

VARIABILITE PHENOTYPIQUE DES POPULATIONS NATURELLES
DE LUPINS EN ALGERIE

Par A. A I N O U C H E

Institut des Sciences de La Nature
U.S.T.H.B. Bab-Ezzouar A L G E R

RESUME

Les **Lupins** (genre *Lupinus*) sont aujourd'hui l'objet d'un intérêt croissant au niveau mondial en tant que **ressource** phytogénétique, particulièrement pour leur richesse en protéines.

Parmi les Cinq(51 espèces spontanées signalées en **Algérie**, des populations de provenances géographiques diverses se rapportant à *L. micranthus*, *L. angustifolius* et *L. luteus* sont étudiées sous divers aspects: **morphologique** et **biochimique**.

Les résultats obtenus mettent en évidence une **variabilité** phénotypique inter et intraspécifique.

Parmi Les Légumineuses qui font l'objet d'un **intérêt** croissant ces **dernières** années, en tant que ressources phytogénétiques nouvelles, certaines **espèces** du genre *Lupinus* *L.* de La région méditerranéenne occupent une place de premier **p l a n** .

Cet **intérêt** pour les **Lupins** est lié essentiellement à La richesse de Leurs graines en protéines (jusqu'à 40% et **plus**) et à Leurs diverses **utilisations possibles** principalement

pour: l'alimentation des animaux (fourrage vert, ensilage, concentrés **protéiques**) et l'amélioration des sols pauvres, sableux et acides de **régions** aux conditions le plus souvent défavorables à la culture du Soja (**LAVOINE** et **MOTTE**, 1950; **HUYGHE**, 1983; **CERLETTI**, 1983).

A la suite des premiers **succès** enregistrés au cours de la **première moitié** de notre **siècle**, dans la **sélection** de **variétés** pauvres [$(< 0,2 \%)$ ou **dépourvues** ($< 0,01 \%$)₃ en alcaloïdes, en Europe du Nord et de l'**Est**, puis en Australie, trois **espèces** ont aujourd'hui le statut de plantes **cultivées** (*L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus*); une **quatrième** est en voie de l'obtenir (*L. cosentinii*) (**GLADSTONES**, 1984).

En **1980**, a été **créé** L'Association Internationale du **Lupin**. Depuis, quatre **conférences** internationales sur Le **Lupin** se sont tenues, dont les Actes font Le point sur les différents aspects scientifiques, technologiques et **économiques**.

Dans ce cadre, une importance **particulière** est accordée aux **études** Biosystématiques **développées** notamment ces quinze dernières **années** sur les **espèces** de l' "Ancien Monde" (Pourtour **Méditerranéen**, Afrique, Europe) du genre *Lupinus* L. (**GLADSTONES**, 1974; **PAZY** et col., 1977).

L'amélioration **génétique** plus poussée de **cultivars** ou **d'écotypes** naturels en agriculture rend **nécessaire** une telle approche **biosystématique** pour:

- **clarifier** la taxonomie et les relations entre taxons comme base établir les possibilités de croisement:

-- évaluer la variabilité génétique des populations naturelles (pool de gènes) en relation avec leurs potentialités adaptatives dans le but de sélectionner des lignées et des caractères économiquement intéressants.

Parmi les douze espèces, toutes annuelles, de l' "Ancien Monde", cinq d'entre elles poussent en Algérie:

- . **Lupinus albus L.**, subspontanée dans l'Algérois;
- . **Lupinus angustifolius L.**; **L. micranthus Guss.** (syn. **L. hirsutus L.**) et **L. luteus L.**, spontanées sur tout le Nord;
- . **L. cassilicus Maire**, endémique au Tassili (QUEZEL et SANTA, 1962).

Mis à part une étude sur la caryologie de cette dernière espèce (EICHORN, 1949), la presque totalité des travaux sur les Lupins en Algérie se réduit à quelques notes de systématique classique. Quelques essais d'introduction et d'utilisation ont été tentés, parfois avec succès, dans les années 1950 par des chercheurs de l'Institut National Agronomique d'El-Harrach, mais n'ont malheureusement pas été poursuivis (LAUMONT et CHEWASSUS, 1958).

Nous avons entamé, pour notre part, une étude biosystématique du genre **Lupinus L.** en Algérie, dans la perspective de l'évaluation de ses potentialités génétiques. Nous nous sommes intéressés tout d'abord à l'analyse de quelques caractères morphologiques et biochimiques de populations se rapportant aux trois espèces spontanées les plus largement répandues en Algérie du Nord: **L. micranthus**, **L. angustifolius** et **L. luteus**. Ceci dans le but de réaliser une première évaluation de la diversité des populations naturelles.

Les données que nous présentons ici ne constituent qu'une partie de ce travail en cours. Elles concernent l'analyse de la seule fraction Albumine des **protéines** des graines (**AINOUCHE** et **CITHAREL**, non **publié**).

MATERIEL ET METHODES

Le Matériel végétal

10 populations se rapportant aux espèces *L. microrhynchus*, *L. luteus* et *L. angustifolius* ont été échantillonnées dans divers milieux (tableau 1).

Les analyses effectuées portent sur les cotylédons de graines **mûres** récoltées la même année et conservées dans les mêmes conditions.

Extractions des Protéines

Les **cotylédons** des graines sont **broyés** à sec. La farine est **délipidée** 3 fois à l'acétone et au froid (4°C), par agitation (1 heure) et centrifugation (30 mn, 19 000 g).

Les albumines sont extraites de la farine **délipidée** (agitation - centrifugation 3 fois) par un tampon acétate 0,1 M de pH 4,5. A ce pH, les albumines sont **solubilisées**, mais pas les globulines. Ces dernières sont à leur tour extraites du culot avec un tampon phosphate 0,1 M de pH 6,9 additionné de KCl 1,5 M (**LICHTENFELD** et col., 1979).

Les albumines et les globulines sont **dosées** par la méthode de **LOWRY** modifiée par **HARTREE** (1972).

T A B L E A U 1 : @Liste des stations échantillonnées et teneur en albumine des cotylédons des graines de 10 populations de Lupins.

ESPECES	POPULATION	ORIGINE	ALBUMINE EN % des COTYLEDONS	ALBUMINE ALBUMINE + GLOBULINE
<u>L. micranthus</u>	P 2	Bs nem (Alger)	4,3	20,5
	P 23	Di. Fouzegza (Versant Nord)	4,4	21,
	P 22	Berrouaghia	3,8	13,7
	P 5	Boutlélis	3	11,4
	P 27B	Mansourah (Tlemcen)	3 . 3	14,3
<u>L. luteus</u>	P 15	Zéralda	<u>5,7</u>	23,8
	P 21	El-Karma	3,6	15,7
	P 26	Boutlélis	15	<u>26,9</u>
<u>L. angustifolius</u>	P 6	Bouchaoui	: 1,9	9-1
	P25	Boutlélis	2,4	16,4

Préparation des Extr'aits à analyser

Chaque extrait albuminique récupéré (par précipitation) est repris par un tampon Tris-HCl 0,5 M pH 6,8 et traité au Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) et au 2-mercaptoéthanol à chaud en vue de dissocier toutes Les protéines en Leurs sous-unités élémentaires.

Electrophorèse

Elle est réalisée sur gel de polyacrylamide en plaque verticale, additionné de SDS (SDS - PAGE) en système discontinu de concentration de gel et de pH (gel de concentration 5%, pH 6,8; gel de séparation 12,5, pH 8,8) (LAEMMLI, 1970).

Les protéines sont révélées par le bleu de Coomassi.

Exploitation des Résultats Electrophorétiques

Pour faciliter L'exploitation des électrophorégrammes (ou protéinogrammes) obtenus (Figure 1), nous Les avons schématisés en figure 2. Ceci permet de simplifier La comparaison visuelle bande à bande des populations entre elles d'une part, et d'autre part d'utiliser Les méthodes d'évaluation des distances génétiques entre les populations (VAUGHAN et DENFORD, 1968) et de Leur classification hiérarchique (DAGNELIE, 1982). La mesure de distance entre 2 populations est mesurée par La formule de JACCARD (1908):

$$\% \text{ de SIMILITUDE} = \frac{\text{Nombre de bandes communes}}{\text{Nombre de bandes communes} + \text{Nombre de bandes différentes}} \times 100$$

Une matrice des similitudes est ainsi obtenue (Tableau 3).

Un Dendrogramme (classification hiérarchique des populations) est réalisé à partir de la matrice des similitudes en utilisant la méthode agglomérative de SNEATH (1957).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

▪ Analyse quantitative (Tableau 1)

Les pourcentages d'albumines dans les cotylédons varient de 1,9 à 5,7%; les plus bas sont notés chez *L. angustifolius* (1,9 et 2,4%) et les plus élevés chez *L. luteus* (5 et 5,7%)

Relativement aux protéines totales extraites (albumines + globulines), la proportion des albumines varie de 9,1 à 26,9%. Là aussi le plus bas taux est enregistré pour une population de *L. angustifolius* (P6: 9,1%) et les plus forts chez *L. luteus* (P 1'5: 23,8 %; P 26,9%).

Ainsi, les albumines représentent une faible proportion des protéines des graines. De plus, une certaine variabilité quantitative semble exister.

Ces résultats se recourent avec ceux rapportés par CERLETTI (1983). Utilisant une technique différente, VARASUNDHASOROTH et BARNES (1985) montrent au contraire que les albumines constituent une partie relativement importante des protéines des graines des Lupins (de 14,3% pour *L. angustifolius* à 51,9 % pour *L. consentinii*). Dans le même temps, ils soulignent les différences quantitatives entre les espèces et suggèrent sur cette base 2 groupes: un premier constitué par *L. angustifolius* et *L. albus* ayant moins de 20% d'albumine par rapport à l'azote total, et, un deuxième forme par *L. luteus*, *L. pilosus* et *L. consentinii* avec plus de 30% d'albumine.

- Analyse qualitative

L'examen de l'électrophorogramme (Fig. 1) des 10 populations étudiées met en évidence la diversité des sous-unités albuminiques (correspondantes aux bandes) dont la majorité a un P.M. compris entre 10 000 et 94 000 Daltons.

Certaines bandes mineures ainsi que la majorité des sous-unités de P.M. inférieur à 20 100 (difficilement exploitables) ont été négligées dans le schéma (Figure 2).

L'analyse simultanée des figures 1, 2 et 3 et du tableau 2 permet de comparer entre eux les profils protéiques et d'estimer les similitudes inter et intra spécifiques.

- Variation inter-spécifique

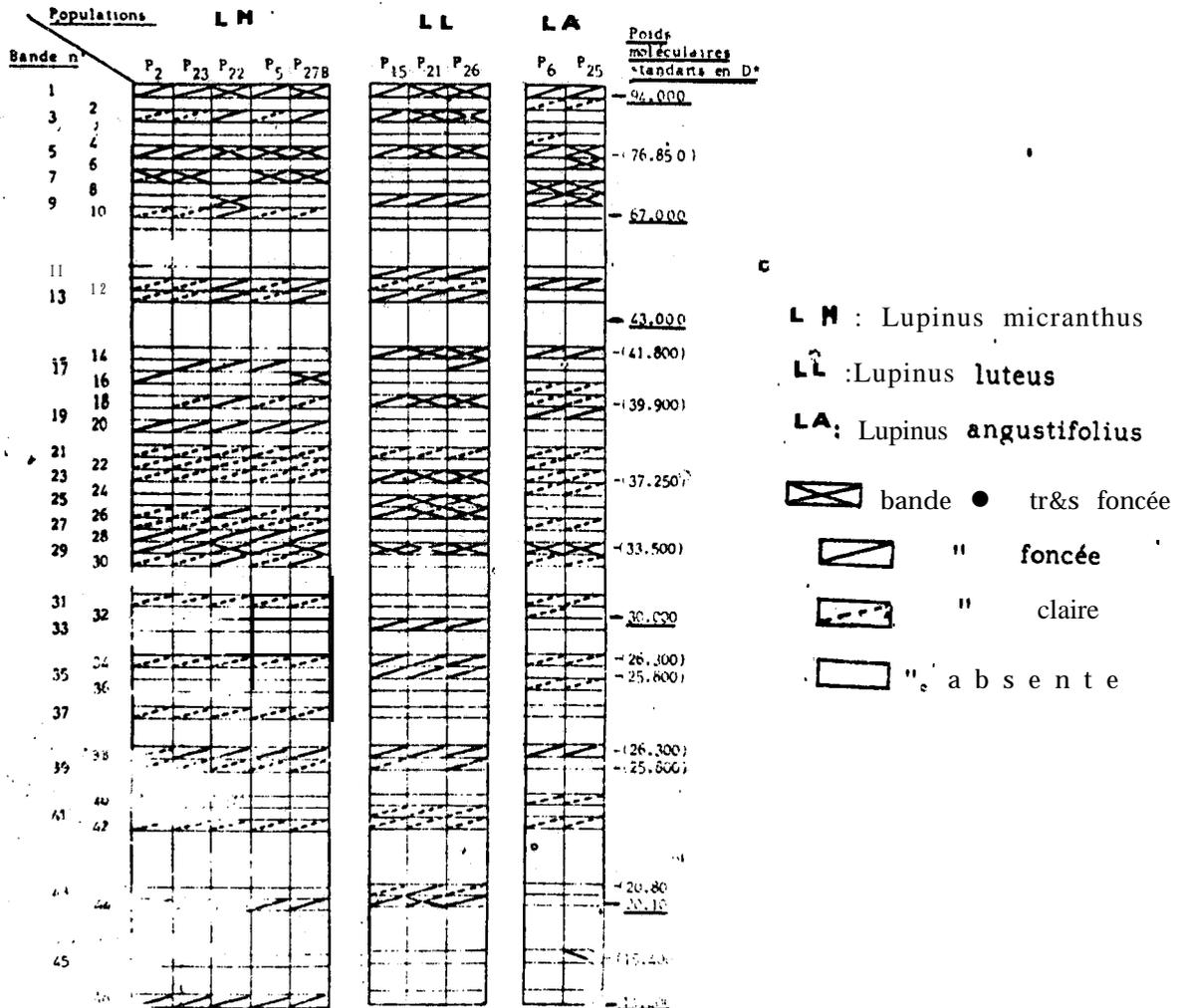
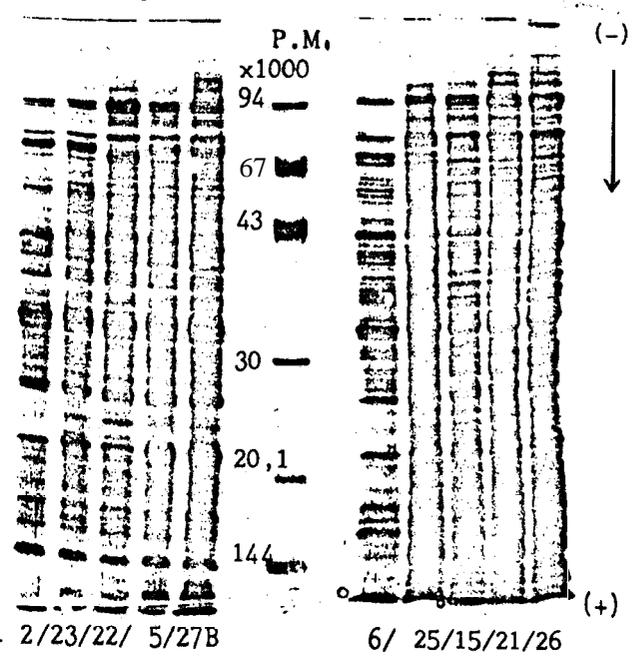
Sur 46 bandes considérées, 9 (dont 7 majeures) seulement sont communes à toutes Les populations-a la fois: ce sont les bandes N^o 1, 5, 12, 21, 23, 29, 34, 38 et 42.

Les coefficients de similitude entre populations d'espèces différentes (excepte pour P 22 X P 26) sont tous compris entre 30 et 50 %. La similarité entre L. micranthus et L. luteus est de l'ordre de 40 à 50 %, tandis qu'elle est de 30 à 40% entre L. angustifolius et les deux autres espèces.

Le Dendrogramme (Fig. 3) sépare à La base Les 10 populations en 3 groupes correspondants exactement aux 3 espèces étudiées: groupe "micranthus", groupe "luteus" et groupe "angustifolius".

Au niveau de similitude moins élevé (51,5%), il, y a regroupement des populations de L. micranthus et L. luteus. Enfin, Le groupe "micranthus - luteus" est relié au groupe "angustifolius" au niveau de similitude 41,7%. La Littérature

FIGURE 1: Protéinogramme de s Albumines coty lédonaires dissociées.. en sous-unités obtenu par "SDS-PAGE",



héma du protéinogramme des sous-unités Albuminiques .
 D = Dalton; Les poids moléculaires entre parenthèses sont estimés).

(GLADSTONES, 1974 et 1984) indique que du point de vue morphologique et caryotogique *L. micranthus* ($2n = 52$) est plus proche de *L. luteus* ($2n = 52$) que de *L. angustifolius* ($2n = 40$).

• Variation intra-spécifique

A l'intérieur de chaque espèce, nous trouvons un fort taux de similitude inter population ($>80\%$) et pouvant atteindre 100% entre 2 populations de *L. micranthus* (P5 et P23).

Les différences interpopulations intraspécifiques concernent un faible nombre de bandes: Les bandes N° 7, 9, 15, 16, et 18 pour *L. micranthus*; N° 15 et 39 pour *L. luteus* et Les bandes N° 4, 6, 22, 32 et 45 pour *L. angustifolius*.

L'examen détaillé des groupes spécifiques sur le dendrogramme indique une discrimination infraspécifique remarquable chez *L. micranthus* et *L. angustifolius*: le groupe "micranthus" se subdivise en 3 sous-groupes (P5 - P23; P2 - P 27 B; P 22); Les deux populations de *L. angustifolius* se distinguent par un taux de dissimilarité important (18,5%) relativement aux autres: pour le groupe "luteus" la variabilité est faible.

IL est intéressant de noter ici que *L. micranthus* et *L. angustifolius* sont des espèces à large répartition géographique et relativement tolérantes à des conditions édaphiques variées, tandis que *L. luteus* est plutôt restrictive aux sols sableux. BENTOUIL (1987) aboutit à un résultat similaire par l'étude des estérases. BABBEL et SELANDER (1974), étudiant le polymorphisme enzymatique, ont montré que la variabilité génétique est plus importante chez *L. cexensis* (à tolérance édaphique relativement large) que chez *L. subcarnosus* restreinte aux sols sableux.

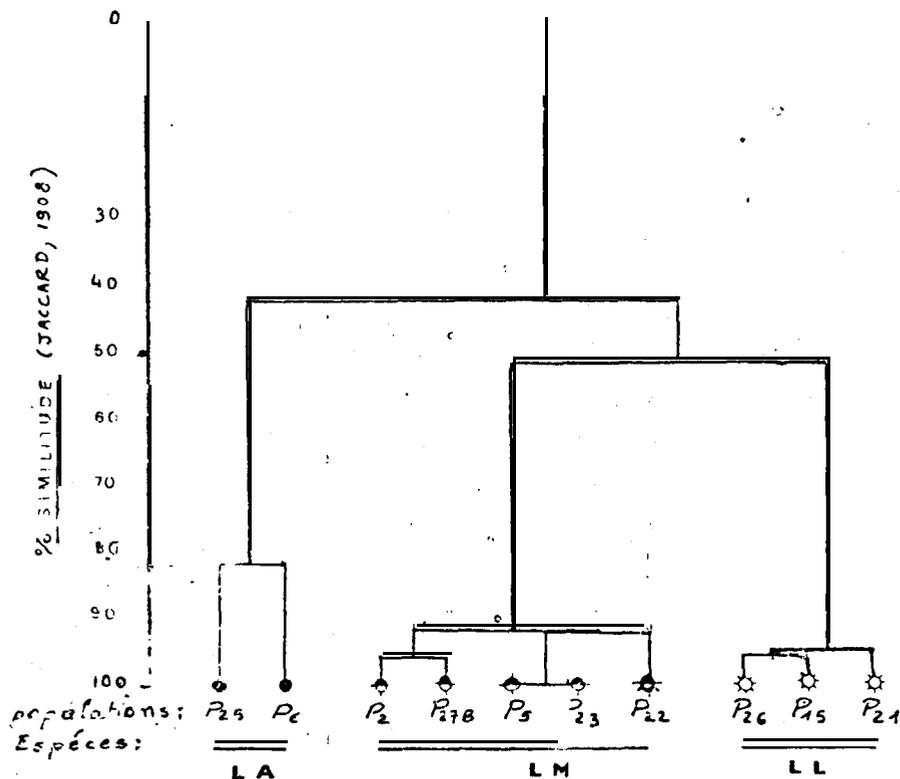
TABEAU : Matrice des similitudes des protéinogrammes d'albumines de 10 populations de Lupin (Méthode de JACCARD, 1908).

	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉	P ₁₀
P ₁	-	86,9	82,1	86,9	96,2	41,2	36,2	4	21,1	32,4
P ₂	☉	100	92,6	100	92,6	44,1	41,2	43,1	37,2	35,1
P ₃	☉	☉	100	92,6	85,7	48,5	45,5	51,7	47	48,9
P ₄	☉	☉	☉	100	96,1	44,1	41,2	47,06	47,6	37,1
P ₅	☉	☉	☉	☉	100	44,1	41,2	42,9	47,5	35,1
P ₆	○	○	○	○	○	100	91,7	91,5	37,1	34,2
P ₇	☆	○	○	○	○	☉	100	91	36,2	35,3
P ₈	○	○	☉	○	○	☉	☉	100	35,2	33,4
P ₉	☆	☆	○	☆	☆	☆	☆	☆	-	81,5
P ₁₀	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☉	100

% de Simil.

- ☉ 90 - 100
- ☉ 80 - 90
- ☉ 50 - 60
- 40 - 50
- ☆ 30 - 40
- 0

FIGURE 3: Dendrogramme réalisé à partir de la matrice des similitudes des protéinogrammes selon la méthode de SNEATH (1957).



En résumé, tes données électrophorétiques des sous-unités des albumines des graines nous ont permis d'estimer Le degré de **similarité** entre Les 3 espèces étudiées et en même temps de Les différencier nettement. De plus, bien que Le nombre de populations **traitées** ici soit réduit, nous avons pu mettre en évidence une variabilité intraspécifique entre Les populations et suggérer sa relation avec Les conditions édaphiques.

L'utilisation des albumines totales (révélées au coomassie ou au noir Soudan) pour élucider certains **problèmes** taxonomiques à des niveaux génériques et spécifiques en particulier est **encore** très discutée (WOLFF, 1980). C'est ainsi que nos résultats sur La variabilité interspécifique apparaissent contradictoires avec ceux de FOX et col. (1964); Ces derniers trouvent une grande homogénéité des albumines pour 5 espèces de Lupins.

Cette différence de résultats serait probablement en rapport avec La différence des techniques utilisées. Etudiant la variation enzymatique (protéines solubles fonctionnelles dont La plupart appartiennent à La fraction albumine> SUSO et col. (1982) mettent en évidence une variation inter et intraspécifique chez Les Lupins de La Péninsule Ibérique.

Les **résultats** obtenus nous conduisent donc à considérer l'**étude** électrophorétique des protéines des graines (albumine, globuline, isoenzymes,...), des Légumineuses en particulier, comme une source de données intéressante pour; clarifier La taxonomie et Les **relations** entre taxons; **étudier** La variabilité **génétique** des populations en rapport avec Les conditions du milieu; identifier et **caractériser** des Ccotypes, déterminer les origines parentales d'hybrides...; (MIEGE, 1975; BOULTER, 1981).

R_e_m_e_r_c_i_e_m_e_n_t_s

A Messieurs les Professeurs A. HUON et J. CITHAREL de l'université de Rennes I (FRANCE) pour leurs conseils et leur aide précieuse.

B I B L I O G R A P H I E

- BABEL G.R. et SELANDER R.K., 1974 - Genetic variability in edaphically restricted and widespread plant species. *Evolution*, 28, 619 - 630.
- BENTOUIL B., 1987 - Analyse de la variabilité phénotypique chez quelques populations du genre *Lupinus* L. Mémoire de D.E.S., Inst. des Sc. de la Nature, USTHB Bab-Ezzouar, ALGERIE.
- BOULTER D., 1981 - Protéins of légumes. In : *advances in legume systematics*, Part 2, pp. 501-512, Polhill R. M., Raven P.H., eds. Royal Botanic Gardens, Kew.
- CERLETTI P., 1983 - Lupin seed proteins. In: *Developments in Food Proteins - 2*, ed. HUDSON B.J.F., Applied Sci. Publishers, Ripple Rd, Barking, Essex, G.B., p. 133-171.
- DAGNELIE P., 1982 - Analyse statistique à plusieurs variables Presse Agronomique de GEMBLoux, A. S. B. L., Belgique, 362 p.
- EICHORN A., 1949 - Apropos de la caryologie du *Lupinus cos-silicus* Maire. *Rev. Cytol. Biot. Vég.*, 11, 333 - 350.
- FOX D.J.; THURMAN D.A. et BOULTER D., 1964 - *Phytochemistry*, Vol. 3, pp. 417 - 419.
- GLADSTONES J.S., 1974 - *Lupins of the Mediterranean region and Africa*. . . Dep. Agric. W. Aust., Tech. Bull. 26, 48 p.
- GLADSTONES J.S., 1984 - Present situation and potential of Mediterranean / African Lupin for crop production. *Acts du 3è Congres International du Lupin*, LA ROCHE'ELLE (FRANCE) , 693 pages.

- HARTREE E.F., 1972, - Détermination of Protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal. Biochem., 48, 422 - 427.
- HUYGHE C., 1983 - Etude de la variabilité des écotypes méditerranéens du Lupin blanc (*Lupinus albus*) et conséquences pour la sélection. Mémoire E. N. S. A. R., Rennes (FRANCE), 52 p.
- LAEMWLI U.K., 1970 - Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. Nature, 227, 680 - 685.
- LAUMONT P. et CHEVASSUS A., 1958 - Les Lupins en Algérie. Revue "Elevage et Culture", N° 111.
- LAVOINE J. et MOTTE M., 1950 - Le Lupin doux. La Maison Rustique, Librairie Agricole, Horticole, Forestière et Ménagère; 26, Rue JACOB, PARIS (6^e); 60 pages.
- LICHTENFELD C.; MANTEUFEL R., MUNTZ K.; NEUMANN D.; SCHOLZ G. et WEBER E., 1979 - Protein degradation and proteolytic activities in germinating field beans *Vicia faba* L. var. minor). Biochem. Physiol. Pflanzen, 174, 255-274.
- MIEGE J., 1975 - Les protéines des graines. Conservatoire et jardin Botanique, de la ville de Genève, 385 p.
- PAZY B.; HEYN C.C.; HERNSTADT I. et PLITMANN U., 1977 - Studies in populations of the Old World Lupins species. I. Chromosomes of the East Mediterranean Lupins. Israel J. Bot., 26 : 115 - 127.
- QUEZEL P. et SANTA S., 1962 - Nouvelle Flore de l'Algérie. C. N. R. S., Paris
- SUSO, M.J.; LOPEZ R. et MORENO, M.T., 1982 - Variation isoenzymatique en espèces Ibericas de *Lupinus* L. Actes de la 2^e Conférence Internationale du Lupin, Tōrramolinos (ESPAGNE), 409 p.
- VARASUNDHAROSOTH D. et BARNES M., 1985 - Protein fractions of lupin seed meal quantitative importance and amino acid composition. New Zealand J. of Agric Research, Vol 28 : 71 - 80.

- VAUGHAN J.G. et DENFORD K.E., 1968 - An acrylamide gel electrophoresis study of the seed proteins of Brassica and Sinapis species, with special reference to their taxonomic value. J. Exp. Bot., 19(61): 724 - 732.
- WOLFF G., 1980 - Investigation on the relations within the family Papilionaceae Banding Patterns. Theor. Appt. Genet., 5.7, 225 - 232.