

Haplogroupes de l'ADN mitochondriale et diversité génétique au sein de la population béninoise : Etat des lieux

Mitochondrial DNA haplogroups and genetic diversity within the Beninese population:

State of the art

Azonbakin AS¹, Rosa A^{2,3}, Cruz C², Brehm A^{2,3} et Lalèyè A¹

1- Laboratoire d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale. Faculté des Sciences de la Santé-Université d'Abomey-Calavi 01 BP 188 Cotonou-Benin

2- Human Genetics Laboratory, University of Madeira, Campus of Penteada, 9020-105 Funchal, Portugal.

3 – Faculty of Life Sciences, University of Madeira, Campus of Penteada, 9020-105 Funchal, Portugal.

Correspondance : Dr Simon AZONBAKIN, Médecin Biologiste, Laboratoire d'Histologie Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale, Université d'Abomey-Calavi. , Tel : 00229 97130061 , e-mail : azandeg@yahoo.fr

RESUME

Introduction : L'ADNmt présente en plusieurs copies dans les mitochondries, uniquement d'origine maternelle est le marqueur génétique uniparental utilisé pour l'étude des lignées maternelles. Le polymorphisme génétique de l'ADNmt définit donc des signatures spécifiques à chaque population appelées haplogroupes. Le macrohaplogroupe L divisé en plusieurs haplogroupes de L0 à L6 est souvent limité à la zone sub-saharienne. L'objectif de cette étude était de déterminer la fréquence des haplogroupes de l'ADNmt au sein de la population béninoise. **Méthodes** : Par la technique de séquence de nouvelle génération (NGS) nous avons déterminé les différents haplotypes de l'ADNmt au sein d'un échantillon de 576 Béninois appartenant à 25 ethnies. **Résultats** : Les haplotypes les plus fréquents sont L3, L2 et L1 (40,28% , 37,85 % et 18,06 % respectivement) . Il a également été mis en évidence certains sous haplotypes habituellement associés à d'autres populations (I, L0, U6a3c....). Dans l'ensemble la distribution des haplogroupes d'ADNmt dans notre étude est similaire à celle publiée pour les populations ouest africaines. **Conclusion** : Les résultats de cette étude traduisent le métissage important de la population actuelle du Bénin entre des peuples originaires d'autre contrées et la population native du Bénin.

SUMMARY

Introduction: The mtDNA present in several copies in the mitochondria, only of maternal origin, is the uniparental genetic marker used for the study of maternal lineages. The genetic polymorphism of mtDNA therefore defines signatures specific to each population called haplogroups. Macrohaplogroup L divided into several haplogroups from L0 to L6 is often limited to the sub-Saharan zone. The aim through this study was to determine the frequency of mtDNA haplogroups within the Beninese population. **Methods**: Using the next generation sequence technique (NGS) techniques we have determined the different mtDNA lineages in a sample of 576 Beninese belonging to 25 ethnic groups. **Results**: The most frequent haplogroups are L3, L2 and L1 (40.3%, 37.9% and 18.1% respectively). Some sub-haplogroups usually associated with other populations have also been highlighted (I, L0, U6a3c....). Overall the distribution of mtDNA haplogroups in our study is similar to that published for West African populations. **Conclusion**: These results reflect the significant miscegenation of the current population of Benin between peoples from other countries and the native population of Benin.

INTRODUCTION

La question des origines humaines et particulièrement celle de la diversité a toujours été une préoccupation de recherche et différentes disciplines comme la linguistique, l'histoire, l'archéologie s'y sont intéressées depuis quelques décennies. De nos jours, les marqueurs génétiques uniparentaux sont des outils fiables et modernes d'étude de la population humaine. Parmi les différents marqueurs génétiques disponibles actuellement, les plus informatifs sont les séquences d'ADN héritées d'un seul des parents : l'ADN mitochondrial (ADNmt), hérité de la mère, et les polymorphismes du chromosome Y, hérités du père. L'ADNmt est présente en plusieurs copies dans les mitochondries et est uniquement d'origine maternelle. Sa séquence est connue depuis 1981 [1]. L'ADNmt mute environ dix fois plus que les gènes nucléaires et cette particularité permet d'observer une quantité plus importante de variations de séquences polymorphes chez les individus. Dans les années 1980, c'est à partir d'un polymorphisme de restriction Hpa I (mtSNP 3592) que l'équipe de Wallace a mis en évidence pour la première fois, qu'une variation de l'ADNmt était corrélée avec une ethnie et une origine géographique particulières [2]. L'étude a montré que plus de 90 % des Africains possédaient le site Hpa I (nt 3592) contrairement aux Asiatiques ou Européens qui ne le possédaient pas. Ensuite, l'utilisation d'autres polymorphismes de restriction a confirmé la relation entre la variation de l'ADNmt et l'origine géographique des individus examinés. Les haplogroupes/haplotypes dépendent donc de l'origine ethnique ou géographique [3]. Ainsi s'établit une véritable phylogéographie des différentes lignées d'ADNmt. Le macrohaplogroupe L divisé en plusieurs haplogroupes de L0 à L6 est souvent limité à la zone sub saharienne [4, 5]. Une précédente étude a été menée au sein de la population béninoise dans un échantillon de 193 individus issues des ethnies Bariba, Berba, Dendi et Fon [6]. Ils ont retrouvé que c'est l'haplotype L2 qui a une fréquence importante au sein de ces populations. De façon précise ils ont pu retrouver une fréquence des sous classes L2a, L2b et L2c, classiquement retrouvée au sein de la population de l'Afrique occidentale. Les résultats de cette étude ont permis de retracer certaines oralités de ces

ethnies et la diversité de la population béninoise. La population béninoise est diversifiée et composée de plus d'une soixantaine d'ethnies. Les ethnies béninoises dispersées sur l'ensemble du territoire ont des histoires différentes avec un peuplement différent. La détermination des marqueurs moléculaires au sein de la population béninoise pourrait également permettre de tracer le flux des esclaves issus de la côte béninoise et qui ont constitué une partie de la population noire d'Amérique du Nord et d'Amérique latine. Afin de mieux comprendre les origines et le pool génétique de la population béninoise, il sera procédé à la détermination de la fréquence des haplogroupes d'ADN mt au sein de la population béninoise.

METHODES

Il s'agissait d'une étude prospective transversale à visée descriptive qui a été réalisée de janvier à décembre 2021. L'étude a permis de couvrir sept départements du Bénin (Figure 1).

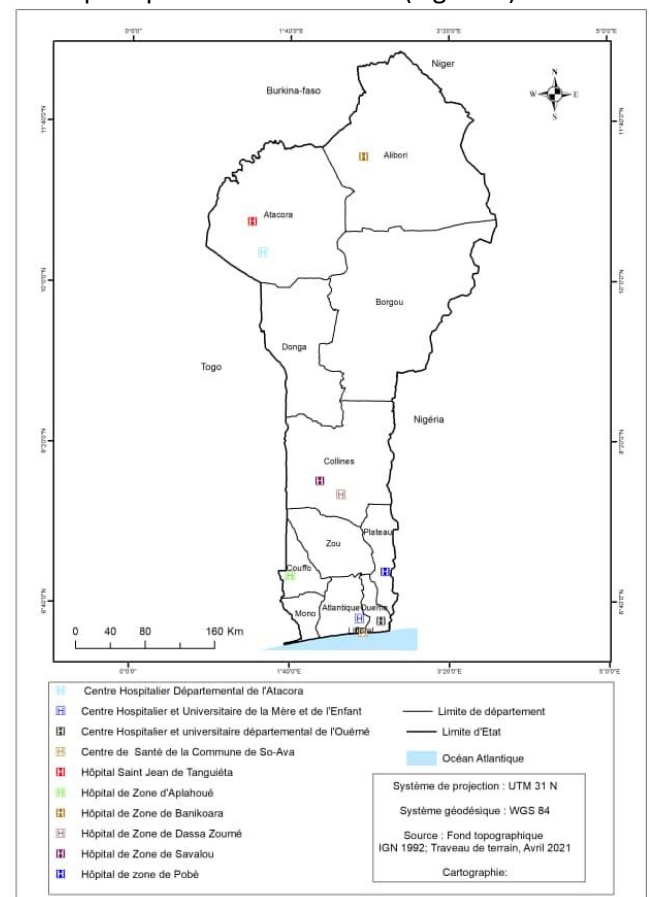


Figure 1 : Répartition géographique des sujets recrutés

L'échantillonnage a été réalisé suivant la méthode empirique des quotas, la variable de quota étant l'ethnie. Les échantillons ont été recueillis dans les centres départementaux de banque de sang ou dans les laboratoires des hôpitaux départementaux ou de zone. Après le consentement des patients, la fiche d'enquête est remplie lors d'une entrevue et on avait été tenu compte de leur origine géographique et ethnique.

Puis il a été procédé à un prélèvement sanguin d'environ 2 à 5 ml de sang veineux, soit lors des séances de don de sang, soit lors des prélèvements pour analyse de biologie médicale. Le nombre d'individu recrutés par ethnie est récapitulé dans le tableau 1. Ces échantillons sanguins ont servi à une extraction d'ADN par la méthode Phénol-Chloroforme [7]. La recherche des haplogroupes de l'ADNmt a été réalisée par séquençage de nouvelle génération (NGS) avec la technologie Illumina MiSeq technology. Après le séquençage du génome complet de l'ADNmt, les données ont été alignées grâce au logiciel Bio Edit[®] 7.2, puis arrangé avec TexPad[®] 8.9.0. La détermination des haplogroupes de l'ADNmt a été effectuée avec le logiciel Haplogrep[®] 2.4.0.

Les fréquences alléliques ont été calculées au moyen d'Excel. Cette étude a reçu l'avis favorable du Comité d'Ethique de l'ISBA (CER-ISBA), sous le numéro 128/12/05/2020.

RESULTATS

Le séquençage complet de l'ADNmt a permis de mettre en évidence 168 haplotypes chez les 576 individus de la population d'étude. La plupart des haplogroupes appartenaient au macrohaplogroupe L. Les haplogroupes les plus fréquents étaient L3, L2, L1 et L0 avec les fréquences respectives de 40.3 %, 37.9 %, 18.1% et 2,4 %. D'autres rares haplotypes comme I, et U6 ont été retrouvés chez une et deux personnes respectivement. La fréquence globale des macrohaplogroupes au sein de la population béninoise est représentée sur la Figure 2.

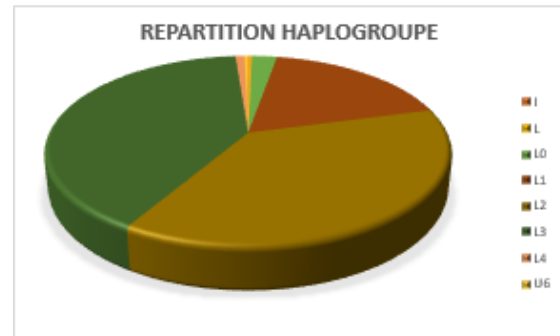


Figure 2 : Répartition des sujets selon les grands haplotypes

En dehors des macrohaplogroupes L0, L4, U et I, présents chez un nombre restreint d'ethnies de l'échantillon, les autres haplogroupes L1, L2 et L3 étaient présents dans presque toutes les ethnies.

L'haplogroupe L0, présente chez (n= 14, 2,4%) de la population comprend essentiellement le sous haplogroupes L0a1a (n=13), et L0a1b (n=1). (voir Figure 3).

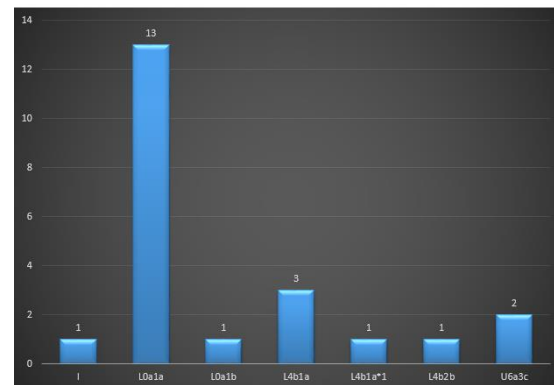


Figure 3 : Type et nombre de sous haplotype I, U, L0 et L4

Il était présent chez 4 Dendi, 2 Idatcha, 2 Adja, 1 Bariba, 1 Fon, 1 Goun, 1 Nago, 1 Peulh et 1 Wémé.

L'haplogroupe L4 présente chez (0,9 %, n=5), présente les sous haplogroupes L4b1a (3), L4b1a*1 (1) et L4b2b (1). Il était présent chez 1 Adja, 1 Aizo, 1 Peulh, et 1 Yoruba. Les différents sous haplogroupes L0, L4, U et I sont présentés sur la figure 3.

L'haplogroupe L1 (18,05 %, n=104) présente chez presque toutes les ethnies possédait les sous haplogroupes représentés sur la figure 4. Les Haplogroupes L2 et L3 sont présentés sur les figures 4 et 5.

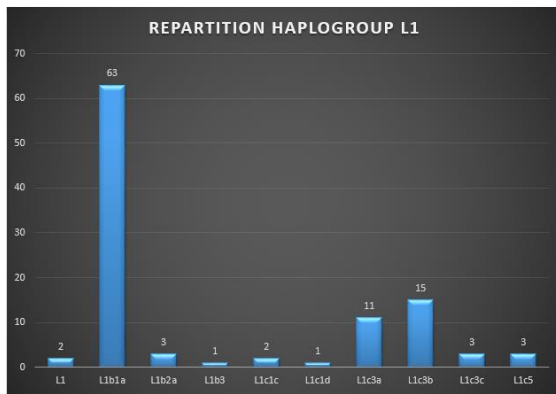


Figure 4 : Type et nombre de sous haplotype L1

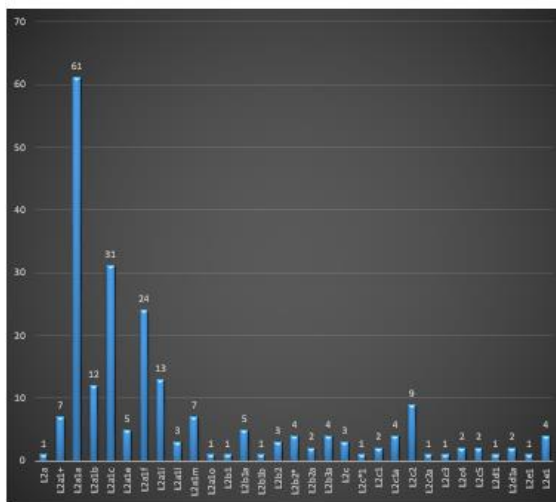


Figure 5 : Type et nombre de sous haplotype L2

De façon générale, les subhaplogroupes, les plus fréquents étaient L1b1a (10,9%, n=63) , L2a1a (10,6%, n=61) , L3b1a (6,9%, n=40) , L3e2a (6,9%, n=40) et L3e2b (6 %, n=35). Le subhaplogroupe U6a3c était présent chez un Fon et un Ditamari tandis que le Macrohaplogroupe I était présent chez un Otamari.

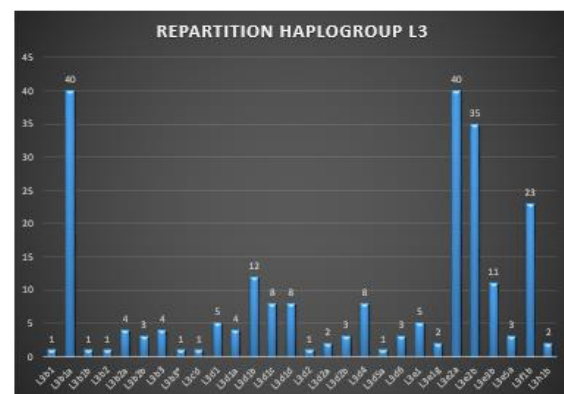


Figure 6 : Type et nombre de sous haplotype L3

DISCUSSION

L'espèce humaine est l'une des espèces les plus mobiles de la planète. Différents outils et preuves permettent de tracer ses migrations au moyen de preuves tangibles et solides comme l'ADNmt. L'archéologie, notamment l'archéogénétique fournit peu d'informations à cause de la mauvaise qualité du matériel génétique due aux aléas climatiques des pays tropicaux [8]. Les variations de l'ADNmt sont parfois corrélées avec l'origine ethnique, géographique ou à des groupes linguistiques spécifiques [5, 9]. Les premières recherches des haplotypes de l'ADNmt étaient effectuées par PCR-RFLP sur la région D-Loop de l'ADNmt [10]. Depuis quelques années, avec la vulgarisation du Séquençage de Nouvelle Génération (NGS), les études sont faites par cette technique avec un séquençage complet de toute la molécule d'ADNmt. Tel est le cas dans cette étude. Afin d'harmoniser la nomenclature, depuis les travaux de Torroni et al. en 1993, qui a décrit les 04 premiers haplogroupes A,B,C,D chez les indiens américains, différents travaux se sont poursuivis et une harmonisation globale a été effectuée depuis quelques années [3, 11]. Le logiciel Haplogrep^R disponible en ligne est un bon outil pour la détermination de ces haplogroupes (<https://haplogrep.i-med.ac.at/>). Auparavant, la détermination était réalisée avec des méthodes manuelles moins automatisées [12]. Les haplogroupes les plus fréquents dans la population (L1 , L2, L3) appartiennent , aux haplogroupes africains L comme l'avaient rapportés d'autres auteurs [3]. Le sous-groupe L1b était concentré dans la région occidentale et

centrale de l'Afrique, notamment chez les Wolof du Sénégal, les Peuls du Burkina-Faso, au Sud du Cameroun et au Tchad [13, 14]. L2a est le plus fréquent et le plus répandu en Afrique allant jusqu'à 40 % chez les Tuareg du Niger/Nigéria et au Mali, chez les pygmés du Gabon, au Mozambique [4,5,13–15]. En 2015, Une étude avait été réalisée sur les lignées maternelles de 193 béninois appartenant aux ethnies Bariba, Berba, Dendi et Fon [6]. En séquençant la région D-Loop mtDNA, il a été mis en évidence une importante diversité génétique de la population béninoise avec ($H = 0.999$), avec 179 haplotypes découverts chez les 193 personnes. La plupart des haplogroupes appartenaient au macrohaplogroupe L. Il avait noté une prédominance de l'haplogroupe L2, alors que dans la présente étude c'est l'haplogroupe L3 qui était prépondérante. Ceci s'explique probablement par la petite taille de l'étude de Primativo qui avait porté sur 4 ethnies (Bariba, Berba, Dendi et Fon), alors que cette présente étude a concerné 25 ethnies. Cette présente étude étant plus significative, il peut être retenu que L3 était plus important dans la population béninoise. Mais en ce qui concerne le sous haplogroupe L2a, il était prédominant à 28.65% comme c'était le cas dans l'étude de Primativo (23.3%). Par ailleurs, cette étude a permis de retrouver des haplotypes qui n'étaient pas originaires de l'Afrique de l'Ouest, notamment L3e classiquement associé à la migration Bantoue [3, 16, 17]. Cette présence serait probablement due à la traite négrière, le Golfe du Bénin étant un point de regroupement et de départ des esclaves de plusieurs régions africaines [18]. L0, initialement originaire de l'Afrique de l'Est a été retrouvé au sein de la population beaucoup plus chez les Dendi, Adja et Idatcha suggérant ainsi un possible influence de peuples de la corne de l'Afrique au sein de la population béninoise, probablement lors des raids d'islamisation au Nord du Bénin. Ces haplogroupes de la population béninoise sont également retrouvés au sein de la population afro américaine, confirmant ainsi le rôle important joué par les côtes béninoises dans la traite négrière. En effet, dans une étude réalisée au sein de 343 individus afro américaine, il a été mis en évidence les haplogroupes déjà décrits au sein de populations africaines : L1a, L1b, L1c, L2a, L2b, L2c, L3b, L3d, L3e1, L3e2, L3e3,

L3e4, et L3f [19]. Cette ressemblance illustre parfaitement le rôle du Golfe de Bénin dans la traite négrière des noirs vers les Amériques entre les 16^{ème} et 19^{ème} siècles. La présence du subhaplogroupe U6a3c chez un Fon et un Ditamari fait évoquer un contact entre ces deux ethnies et des populations issues d'Afrique du Nord. En effet, U6 est un haplogroupe typiquement originaire de l'Afrique du Nord et en partie de l'Asie [20]. Il y a donc eu un retour de populations de l'Asie vers l'Afrique, probablement via la péninsule arabique. En effet, la région du Nord du Bénin a subi de nombreuses vagues d'islamisation par des peuples venant du Sahel et probablement de la péninsule arabique. Par contre la présence de l'haplogroupe eurasién, de l'haplogroupe I chez un Otamari fait évoquer des contacts entre les agropastoralistes du Nord du Bénin et les populations d'origine Européenne. En effet, l'haplogroupe I est considéré comme étant Européen, et le contact s'est probablement déroulé durant la colonisation [21].

CONCLUSION

Si la plupart des haplogroupes de l'ADNmt au sein de la population béninoise appartiennent au Macrohaplogroupe L, il est important de mentionner que des haplogroupes eurasiens et européens étaient retrouvés signant ainsi une diversité importante de la population béninoise. Cette étude, préliminaire sera complétée par le calcul de l'âge d'apparition des mutations grâce à l'horloge moléculaire de l'ADNmt. Aussi, les polymorphismes du Chromosome Y de ces populations permettront de mieux étudier les lignées paternelles de ces différentes ethnies.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les individus ayant participé à cette étude. Nous remercions également la République du Portugal pour avoir financé ce projet à travers la fondation Portugaise de Recherche sous le FCT 30316/02/SAICT/2017.

REFERENCES

1. Chisholm, Brian AP. The History and Geography of Human Genes. By L. Luca Cavalli-Sforza Paolo Menozzi and Alberto Piazza. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 1994. Vol. 54, The Journal of Asian Studies. 1995. 490–492 p.
2. Ballinger S.W., Theodore G. Schurr.,

- Antonio Torroni., Y YG, J.A. Hodge., K.Hassan. Southeast Asian Mitochondrial DNA Analysis Reveals Genetic Continuity. *Genetics*. 1992;130:139–52.
3. Rosa A, Brehm A. African human mtDNA phylogeography at-a-glance. *J Anthropol Sci*. 2011;89:25–58.
4. Salas A, Richards M, Lareu MV, Scozzari R, Coppa A, Torroni A, et al. The African Diaspora: Mitochondrial DNA and the Atlantic Slave Trade. *Am J Hum Genet*. 2004;74(3):454–65.
5. Salas A, Richards M, De la Fe T, Lareu MV, Sobrino B, Sánchez-Diz P, et al. The making of the African mtDNA landscape. *Am J Hum Genet*. 2002;71(5):1082–111.
6. Primativo G, Ottoni C, Biondi G, Serafino S, Martínez-Labarga C, Larmuseau MHD, et al. Bight of Benin: a Maternal Perspective of Four Beninese Populations and their Genetic Implications on the American Populations of African Ancestry. *Ann Hum Genet*. 2017;81(2):78–90.
7. Sambrook J, Russell DW. Isolation of DNA Fragments from Polyacrylamide Gels by the Crush and Soak Method. *Cold Spring*. 2006.
8. Phillipson DW. African Archaeology. *Can J African Stud / Rev Can des Études Africaines*. Cambridge. 1987;21(1):DOI: 10.2307/485116.
9. Watson E, Forster P, Richards M, Bandelt H. Mitochondrial Footprints of Human Expansions in Africa. *Am J Hum Genet*. 1997;61:691–704.
10. Rosa A, Kivisild T, Metspalu E, Villems R. MtDNA Profile of West Africa Guineans : Towards a Better Understanding of the Senegambia Region. *Ann of Human Genet*. 2004;68:340–52.
11. Torroni A, Neelt J V, Barrantes R, Schurr TG, Wallace DC. Mitochondrial DNA " clock " for the Amerinds and its implications for timing their entry into North America. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(February):1158–62.
12. Heinz T, Pala M, Gómez-Carballa A, Richards MB, Salas A. Updating the African human mitochondrial DNA tree: Relevance to forensic and population genetics. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2017;27:156–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.12.016>
13. Rosa A, Ornelas C, Jobling MA, Brehm A, Villems R. Y-chromosomal diversity in the population of Guinea-Bissau : a multiethnic perspective. *BMC Evol Biol* 2. 2007;11:1–11.
14. Brehm A, Pereira L, Bandelt HJ, Prata MJ, Amorim A. Mitochondrial portrait of the Cabo Verde archipelago: The Senegambian outpost of Atlantic slave trade. *Ann Hum Genet*. 2002;66(1):49–60.
15. Quintana-Murci L, Quach H, Harmant C, Luca F, Massonnet B, Patin E, et al. Maternal traces of deep common ancestry and asymmetric gene flow between Pygmy hunter-gatherers and Bantu-speaking farmers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(5):1596–601.
16. S KH. The Atlantic Slave Trade. Cambridge. Press Cambridge University, editor. 1999. 365 p.
17. Anderson-Mann S (2006). Phylogenetic and phylogeographic analysis of African mitochondrial DNA variation. 2006;Available from: <http://www.biologie.leeds.ac.uk/Bi>.
18. Patin E, Lopez M, Grollemund R, Verdu P, Harmant C, Quach H, et al. Dispersals and genetic adaptation of Bantu-speaking populations in Africa and North America. *Science* (80-). 2017;356(6337):543–6.
19. Johnson DC, Shrestha S, Wiener HW, Makowsky R, Wilson CM, Aissani B. Mitochondrial DNA diversity in the African American population. *Mitochondrial DN*. 2015;26(3):445–51.
20. Plaza S, Calafell F, Amor M Ben, Comas D, El AB. Mitochondrial DNA Heterogeneity in Tunisian Berbers. *Ann Hum Genet*. 2004;68:222–33.
21. Eupedia. Haplotype lin Europe [Internet]. 2022. Available from: https://eupedia.com/europe/Haplogroup_I1_Y-DNA.shtml