini par un certain nombre de critères (les fréquences alléliques par exemple) à partir desquels la proximité ou l'éloignement entre ces groupes sont estimés. La notion de "distance" revient à réduire les données en une seule valeur qui caractérise la distance qui sépare les différents groupes.

Ces distances seront par la suite utilisées pour comparer et représenter graphiquement, sur deux dimensions, les relations entre populations par la méthode d'analyse d'échelonnement multidimensionnel (ou MDS) (Kruskal, 1964) ou par des analyses en composant principal ACP qui seront effectuées à l'aide du logiciel informatique SPSS.

Pour étudier les relations phylogénétiques au sein des séquences mitochondriales (haplotypes), nous allons utiliser l'analyse Reduced Median Network disponible dans le logiciel Network (Bandelt et al. 1995 ; Cerny et al, 2004).

Les arbres phylogénétiques vont être construits à l'aide du logiciel Neighbor du package Phylip et Treview (Saitou N, 1987).

Cet algorithme conduit à la construction d'un arbre dans lequel la distance entre deux objets est égale à la somme des branches qui les rattachent. Les longueurs des branches sont ici inégales et ont un sens : elles représentent la quantité d'évolution d'un objet depuis sa divergence.

Le principe de cette méthode est d'identifier les paires les plus proches, ou voisins, de manière à minimiser la longueur totale de l'arbre. Deux voisins sont deux objets connectés par un nœud simple dans un arbre non enraciné (c'est-à-dire qui n'a pas d'origine, et qui reflète des distances entre unités sans notion d'ancestralité). La topologie de l'arbre sera obtenue par regroupements successifs de paires de voisins. On démarre avec un arbre étoilé, où tous les objets sont à égale distance d'un nœud central, puis on définit des voisins de manière à ce que, s'ils sont regroupés, l'arbre a une longueur totale plus courte.

La structure génétique et la différenciation des populations en tenant compte de structures hiérarchiques linguistiques définies a priori seront étudiées à l'aide d'une analyse de la variance moléculaire ou AMOVA (Analysis of Molecular VARIance) utilisées pour décrire les sources de variations intra et inter groupes et tester une structure génétique particulière, des groupements de populations que l'on souhaite définir pour nos analyses. Trois indices de fixation sont obtenus : F_{ST} , F_{CT} et F_{SC} (Excoffier et al. 2005). (Excoffier et al., 1992 ; Fadhlouli et al., 2009).

De plus, les taux de métissage ont aussi été estimés par la méthode de Bernstein (BH) par comptage direct (Cavalli-Sforza & Bodmer 1971, Schanfield et al. 2008).

A la fin de ces différentes analyses, nous aurions présenté des preuves qui confirment que les populations maghrébines ont bien reçu un flux de gènes en provenance de la péninsule ibérique après la chute de l'enclave de Grenade en 1492 et l'expulsion des morisques.

VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Achilli, A., Rengo, C., Battaglia, V., Pala, M., Olivieri, A., Fornarino, S., Magri, C., Scozzari, R., Babudri, N., Santachiara-Benerecetti, AS., Bandelt, H.J., Semino, O and Torroni, A., 2005. Saami and Berbers an unexpected mitochondrial DNA link. *Am J Hum Genet* 76(5): 883-6.

- Anderson, S., Bankier, A.T., Barrell, B.G., de Bruijn, M.H., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Schreier, P.H., Smith, A.J.H., Staden, R., Young, I.G., 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457-65.
- Andrews, R.M., Kubacka, I., Chinnery, P.F., Lightowlers, R.N., Turnbull, D.M., Howell, N., 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23:147.
- Aouraghe, H., 2006. Histoire du peuplement paléolithique de l'Afrique du Nord et dynamique des interactions entre l'homme et son environnement. *C. R. Palevol*. 5: 237-242.
- Arambourg, C., 1963. Le gisement de Ternifine II – l'*Atlanthropomauretanicus*. *Archives de l'IPH*, 32: 37–190.
- Arredi, B., Poloni, E.S., Paracchini, S., Zerjal, T., Fathallah, D.M., et al., 2004. A predominantly neolithic origin for Y-chromosomal DNA variation in North Africa. *Am J Hum Genet* 75:338–45.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Sykes, B.C., Richards, M.B., 1995. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*, 141, 743-753.
- Bekada, A., Fregel, R., Cabrera, V.M., Larruga, J.M., Pestano, J., et al., 2013. Introducing the Algerian Mitochondrial DNA and Y-Chromosome Profiles into the North African Landscape. *PLoS ONE* 8(2): e56775. doi:10.1371/journal.pone.0056775
- Bekada, A., Arauna, L.S., Deba, T., Calafell, F., Benhamamouch, S., Comas, D., 2015. Genetic Heterogeneity in Algerian Human Populations. *PLoS ONE* 10(9): e0138453. doi:10.1371/journal.
- Benchenouf, D., 2009. Une facette oubliée de notre identité: les andalous. *Le quotidien d'Algérie*.
- Bosch, E., Calafell, F., Comas, D., Oefner, P.J., Underhill, P.A., et al., 2001. High resolution analysis of human Y-chromosome variation shows a sharp

discontinuity and limited gene flow between northwestern Africa and the Iberian Peninsula. *Am J Hum Genet.* 68:1019-1029.

Bosch, E., Calafell, F., Perez-Lezaun, A., Clarimon, J., Comas, D., Mateu, E., Martínez-Arias, R., Morera, B., Brakez, Z., Akhayat, O., Sefiani, A., Hariti, G., Cambon-Thomsen, A and Bertranpetit, J., 2000. Genetic structure of north-west Africa revealed by STR analysis. *European journal of Human Genetics* 8:360–366.

Boulouis, H.J., Bermond, D., Maillard R. 2001. Kinetics of Bartonella infections in calves in a French Bartonella infected dairy herd. American Society for Rickettsiology: Bartonella as an emerging pathogen group, Joint conferences Big Sky, Montana, Oral presentation.

Brakez, Z., Bosch, E., Izaabel, H., Akhayat, O., Comas, D., Bertranpetit, J., Calafell, F., 2001. Human mitochondrial DNA sequence variation in the Moroccan population of the Souss area. *Annals of Hum. Biology* 28: 295–307.

Braudel, F., 1947. *Conflits et refus de civilisation: Espagnols et morisques au XVIe siècle.* *Annales. Histoire, Sciences Sociales*, 2e Année, No. 4, pp. 397-410.

Brookes, A.J., 1999. The essence of SNPs. *Gene.* 8;234(2):177-86.

Campos, P.F., Craig, O.E., Turner-Walker, G., Peacock, E., Willerslev, E, and Gilbert, M.T., 2011. DNA in ancient bone - Where is it located and how should we extract it? *Ann Anat.*

Camps, G., 1974. *Les civilisations préhistoriques de l'Afrique du Nord et du Sahara.* Drouin, Paris. 366 pp.

Cavalli-Sforza, L.L., Menozzi, P., Piazza, A., 1994. *The history and geography of human genes.* Princeton: Princeton University Press.

Cavalli-Sforza, L.L, and Bodmer, W.F., 1971. *The genetics of human populations.* W. H. Freeman, San Francisco.

- Carrillo, F.J., 2004. Les défis du Maghreb arabe : entre la tradition et la modernisation L'harmonisation des politiques économiques est fondamentale pour atténuer les écarts avec la rive nord. Dialogues, AFKAR/IDEES.
- Chadli, S., 2009, Afrique du Nord: Anthropologie Génétique et Histoire du peuplement Humain. *Antropo*, 20 : 41-48.
- Cerny, V., Hajek, M., Bruzek, J., Cmejla, R., Brdicka, R., 2004. Relations génétiques des populations de langues tchadiques parmi les populations péri-sahariennes révélées par l'étude des séquences de l'ADN mitochondriale. *Antropo*, 7 : 123-131.
- Chamla, M-CL., 1975. La diversité des types humains dans les gisements capsien. In : H. Camps-Fabrer. Un gisement capsien de faciès sétifien. Medjez II. Paris, ed du C.N.R.S : 373-376.
- Cherni, L., Loueslati, B.Y., Pereira, L., Ennafaa, H., Amorim, A., et al., 2005. Female gene pools of Berber and Arab neighboring communities in central Tunisia: microstructure of mtDNA variation in North Africa. *Hum Biol* 77:61-70
- Chiaroni, J., Hunderhill, P.A., Cavalli-Sforza, L.L., 2009. Y chromosome diversity, human expansion, drift and cultural evolution. *Proceeding of the national academy of sciences of USA*. 106 (48), 20174-9.
- Clermont, N., 1979. La paléontologie, l'anthropologie physique et le monde des relations créatrices", Université de Montréal.
- Corte-Real, H.B., Macaulay, V.A., Richards, M.B., Hariti, G., Issad, M.S., et al., 1996. Genetic diversity in the Iberian Peninsula determined from mitochondrial sequence analysis. *Ann Hum Genet* 60 : 331-50.
- Coudray, C., Torroni, A., Achilli, A., Pala, M., Olivieri, A., Larrouy, G., Dugoujon, J.M., 2009. Les lignées mitochondriales et l'histoire génétique des populations berbérophones du nord de l'Afrique. *Antropo*, 18 : 63-72.
- Coudray, C., Olivieri, A., Achilli, A., Pala, M., Melhaoui, M., Cherkaoui, M., El-Chennawi, F., Kossmann, M., Torroni, A., et Dugoujon, J.M., 2009. Le

complexe et la diversifié mitochondriale héréditaire des populations berbères. *Annales de génétique humaine* 73 : 196-214.

Coudray, C., Guitard, E., Gibert, M., Sevin, A., Larrouy, G., Dugoujon, J.M., 2006. Diversité génétique (allotypie GM et STRs) des populations Berbères et peuplement du nord de l'Afrique. *Antropo*, 11: 75-84.

Crubezy, E., Braga, J., Larrouy, G., 2002. *Anthropobiologie*. InterEditions, paris, 978-2-294-00656-2

Crubezy E., J., Braga and G., Larrouy., 2008. *Abrégé d'Anthropobiologie et d'évolution humaine*, Masson.

Debenath, A., Raynol, J. P., Texier, J. P., Ferembach, D., 1986. Stratigraphie, habitat, typologie et devenir de l'Atérien marocain: données récentes. *L'Anthropologie* 90: 233-246.

Desideri, J et Besse, M., 2012. De la dent à l'individu, du groupe humain à son histoire : le phénomène campaniforme dans le nord de l'Espagne. *Bull. Mém. Soc. Anthropol. Paris*, 24:37-50

Dutour, O., 1995. Le Peuplement moderne d'Afrique septentrionale et ses relations avec celui du Proche-Orient In: *Paléorient*. 1995, Vol. 21 N°2. pp. 97-109.

Dugoujon,, J.M., Lemaire, O., Guitard, E., Sevin, A., Larrouy, G., Moral, P., Sabir, B., Baali, A et Cherkaoui M., 2005. Diversité des allotypes des immunoglobulines (systèmes Gm et Km) d'une population berbère de la vallée de Tacheddirt (Haut Atlas, Maroc). Comparaison à d'autres populations africaines et européennes et histoire du peuplement de l'Afrique du Nord », *Bulletins et mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*, 17 (1-2) |

Ennafaa, H., Cabrera, V.M., Abu-Amero, K.K., Gonzalez, A.M, Amor, M.B., Bouhaha, R., Dzimir, N., Elgaaïed, A.B, and Larruga, J.M., 2009.

- Mitochondrial DNA haplogroup H structure in North Africa. *BMC Genet* 10:8.
- Ennafaa, H., Fregel, R., Khodjet-El-Khil, H., Gonzalez, A.M., Mahmoudi, H.A., et al., 2011. Mitochondrial DNA and Y-chromosome microstructure in Tunisia. *J Hum Genet* 56:734–741.
- Excoffier, L., Laval, G, and Schneider, S., 2005. Arlequin (version 3.0). An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1, 47-50.
- Excoffier, L., Smouse, P, and Quattro, J.M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-491.
- Fadhlaoui-Zid, K., Plaza, S., Calafell, F., Ben amor, M., Comas, D., Bennamar el gaaied, A., 2004. Mitochondrial DNA heterogeneity in Tunisian Berbers. *Annals of Hum. Genetics* 68, 3: 222–233.
- Fadhlaoui-Zid, K., Sanchez-Mazas, A., Buhler, S., Khodjet Ell khill, H., Ben Amor, M., Comas, D., Dugoujon, J.M., Slama, H., Ben Ammar Elgaaied, A. mel, 2009. Caractérisation génétique des isolats berbérophones du Sud tunisien par confrontation des résultats de trois marqueurs polymorphes. *Antropo*, 18: 73-86.
- Ferembach, D., 2001. Evolution du peuplement du Maghreb des origines au néolithique. Dans les Travaux du colloque : L'Homme Maghrebin et son environnement depuis 100 000 ans. Partie 2 : 123-129. ISBN : 9961-716-02-7. CNRPAH
- Ferré, M., 2009. Analyse bio-informatique du protéome mitochondrial et du spectre des mutations de la protéine opa1. Thèse de doctorat de l'université d'Angers.
- Giovannoni, L., Falchi, A., Piras, I.S., Amoros, J.P, Moral, P., Ghiani M.E., Calo', C.M., Paoli, G., Varesi, L., Vona, G., 2006, Structure génétique de la population Corse. *Antropo*, 11, 37-50.

- Gonder, M.K., Mortensen, H.M., Reed, F.A., De Sousa, A, and Tishkoff, S.A., 2006. Whole-mtDNA Genome Sequence Analysis of Ancient African Lineages. *Mol. Biol. Evol.* 24(3):757–768.
- Gourdine, J.F., 2006. Contribution de la biologie moléculaire du gène à l'étude du passé de l'humanité. Cas de l'Afrique ancienne et moderne. *Cahiers Caribéens d'Egyptologie*
- Hachid, M., 2000. Les premiers Berbères, Entre Méditerranée, Tassili et Nil, Editions Ina-Yas et Edisud, Alger et Aix-en-Provence.
- Harich, N., Costa, M.D., Fernandes, V., Kandil, M., Pereira, J.B., et al., 2010. The trans-Saharan slave trade - clues from interpolation analyses and high-resolution characterization of mitochondrial DNA lineages. *BMC Evol Biol* 10:138.
- Izidbih, OM. M., 2001. Maghreb et Andalous : continuité et rupture dans l'histoire. Publié en 2001 dans Les routes d'al-Andalus : patrimoine commun et identité plurielle par l'Organisation des Nations Unies, pour l'éducation, la science et la culture 7, Paris .SP
- Kaplan, J.C., Delpech, M., 2007. Biologie moléculaire et médecine (3^e Éd.). Edition flammarion. ISBN :978-2-8571-3499-2.
- Kasule S., 1998. The history atlas of Africa. Macmillan, New York.
- Kéfi R, Stevanovitch A, Bouzaid E, Béraud-Colomb E., 2005. Diversité mitochondriale de la population de Taforalt (12.000 ans BP – Maroc): Une approche génétique à l'étude du peuplement de l'Afrique du Nord. *Anthropologie XL III/1*, pp. 1-11.
- Keyser-Tracqui, C., Ricaut, F.X., Blandin, P, and Ludes, B., 2003. French allele frequencies and haplotypes of nine Y-specific STRs. *J Forensic Sci* 48(1): 242-4.
- Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, E., Rosa, A., Brehm, A., Pennarun, E., Parik, J., Geberhiwot, T., Usanga, E., Villems, R., 2004. Ethiopian mitochondrial

- DNA heritage: tracking gene flow across and around the gate of tears. *Am J Hum Genet.* 75:752–770.
- Krings, M., Salem, A.H., Bauer, K., Geisert, H., Malek, A.K., Chaix, L., Simon, Ch., Welsby, D., Di Rienzo, A., Utermann, G., Sajantila, A., Pääbo, S. and Stoneking, M., 1999. mtDNA analysis of Nile river valley populations: a genetic corridor or a barrier to migration? *American Journal of Human Genetics*, 64: 1166-1176.
- Kruskal, J., 1964. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, 29: 1-27.
- Kumar, S., Hedrick, P., Dowling, T., and Stoneking, M., 2000. Questioning evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Science*. 288(5473): p. 1931.
- Larrouy, G., 2004, La place de l'Anthropobiologie dans l'étude du peuplement Berbère. Affirmations, contradictions, conclusions. *Antropo*, 7 : 1-10.
- Lacan, M., 2011. La Néolithisation du bassin méditerranéen : Apports de l'ADN ancien. Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse III Paul Sabatier.
- Lévy-Hartmann, L., 2001. Identification génétique des populations ichthyiques marines de *Beryx splendens* de la zone économique exclusive de la Nouvelle-Calédonie et comparatif à l'échelle interocéanique. Thèse de doctorat de l'université de la Nouvelle-Calédonie.
- Liu, Z.J., 2007. Fish genomics and genetic analytical technologies, with examples of their potential applications in management of fish genetic resources. Policy paper for FAO's Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. In: Workshop on Status and Trends in Aquatic Genetic Resources---A basis for international policy, FAO Fisheries Proceedings 5 (eds. Devin Bartley, Brian Harvey, Roger Pullin), FAO, Rome, 145-179 pp.
- Loueslati, B.Y., Cherni, L., Khodjet-Elkhil, H., Ennafaa, H., Pereira, L., et al., 2006. Islands inside an island: reproductive isolates on Jerba island. *Am J Hum Biol* 18:149–53.

- Maca-Meyer, N., González, A.M., Pestano, J., Flores, C., Larruga, J.M, and Cabrera, V.M., 2003. Mitochondrial DNA transit between West Asia and North Africa inferred from U6 phylogeography. *BMC Genetics*, 4:15
- Macaulay, V., Richards, M., Hickey, E., Vega, E., Cruciani, F., Guida, V., Scozzari, R., Bonne-Tamir, B., Sykes, B and Torroni, A., 1999. The emerging tree of West Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs. *Am J Hum Genet* 64(1): 232-49.
- Mazières, S., Guitard, E., Sevin, A., Joly, N., Dugoujon, J.M., Salzano, F., Larrouy, G., Crubézy, E., 2006, Structure génétique et histoire biologique de trois populations amérindiennes de Guyane française. *Antropo*, 11 : 51-59.
- McBrearty, S., Brooks, A., 2000. The revolution that wasn't: a new interpretation of the origin of modern human behavior. *J Hum Evol.* 39:453–563.
- McDougall, I., Brown, F.H., Fleagle JG., 2005. Stratigraphic placement and age of modern humans from Kibish, Ethiopia. *Nature*. 433:733–736.
- McEvedy C. and Jones R., 1987. *Atlas of World population History*. Harmondsworth: Penguin Books.
- Mendisco, F., 2011. Apports de la paléogénétique à l'histoire du peuplement précolombien des Andes méridionales (Vème - XVème siècles). Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse III Paul Sabatier.
- Mullis, K.B., Faloona, F.A., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*;155:335-50.
- Olivieri, A., Achilli, A., Pala, M., Battaglia, V., Fornarino, S., et al., 2006. The mtDNA legacy of the Levantine early Upper Palaeolithic in Africa. *Science* 314:1767–70.
- Otoni, C., Primativo, G., Hooshyar Kashani, B., Achilli, A., Martinez-Labarga, C., et al., 2010. Mitochondrial haplogroup H1 in north Africa: an early holocene arrival from Iberia. *PLoS One* 5:e13378.

- Pereira, L., Macaulay, V., Prata, M.J., Amorim, A., 2003. Phylogeny of the mtDNA haplogroup U6. Analysis of the sequences observed in North Africa and Iberia. *International Congress Series* 1239 : 491–493
- Plaza, S., Calafell, F., helal, A., Bouzerna, N., Lefranc, G., Bertranpetit, J., Comas, D., 2003: Joining the pillars of Hercules: mtDNA sequences show multidirectional gene flow in the western Mediterranean. *Annals of Hum. Genetics* 67, 4: 312–328.
- Quintans, B., Alvarez-Iglesias, V., Salas, A., Phillips, C., Lareu, M.V., et al., 2004. Typing of mitochondrial DNA coding region SNPs of forensic and anthropological interest using SNaPshot minisequencing. *Forensic Sci Int* 140: 251–7.
- Quintana-Murci, L., 2000. Les révélations de l'ADN mitochondrial : une deuxième sortie d'Afrique d' Homo sapiens sapiens. *médecine/sciences* n° 3, vol. 16 : 450-1.
- Quintana-Murci, L., Semino, O., Bandelt, H.J., Passarino, G., McElreavey, K., Santachiara-Benerecetti, A.S., 1999. Genetic evidence of an early exit of Homo sapiens sapiens from Africa through eastern Africa. *Nat Genet.* 23:437–441.
- Rafaa, k., 1998. Les apports culturels de l'émigration andalouse au Maghreb du XIIIe au XIVe siècles. Thèse de doctorat en Histoire, université Bordeaux 3.
- Rando, J.C., Pinto, F., Gonzalez, A.M., Hernandez, M., Larruga, J.M., Cabrera, V.M. and Bandelt, H.-J., 1998. Mitochondrial DNA analysis of northwest African populations reveals genetic exchanges with European, near-eastern, and sub-Saharan populations. *Annals of Human Genetics*, 62: 531-550.
- Razafindrazaka, H., 2010. Le peuplement humain de Madagascar : Anthropologie génétique de trois groupes traditionnels. THÈSE du doctorat de l'université de toulouse.

- Reynolds, J., Weir, B etCockerham, C., 1983. Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, 105: 767-779.
- Rhouda, T., Martinez-Redondo, D., Gomez-Duran, A., Elmtili, N., Idaomar, M., et al., 2009. Moroccan mitochondrial genetic background suggests prehistoric human migrations across the Gibraltar Strait. *Mitochondrion* 9:402–7.
- Rhouda, T., Dahmani, Y., Elmtili, N, Ruiz-Pesini, E., Idaomar, M., Montoya, J., Diez-Sanchez, C., Lopez-perez, M.J., 2006.Human mitochondrial DNA as a molecular tool for population studies; the case of North Morocco.Congrès international de biochimie, Agadir.
- Rohland, N., Siedel, H, and Hofreiter, M., 2010.A rapid column-based ancient DNA extraction method for increased sample throughput.*MolEcolResour* 10:677-83.
- Robino, C., Crobu, F., Di Gaetano, C., Bekada, A., Benhamamouche, S., Cerutti, N.,..., Tore, C., 2008. Analyse of Y- chromosomal SNP haplogroups and STR haplotypes in an algerian population sample.*International journal ollegalmedecin*, 120 (5), 315-318.
- Saitou, N, etNei, M., 1987. The Neighbor-Joining Method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.
- Schanfield, M.S., Ferrell, R.E., Hossaini, A.A., Gerald Sandler, S, and Stevenson, J.C., 2008.Immunoglobulin allotypes in Southwest Asia: populations at the crossroads. *Am J Hum Biol*20, 671-682.
- Schneider, S., Roessli, D., and Excoffier, L., 2000, Arlequin ver. 2.000.A Software for Population Genetics Data Analysis (Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland).

- Skaletsky, H., Kuroda kawaguichi, T., Minx, P.J., Kordum, H.S., Hillier, L., Brown, L.G., ..., Page, D, C., 2003. The male –specific region of the human chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, 423 (6942), 825-37.
- Stevanovitch, A., Gilles, A., Bouzaid, E., Kefi, R., Paris, F., Gayraud, R.P., Spadoni, J.L, El-Chenawi L and eraud-Colomb, E. B´., 2003. Mitochondrial DNA Sequence Diversity in a Sedentary Population from Egypt. *Annals of Human Genetics*, 68: 23–39
- Swynghedauw, B., et Silvestre, J.S., 2008. Aide-mémoire Biologieetgénétiquemoléculaires. 3° edDunod, Paris. ISBN 978-2-10-053798-3
- Templeton, A., 2002. Out of Africa again and again. *Nature* 416: 45–51.
- Thèves, C., Keyser-Tracqui, C., Crubézy, E., Salles, J.P., Ludes, B., Telmon, N., 2006. Detection and Quantification of the Age-Related Point Mutation A189G in the Human Mitochondrial DNA. *Journal of Forensic Sciences*. 51, 865–873.
- Tishkoff, S.A., Dietzsch, E., Speed, W., et al., (11 co-authors). 1996. Global patterns of linkage disequilibrium at the CD4 locus and modern human origins. *Science*. 271:1380–1387.
- Trock, D, 2009. L'Andalousie, le rêveperdu,Clio.
- Wendorf, F, Schild R, Close AE, Schwarcz HP, Miller GH, et al. (1994) A chronology for the middle late Pleistocene wet episodes in the eastern Sahara. In: Bar-Yosef O, Kra RS (eds) Late Quaternary Chronology and Paleoclimates of the Eastern Mediterranean. *Journal of Radiocarbon in Association with the American School of Prehistoric Research*, Tucson.pp 147–168
- White, T., Asfaw, B., DeGusta, D., Gilbert, H., Richards, G., Suwa, G., Howell, F., 2003. Pleistocene Homo sapiens from Middle Awash, Ethiopia.*Nature*. 423:742–747.