



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر
ÉCOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE – EL HARRACH- ALGER

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle en Sciences Agronomiques

Département : Productions Végétales

Spécialité : Production et Amélioration Végétales

Option : Ressources Génétiques et Amélioration des Productions Végétales

Induction de la variabilité génétique par radio-mutagenèse (rayons gamma) chez la lentille (*Lens culinaris* Medik.) et sélection de mutants en M₂ à intérêt agronomique

Présentée par : M^{elle} TABTI Dahbia

Soutenu le : 18 /06/2018

Devant le jury :

Président :	M. OUNANE S.M.	Professeur (ENSA El Harrach)
Directeur de thèse :	M ^{me} LAOUAR M.	M.C.A (ENSA El Harrach)
Co-directeur de thèse :	M. ABDELGUERFI A.	Professeur (ENSA El Harrach)
Examineurs :	M. M'HAMMEDI BOUZINA M. M. AISSAT A.	Professeur (Université de Chlef) M.C.A (Université Saad Dahlab Blida)

Remerciements

Il est agréable d'exprimer ma profonde gratitude à Mme. LAOUAR M. directrice de thèse et Mr. ABDELGUERFI A. co-directeur pour leur entière disponibilité, leurs conseils, leurs orientations et leur gentillesse tout au long de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie également Mr. OUNANE S.M. d'avoir bien voulu accepté la présidence du jury ; Mr. AISSAT A. et Mr. M'HAMMEDI BOUZINA M. qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je remercie M^{lles} YAHIAOUI A. et SAOUDI R. pour les efforts qu'elles ont fournis ;

Je remercie également Mr. YEFSAH R. chercheur au centre national de la recherche nucléaire (CRNA) d'Alger pour son aide et sa contribution.

Je tiens à remercier également Dr. Shiv Kumar Agrawal, chercheur au centre international de la recherche en agriculture dans les zones arides (ICARDA) pour ses conseils et sa disponibilité durant mon stage.

Mes plus vifs remerciements vont particulièrement à Karthika Rajendran, chercheur à l'ICARDA pour son entière disponibilité, son aide, ses conseils et sa gentillesse.

Je n'oublie pas d'adresser mes remerciement à toute personne qui m'a aidé et contribué de près ou de loin dans ce travail.

Dahbia.

Dédicaces

A mes parents

A ma famille

A toute personne qui m'est chère

Dahbia.

Table des matières

Introduction	01
Synthèse bibliographique	04
I. Origine géographique et génétique.....	04
II. Morphologie	04
III. Taxonomie	06
IV. Cycle de développement	06
V. Intérêt de la lentille et utilisation.....	06
VI. Exigences de la lentille	07
VII. Stress biotiques et abiotiques	09
VIII. Situation de la culture de lentille	10
VIII.1. Dans le monde.....	10
VIII.2. En Algérie	10
VIII.2.1. Surfaces et production	11
VIII.2.2. Besoins nationaux et importation.....	12
VIII.2.3. Zones de production.....	12
VIII.2.4. Variétés cultivées.....	13
IX. Aperçu sur l'amélioration de la lentille.....	14
IX.1. Méthodes conventionnelles de sélection les plus utilisées chez la lentille.....	14
IX.2. Autres méthodes de sélection : cas de la mutagenèse	16
IX.2.1. Mutations provoquées.....	16
IX.2.1.1. Avantages et inconvénients.....	17
IX.2.1.2. Types de mutations.....	17
IX.2.1.2.1. Mutations géniques ou ponctuelles.....	18
IX.2.1.2.2. Mutations chromosomiques.....	18
IX.2.1.2.3. Mutations extra-chromosomiques	18
IX.2.1.3. Types de mutagènes.....	18
IX.2.1.3.1. Mutagènes chimiques	19
IX.2.1.3.2. Mutagènes physiques	19
IX.3. Radio-mutagenèse par rayons gamma chez la lentille	20
IX.3.1. Dose d'irradiation et radiosensibilité	20
IX.3.2. Travaux réalisés sur la lentille	20
IX.3.3. Réalisation et sélection de mutants.....	20
IX.3.4. Etude de la variabilité induite en M ₂	22
IX.3.5. TILLING	23
Matériel et méthodes	24
I. Objectifs	24
II. Matériel végétal.....	24
III. Lieu d'étude.....	24
IV. Détermination de la dose létale	25
V. Réalisation de la première génération de mutants (M ₁).....	25

V.1. Caractères édapho-climatiques.....	25
V.2. Dispositif expérimental	27
V.3. Itinéraire technique	27
V.4. Problèmes rencontrés au cours de l'essai.....	27
VI. Réalisation de la deuxième génération de mutants (M ₂).....	27
VI.1. Caractères édapho-climatiques.....	28
VI.2. Dispositif expérimental	29
VI.3. Itinéraire technique	30
VI.4. Caractères étudiés	31
VI.4.1. Phénologie	31
VI.4.2. Caractères liés au port.....	31
VI.4.3. Caractères liés au rendement	33
VII. Différents types de mutations	33
VIII. Viabilité du pollen	34
IX. Analyses statistiques	34

Résultats et discussion.....36

I. Détermination de la dose létale.....	36
II. Caractérisation de la deuxième génération M ₂	38
II.1. La variation dans le nombre de plants M ₂	38
II.2. La viabilité du pollen.....	38
II.3. Les différents types de mutations viables et chlorophylliennes.....	38
III. Etude de la variabilité induite en M ₂	41
III.1. L'analyse de variance (ANOVA).....	41
III.2. Les paramètres génétiques : CVG, CVP, h ² et GA %.....	41
III.3. Corrélations et l'analyse en « path ».....	52
III.4. L'analyse en composantes principales.....	47
III.5. Etude des relations verse-vigueur et verse-port.....	48
III.6. Test de comparaison des moyennes Dunnett's.....	49
III.7. Le meilleur prédicteur linéaire sans biais (BLUPs).....	52
III.8. L'analyse en cluster	53

Conclusion.....57

Références bibliographiques59

Annexes

Résumé

Summary

ملخص

Liste des abréviations

AIEA :	Agence Internationale de l'Energie Atomique
ADN :	Acide désoxyribonucléique
CCLS :	Coopératives de Céréales et de Légumes Secs
CGIAR :	Consultative Group on International Agricultural Research
CNCC:	Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants
CM :	Carré moyen
CRNA :	Centre de Recherche Nucléaire d'Alger
CVP :	Coefficient de Variation Phénotypique
CVG :	Coefficient de Variation Génotypique
Co⁶⁰ :	Cobalt 60
ddl :	Degré de liberté
DF :	Date de début floraison
DL₅₀ :	Dose létale
DM :	Date de 95% maturité
FAO :	Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
GA (%) :	Gain génétique (genetic advance in percentage of mean)
Gy :	Gray
HT :	Hauteur de la tige
HPG :	Hauteur de la première gousse
ICARDA :	International Center of Agricultural Research in Dry Areas
ITGC :	Institut Technique des Grandes Cultures
MADR :	Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural
NRP :	Nombre de rameaux primaires
NGP :	Nombre de gousses par pédoncule
NGG :	Nombre de graines par gousse
NTG :	Nombre total de gousses
PCG :	Poids de cent grains
PCR :	Polymerase Chain Reaction
PR :	Port
RGP :	Rendement en grains par plant
SSD :	Single Seed Descent
TILLING :	Targeting Induced Local Lesions in Genomes
USD :	dollars américains
UV :	Rayonnement ultraviolet

VG : Vigueur

VR : Verse

Liste des tableaux

Tab. 1 : Evolution des superficies consacrées à la lentille après l'indépendance jusqu'à 1995.....	11
Tab. 2 : Les variétés en production de semences en Algérie.....	14
Tab. 3 : Résultats d'analyse physico-chimique du sol de l'essai de génération de la M ₁	25
Tab. 4 : Pluviométrie (mm) et températures (°C) pour la campagne agricole 2013/2014.....	26
Tab. 5 : Résultats d'analyse physico-chimique du sol de l'essai de génération de M ₂	28
Tab. 6 : Pluviométrie (mm) et températures (°c) pour la campagne agricole 2014/2015.....	28
Tab. 7 : Tableau d'analyse de la variance des différentes doses d'irradiation	36
Tab. 8 : Le nombre de plants germés, pourcentage de germination et pourcentage par rapport au témoin des différentes doses	36
Tab. 9 : DL ₅₀ d'irradiation par rayons gamma de la variété Idlib-3	37
Tab. 10 : Les différents types de mutations observées en M ₂	39
Tab. 11 : Carrés moyens, moyennes, minima et maxima des dix caractères phénologiques et morphologiques	41
Tab. 12 : L'estimation des différents paramètres génétiques pour les caractères morphologiques, phénologiques et les composantes de rendement pour les 140 familles et le témoin non irradié en M ₂	42
Tab. 13 : Les coefficients de corrélation pour les caractères morphologiques, phénologiques et les composantes de rendement pour les 140 familles et le témoin non irradié en M ₂	44
Tab. 14 : Les effets directs et indirects des différents caractères morphologiques, phénologiques et les composantes de rendement sur le rendement en grains des 140 familles et le témoin non irradié en M ₂	45
Tab. 15 : La performance de 140 familles avec le test de comparaison multiple « Dunnett ».....	50
Tab. 16 : Les moyennes de 13 familles supérieures par rapport au témoin	51
Tab. 17 : Identification des 24 meilleures familles pour le rendement en grains/plant par la méthode des BLUPs	53
Tab. 18 : Les groupes "clusters" des 140 familles, ainsi le témoin non irradié en tenant compte des caractères phénologiques et morphologiques	55
Tab. 19 : Moyenne des dix caractères phénologiques et morphologiques pour les quatre groupes (clusters) pour les 140 familles et le témoin non irradié	55

Liste des figures

Fig. 1 : Répartition géographique des espèces du genre <i>Lens</i> dans le monde (Cubero <i>et al.</i> , 2009).....	4
Fig. 2 : Morphologies de la tige, des feuilles et gousses de <i>Lens culinaris Medik</i> (Duke, 1981).....	5
Fig. 3 : Evolution des superficies, des productions et des rendements de la lentille en Algérie durant la période 2000-2015 (MADR, 2016).....	11
Fig. 4 : Les importations de lentilles en Algérie durant 2004-2015 (ministère du commerce).....	12
Fig. 5 : Les zones potentielles de la culture de lentille en Algérie (ITGC, 2011).....	13
Fig. 6 : Schéma de sélection de la lentille par mutagenèse (Toker <i>et al.</i> , 2007).....	22
Fig. 7 : Le schéma de TILLING (Colbert <i>et al.</i> , 2001).....	23
Fig. 8 : Localisation des essais au niveau de la station expérimentale de l'ENSA (Google Earth, 2017).....	24
Fig. 9 : Evolution de la température et de la pluie au cours de la campagne d'étude (2013-2014).....	26
Fig. 10 : Evolution de la température et de la pluie au cours de la campagne d'étude (2014-2015).....	29
Fig. 11 : Schéma du dispositif expérimental (bloc aléatoire complet ; 3 blocs).....	30
Fig. 12 : Représentation schématique de la variation dans le mode de ramification et de la structure de la plante pour la lentille (Saxena, 2009).....	32
Fig. 13 : Echelle de vigueur adoptée pour les notations.....	33
Fig. 14 : La courbe de la radiosensibilité de la variété Idlib-3 (l'analyse en probit)	37
Fig. 15 : Evolution du nombre de plants dans les différents stades de la culture	38
Fig. 16 : Grains de pollen observés sous microscope optique	39
Fig. 17 : Les mutations chlorophylliennes observées en M ₂	40
Fig. 18 : Les différentes mutations viables observées en M ₂	40
Fig. 19 : Le diagramme de l'analyse en « path » montrant les effets directs et indirect des caractères morphologiques et phénologiques sur le rendement en grains	46
Fig. 20 : Représentation sur le plan factoriel de l'ACP des différentes variables et les familles de mutants	47
Fig. 21 : Diagramme d'effectifs de chaque port en relation avec la verse.....	48
Fig. 22 : Diagramme d'effectifs de chaque vigueur en relation avec la verse.....	49
Fig. 23 : Evolution du pourcentage de la verse en fonction de la vigueur.....	49

Fig. 24 : Le diagramme de l'analyse en cluster pour les 140 familles et le témoin non irradié à la distance génétique 48.....56

Introduction

Selon l'Organisation des Nations Unis pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), la population mondiale, qui est en constante croissance, doit passer de 7 milliards à plus de 9 milliards en 2050, soit presque un tiers de la population de plus à nourrir qu'il y en a aujourd'hui ; pour cela, l'agriculture mondiale doit relever des défis : augmenter la production alimentaire de 70% (www.fao.org).

Les céréales et les légumineuses alimentaires sont la ressource alimentaire la plus importante au monde. Les légumineuses à graines constituent un élément crucial dans l'agriculture et dans l'alimentation humaine grâce à leur richesse en protéines végétales. Elles contribuent à l'amélioration durable de l'environnement en raison de leur capacité de fixer l'azote atmosphérique et leurs effets sur la fertilité du sol et sur le rendement de la culture suivante ou celle en association (De Ron, 2015).

Les principales légumineuses cultivées sont divisées en deux grands groupes : les légumineuses des saisons froides telles que la fève, la lentille, le pois, la vesce, le lupin et le pois chiche et les légumineuses des saisons chaudes telles que le niébé, le haricot sec, l'arachide et le soja.

La lentille est originaire du Proche Orient et s'est propagée dans le Bassin Méditerranéen et l'Asie Centrale et elle est actuellement largement cultivée dans le monde.

En Algérie, elle est classée la quatrième de point de vue superficie et production après la fève, le pois chiche et le pois (MADR, 2016). Sa production reste insuffisante pour faire face aux besoins de la population algérienne qui est en constante croissance. En plus, la population algérienne est considérée comme grande consommatrice de la lentille ; d'après la FAO, la consommation moyenne de la lentille en Algérie est de 2,3 kg/habitant/an (Erskine *et al.*, 2011). Pour cela, le recours à l'importation devient nécessaire.

La culture de la lentille a été encouragée par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR) Algérien depuis les années 2007-2008 (Riah *et al.*, 2014). Depuis, la production a connu une augmentation et ainsi en 2011, elle a atteint les 80 000 q et en 2016, elle a dépassé les 100 000 q. Malgré cette évolution positive de la production, elle reste insuffisante pour répondre aux besoins de la population. Cette insuffisance est souvent due aux superficies trop faibles dédiées aux légumineuses alimentaires, aux conditions climatiques surtout la sécheresse tardive qui coïncide généralement avec les périodes critiques de la culture

et aussi aux variétés cultivées qui sont souvent sensibles aux stress biotiques (particulièrement le flétrissement vasculaire) et aussi qui ne sont pas adaptées pour la récolte mécanisée.

Des programmes de sélection de nouvelles variétés de lentille, plus productives, résistantes aux différentes maladies et aussi adaptées à la récolte mécanisée, ont été lancés depuis les années 60 par Laumont et Chevassus (1960) dont neuf variétés ont été sélectionnées.

Durant la période 1983-1992, l'ITGC a sélectionné six lignées dans différentes zones agro-écologiques (Hamadache, 2014).

L'ITGC et l'ICARDA ont collaboré pour sélectionner de nouvelles variétés adaptées aux conditions de l'Algérie ; des variétés nouvellement introduites sont en cours de sélection dans différentes stations de l'ITGC.

Les changements climatiques, l'émergence de nouvelles maladies, l'évolution de la mécanisation,... sont autant de facteurs qui font de la sélection, des variétés des cultures stratégiques, un domaine en perpétuelle évolution.

Actuellement, les principales variétés largement cultivées en Algérie sont la Large Blonde Métropole, la Large Blanche de Chili et Dahra (Hamadache, 2014). De nouvelles variétés introduites telles que Ibla 1, Idlib 2 et Idlib 3 sont en cours des essais. Les *macrosperma*, à grosses graines (6-9 mm de diamètre) sont les plus cultivées en Algérie. Les *microsperma* à petites graines (3-6 mm de diamètre) sont timidement cultivées et commencent à se développer grâce au secteur privé qui a investi dans la production de semences tels que Axium (Constantine), SARL Semences Chelif (Chelif) et SARL Sersou (Tiaret).

Pour tout programme de sélection, l'existence d'une variabilité génétique est primordiale. La lentille cultivée est caractérisée par une diversité génétique très étroite contrairement aux espèces non cultivées (Khazaei *et al.*, 2016). De ce fait des hybridations entre la lentille cultivée et non cultivée ont été réalisées. L'hybridation chez la lentille est souvent difficile vu le caractère autogame et la taille de la fleur ; la mutagenèse induite devient une alternative pour créer de la variabilité chez la lentille (Rana et Solanki, 2015).

La mutagenèse est un changement brusque héritable qui se traduit dans l'ADN et qui n'est pas causé par une ségrégation ou par une recombinaison génétique. Elle peut être soit spontanée ou induite par des agents mutagènes (Roychowdhury et Tah, 2013).

Parmi plusieurs agents mutagènes, les rayons gamma sont les plus utilisés vu leur facilité d'utilisation et leur énergie de pénétration. Ils ont été utilisés pour améliorer plusieurs caractères

quantitatifs et qualitatifs chez la lentille tels que le rendement, la résistance aux maladies et la précocité. L'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) a enregistré 15 cultivars issus de la mutagenèse officiellement inscrits dans sa base de données (<https://mvd.iaea.org>).

Pour éviter un taux de mortalité trop élevé par les rayons gamma, la détermination de la dose létale d'irradiation est la première étape à réaliser, c'est la dose à laquelle 50% des individus meurent. Après le traitement mutagène, la variabilité induite par l'irradiation pourrait être étudiée à partir de la deuxième génération (M_2) car à ce stade il y a ségrégation des gènes récessifs (Toker *et al.*, 2007).

L'objectif de notre travail consiste à créer une variabilité génétique appropriée, à la création variétale, à partir de laquelle des lignées mutantes à caractères agronomiques supérieurs seront sélectionnées. Pour cela, il a été appliqué la radio-mutagenèse en utilisant les rayons gamma à une variété de lentille de type *microsperma* Idlib-3 (ILL 6994) qui est une variété issue d'un croisement entre ILL 99 et ILL 5588 dont l'obteneur est l'ICARDA. Cette variété a pour avantage d'être utilisée par le secteur semencier et son amélioration donnera plus d'avantage à la valorisation des *microsperma* en Algérie.

Après une synthèse des **Données Bibliographiques** et la précision du **Matériel et des Méthodes** utilisés, la partie **Résultats et Discussion** est structurée comme suit :

- Une première partie qui aborde la détermination de la dose létale d'irradiation pour la germination (DL_{50}) ;
- Une deuxième partie qui étudie l'efficacité de l'irradiation sur la population M_2 ;
- Une troisième partie qui focalise sur l'étude de la variabilité induite et la sélection de mutants (M_2) à intérêt agronomique.

Enfin, une **Conclusion**, sur l'ensemble des travaux, et **les Perspectives** sont précisées.

I. Origine géographique et génétique

La lentille est une légumineuse anciennement cultivée il y a environ 10 000-11 000 années (Weiss et Zohary, 2011), originaire du Proche Orient et s'est propagée après dans le bassin méditerranéen et l'Asie Centrale (Cubero *et al.*, 2009).

L'Asie du Sud-ouest (c'est-à-dire la région entre l'Afghanistan et le Turkestan) était également considérée comme un centre d'origine possible en raison de la plus forte proportion de variétés endémiques (Barulina, 1930 in Kumar *et al.*, 2014); plus tard, cette région a été mieux expliquée comme centre de diversité secondaire (Fig. 1).

Concernant l'origine génétique, selon Kumar *et al.* (2009), la lentille, *Lens culinaris* Medik., pourrait avoir comme progéniture *Lens orientalis*. Cependant, Williams *et al.* (1974) n'ont pas éliminé la possibilité que certaines variations de la lentille cultivée aient été introduites via des introgressions de *Lens nigricans*.

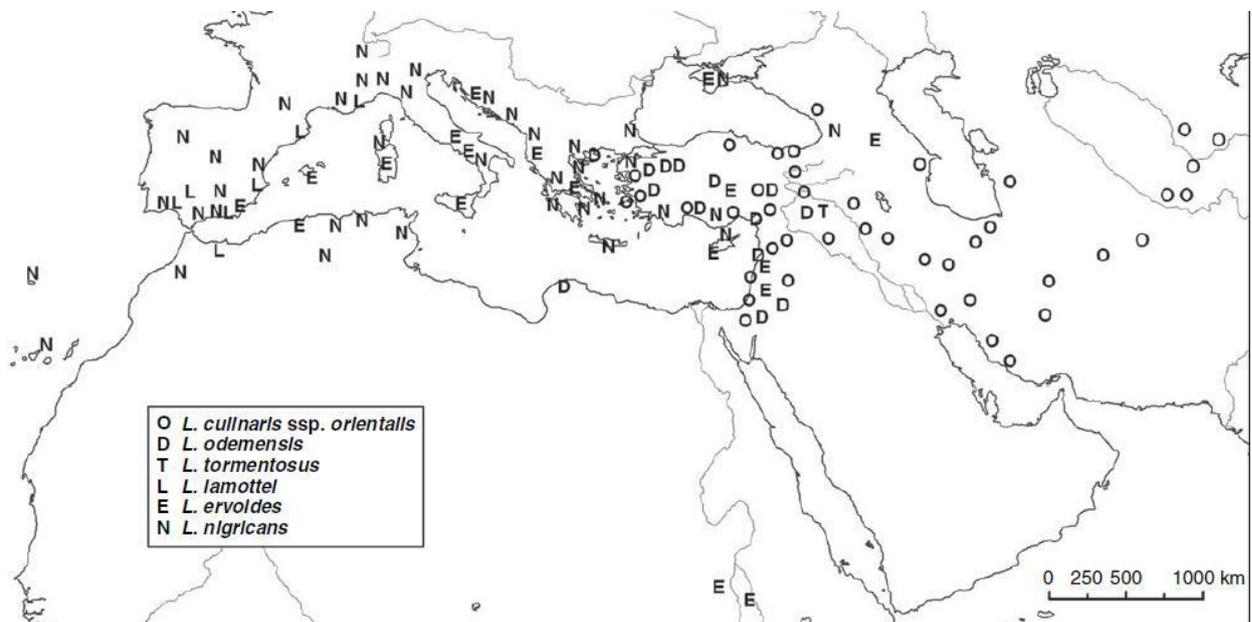


Fig. 1 : Répartition géographique des espèces du genre *Lens* dans le monde (Cubero *et al.*, 2009)

II. Morphologie

La lentille (*Lens culinaris* Medik.) est une espèce annuelle, autogame, diploïde ($2n = 2x = 14$) (Sarker *et al.*, 2009) qui a un grand génome avec approximativement 4 063 Mbp (Arumuganathan et Earle, 1991).

La lentille est une herbe touffue dressée, semi-dressée ou étalée avec beaucoup de branches contenant des poils doux (Sandhu et Singh, 2007; Gupta *et al.*, 2011).

Selon Ladizinsky et Abbo (2015), la lentille cultivée a une hauteur comprise entre 20 et 40 cm. Cependant, il y a des cultivars qui sont moins de 15 cm et ceux qui sont longs de plus de 75 cm (Duke, 1981).

Les feuilles sont composées de 8 à 14 folioles/feuille ; les feuilles supérieures se terminent par une vrille. Le pédoncule comporte une à trois fleurs (Ladizinsky et Abbo, 2015) qui pourraient être blanches, roses, violettes ou bleues pales (Stefaniak et McPhee, 2015). Les fruits ou gousses sont rhomboïdes, glabres et indéhiscent à maturité (la déhiscence pourrait être en cas de sur-maturation). Le poids de 100 graines est compris entre 3-6g (Ladizinsky et Abbo, 2015) (**Fig. 2**).

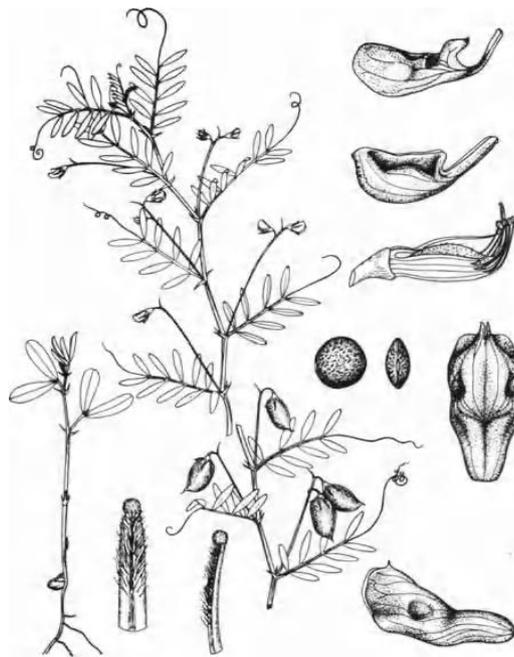


Fig. 2 : Morphologies de la tige, des feuilles et des gousses de *Lens culinaris* Medik. (Duke, 1981)

Selon Saxena (2009), la lentille est regroupée en deux groupes en fonction de la taille des semences:

- Le groupe *microsperma* : avec relativement des gousses petites et enflées (6-15 × 3,5-7,0 mm) et de petites graines (diamètre 3-6 mm); et
- Le groupe *macrosperma* : avec relativement des gousses grandes et aplaties (15-20 × 7,5-10,5 mm) et de grosses graines ayant un diamètre entre 6 et 9 mm.

Il existe aussi une diversité dans la couleur des grains de lentille, du jaune, rouge orange, marron et noir (Yadav *et al.*, 2007a; Erskine, 2009).

La lentille a une racine pivotante mince et une masse de racines latérales fibreuses (Saxena, 2009). La racine pivotante et les racines latérales dans la couche supérieure du sol comportent de nombreux petits renflements ou nodules qui se forment dans un milieu qui contient des souches appropriées, des *Rhizobia*. Les nodules peuvent commencer à apparaître 15 jours après la levée (Chaturvedi *et al.*, 2011).

III. Taxonomie

Le nom de l'espèce *Lens culinaris* a été donné par le physicien et botaniste allemand Medikus en 1787 (Cubero *et al.*, 2009). Cette espèce appartient au genre *Lens* de la tribu des *Viciae* qui regroupe trois autres genres : *Lathyrus* L, *Pisum* L. et *Vicia* L (Fratini *et al.*, 2014).

Taxonomiquement, la lentille occupe une position intermédiaire entre *Vicia* et *Lathyrus* (Coyne et McGee, 2013).

En utilisant les marqueurs morphologiques, biochimiques (les isozymes) et moléculaires (RAPDs), Ferguson *et al.* (2000) ont établi la classification suivante :

- *Lens culinaris* Medik. : avec quatre sous espèces principales :
 - subsp. *culinaris* (la lentille cultivée),
 - subsp. *odemensis*,
 - subsp. *orientalis* (progéniture de la lentille cultivée),
 - subsp. *tomentosus*.
- *Lens ervoides*
- *Lens nigricans*
- *Lens lamottei*

IV. Cycle de développement

Le cycle de croissance est de 80–110 jours pour les cultivars à cycle court et de 125–130 jours pour les cultivars à cycle long (Brink et Belay, 2006). La durée de floraison peut durer de 10 à 40 jours selon les génotypes et le milieu (Saxena, 2009). Le grain de lentille est récolté après avoir atteint la maturité physiologique (Stefaniak et McPhee, 2015).

V. Intérêt de la lentille et utilisation

Du point de vue économique, l'introduction de la culture de lentille dans les systèmes de cultures a un intérêt sur le rendement du blé. Selon Hamadache (2014), un essai de longue durée a été mené pour la mise en évidence de l'intérêt économique de la rotation lentille-blé par

rapport aux autres rotations. L'analyse économique a montré que cette rotation était la plus rentable, suivie de la rotation blé-vesce-fourrage et la rotation blé-jachère. La rotation blé-blé a été la moins rentable.

La lentille, comme toute autre légumineuse, a la capacité de fixer l'azote atmosphérique, ce qui est utile pour la gestion de la fertilité des sols dans les systèmes de culture à base de céréales (Kumar *et al.*, 2014) donc réduire la demande en engrais azotés (Chahota *et al.*, 2007).

La culture est aussi conseillée en rotation avec les céréales pour la gestion des mauvaises herbes, des maladies et des ravageurs des céréales (Rahman *et al.*, 2009).

La lentille est cultivée pour son grain et sa paille. De point de vue nutritionnel, la lentille est une source de protéines (24-28%) avec une abondance de l'acide aminé : lysine, ce qui en fait un bon complément avec des céréales pour équilibrer l'alimentation humaine (Kumar *et al.*, 2014). La teneur en lysine de la lentille est similaire à celle des produits d'origine animale (Shekib *et al.*, 1986)

La lentille est une source d'énergie, de minéraux spécialement le fer, de vitamines et de fibres, pour cela elle est connue comme la viande des pauvres (Kesli et Adak, 2012; Fatima *et al.*, 2015). Elle est riche en carbohydrates et aussi en micronutriments (Thavarajah et Thavarajah, 2011).

Les lentilles pourraient aider à réduire le cholestérol, aussi bénéfiques dans la gestion des troubles de glycémie (Yadav *et al.*, 2007b).

L'utilisation de la lentille est très variée dans le monde, elle peut être utilisée comme une entrée, un plat principal, un plat d'accompagnement, ou comme une salade. Elle est très consommée dans le Proche-Orient et dans la région méditerranéenne pour ses caractéristiques nutritionnelles et culinaires (Raghuvanshi et Singh, 2009). Un autre facteur, qui rend la lentille aussi très appréciée, est sa qualité de cuisson rapide, ce qui économise le temps et l'énergie ; ces deux facteurs qui influent le caractère de l'homme ces jours (Vandenberg, 2011).

La lentille est aussi utilisée comme aliment de bétail, mais sa paille est caractérisée par une faible quantité de cellulose (Erskine *et al.*, 1990; Duran *et al.*, 2004). En outre, la partie végétative de la lentille peut être utilisée comme engrais vert (Quinn, 2009).

VI. Exigences de la lentille

Les températures ainsi que la distribution et la quantité des précipitations sont les principaux déterminants de la période et l'endroit où la lentille est cultivée dans le monde (Materne et Siddique, 2009). La culture tolère mieux la sécheresse que les terres gorgées d'eau

(Solanki *et al.*, 2007). Elle préfère les sols plutôt légers, sablo-limoneux (Larousse agricole, 2012).

La lentille tolère une moyenne annuelle de température comprise entre 6 et 27°C. Toutefois, la température moyenne optimale est de 24°C (Lim, 2012). Pour la germination, les semences de lentille germent à 15°C avec un optimum de 21°C (Duke, 1981). La lentille présente un bon comportement sous le climat méditerranéen, où l'alternance thermique jour-nuit est marquée. Son zéro végétatif (température minimale de développement) se situe à 6°C environ.

Durant la période étalée de la floraison jusqu'au remplissage des grains, la culture devrait persister sous une température modérée et un déficit hydrique faible (Erskine et El Ashkar, 1993). La culture de lentille doit recevoir des températures de vernalisation et un régime photopériodique particuliers pour atteindre le stade reproductif (Summerfield *et al.*, 1984; McKenzie et Hill, 1989). Le nombre de jour entre la germination et l'apparition des premières fleurs est influencé par la sensibilité des génotypes à la photopériode et à la température (Keatinge *et al.*, 1996). Les variétés locales cultivées dans les climats méditerranéens atteignent la période reproductive à des longueurs de jour d'environ 12 h. Tandis que celles cultivées dans les climats tempérés, elles se développent végétativement pendant les jours de photopériode décroissante et fleurissent pendant des jours beaucoup plus courts (Shrestha *et al.*, 2009).

Une végétation dense qui permet l'interception de 90% de la lumière à la floraison est particulièrement importante dans l'obtention de rendements élevés (Hamadache, 2014).

Dans les régions méditerranéennes, les agriculteurs cultivent la lentille généralement en hiver (du décembre jusqu'au début février). Le stade reproductif de la culture coïncide avec l'augmentation du déficit hydrique et les fortes températures du début avril, ce qui implique des rendements faibles (Oweis *et al.*, 2004). Cependant, un semis précoce (avant la mi-décembre) a comme résultat une augmentation du rendement en grain en comparaison avec les semis tardifs (Pala et Mazid, 1992; Silim *et al.*, 1993).

Quant aux besoins en engrais, la lentille nécessite un apport en phosphore (46 unités/ha) et en potassium (50 unités/ha) et ce, avant le semis. Une fumure azotée (20 unités/ha) est préconisée au semis pour favoriser le démarrage de la croissance (ITGC, 2011).

VII. Stress biotiques et abiotiques

En raison de contraintes biotiques et abiotiques, le rendement des cultures est en dessous des niveaux souhaitables (Fatima *et al.*, 2015). De nombreux stress abiotiques tels que le froid, la sécheresse, les hautes températures, la salinité, la déficience en éléments nutritifs et la toxicité, affectent les rendements de lentille dans le monde entier (Monti *et al.*, 1994; Slinkhard *et al.*, 1994). La sécheresse et les hautes températures sont considérées comme les plus importants (Turner *et al.*, 2001). Le stress thermique accompagne souvent la sécheresse causant des difficultés à séparer les deux contraintes et leurs effets sur la croissance de lentilles et le rendement (Muehlbauer *et al.*, 2006).

Quant aux stress biotiques, les principaux agents pathogènes affectant la lentille et qui causent des pertes de rendements sont *Uromyces viciae-fabae*, *Ascochyta lentis*, *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*, respectivement agents de la rouille, l'ascochyta blight, l'anthracnose, la pourriture racinaire et le flétrissement vasculaire (Muehlbauer *et al.*, 2006). Ce dernier est la maladie la plus importante de la lentille et qui est considérée comme une contrainte majeure pour la production de lentille dans le monde (Bayaa *et al.*, 1995; Taylor, *et al.*, 2007).

Selon (Ujagir et Byrne 2009), la culture de lentille est attaquée par de nombreux insectes nuisibles, dont certains seulement sont économiquement importants, nécessitant des mesures de contrôle : ceux-ci comprennent les pucerons, les noctuelles, les thrips et les bruches.

La culture de lentilles est sensible à une variété de maladies virales transmises par les insectes qui peuvent réduire considérablement le rendement des cultures et qui sont la plupart du temps propagées par les pucerons (Kumari *et al.*, 2009).

La lentille est très sensible à la présence des mauvaises herbes. En règle générale, les mauvaises herbes qui causent des pertes importantes dans les lentilles sont les monocotylédones annuelles, dicotylédones annuelles, monocotylédones vivaces, les dicotylédones vivaces et les parasites (Yenish *et al.*, 2009). Les principales espèces parasites de la lentille qui causent des dégâts importants sont la cuscute et l'orobanche (Rubiales *et al.*, 2009).

VIII. Situation de la culture de lentille

VIII.1. Dans le monde

La lentille est cultivée partout dans le monde : le sous-continent Indien, le Moyen-Orient, l'Afrique du Nord, l'Europe du Sud, le Nord et le Sud de l'Amérique et l'Australie (Chahota *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2014). Elle est cultivée dans le monde sur une superficie qui dépasse 4,5 millions d'hectares (FAOstat, 2016).

D'après (Verma *et al.*, 2015), la production et la consommation de la lentille est dans plus de 100 pays (production : environ 70 pays ; consommation : plus de 120 pays). Selon CGIAR (2016), les principaux pays producteurs sont : Canada, Inde, Turquie, Ethiopie, Chine, Iran, USA et Bangladesh.

La situation économique globale de la lentille chez les légumineuses à graines a augmenté dans le commerce international. La production de la lentille a plus que quadruplé (412%) dans une période de 40 ans, de 917 000 t en 1961-1963, avec un rendement moyen de 560 kg/ha, à une récolte mondiale en 2004-2006 de 3 787 000 t avec un rendement moyen de 950 kg/ha (Erksine, 2009) et dépasse les 5 000 000 t avec un rendement moyen de 1 000 kg/ha entre 2012-2014 (FAOstat, 2006). Selon la même source, la lentille se classe actuellement la cinquième parmi les autres légumineuses à graines en termes de production après le haricot sec, le pois chiche, le pois et le niébé.

La consommation de la lentille, dans le monde, a augmenté plus de deux fois que le taux de croissance de la population humaine, avec une consommation de lentille au cours des 40 dernières années qui a augmenté plus que toute autre plante cultivée (Fratini *et al.*, 2014). Le CGIAR rapporte que 70 % de la production de lentille est consommée dans les pays où elle est cultivée (Stefaniak et McPhee 2015).

VIII.2. En Algérie

Les légumes secs, principalement le pois-chiche, la lentille, la fève-féverole, le haricot sec et la gesse, ont toujours fait partie de l'alimentation des Algériens. Ils interviennent de façon efficace dans le régime alimentaire par l'apport de protéines végétales qu'elles assurent (Abdelguerfi *et al.*, 1998).

VIII.2.1. Surface et production

La lentille occupe la quatrième place de point de vue superficie, après la fève, le pois chiche et le pois (MADR, 2016). Selon (Hamadache, 2014), les superficies consacrées à la lentille sont restées inférieures à 3 000 ha jusqu'à 1939. Elles ont atteint 12 000 ha en 1942 et 40 000 ha en 1952. Après l'indépendance, et avec la politique d'intensification de la production céréalière jugée plus importante, les superficies consacrées à la lentille ont chuté (**Tab.1**).

Tab. 1 : Evolution des superficies consacrées à la lentille après l'indépendance jusqu'à 1995

Année	1962	1965	1970	1975	1980	1985	1990	1995
Superficie (ha)	15 000	10 220	21 270	15 470	16 222	12 580	3 530	1 510

Source : MADR (2016)

Durant les 16 années (2000-2016), les superficies ont connu des fluctuations ; elles ont atteint, en 2011, une augmentation remarquable (**Fig. 3**).

La production a, aussi, connu des fluctuations durant les dernières années. Entre 2000-2007, elle a été comprise entre 2 000 q et 5 000 q avec un rendement moyen compris entre 2,8 et 6,4 q/ha. En 2008, la production a presque doublé, pour atteindre 10 000 q. Un pic de production a été enregistré en 2011. Les rendements moyens de 2008 à 2015 ont été compris entre 7,9 et 11,4 q/ha. En 2016, la production a dépassé les 100 000 q avec un rendement de 11,5 q/ha (**Fig. 3 ; Annexe 1**).

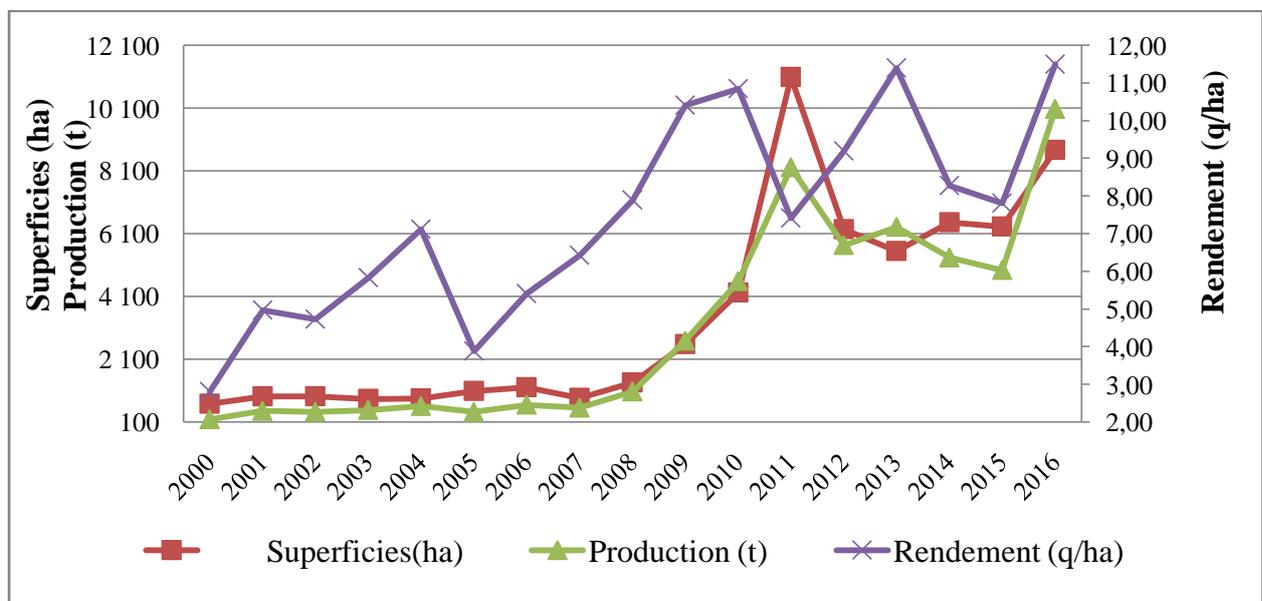


Fig. 3 : Evolution des superficies, des productions et des rendements de la lentille en Algérie durant la période 2000-2016 (MADR, 2016).

VIII.2.2. Besoins nationaux et importation

En Algérie, la culture des légumineuses alimentaires a un intérêt national car leurs grains constituent une source protéique de qualité et à bas prix pour une large couche de la population (Boudjenouia *et al.*, 2003). D'après les statistiques de la FAO, la consommation de la lentille en Algérie est de 2,3 kg/habitant/an (Erskine *et al.*, 2011). Les besoins nationaux en lentille sont estimés à environ 92 000 t/an.

Vue la demande, de la population algérienne, qui est en constante croissance pour cette espèce, et les faibles productions, le recours à l'importation est obligatoire pour faire face à la demande. Chaque année l'Algérie dépense des millions de dollars à l'importation des lentilles.

Durant les dernières années, de 2004 à 2015, le coût des importations a été compris entre 20 millions et 80 millions de dollars (**Fig. 4**).

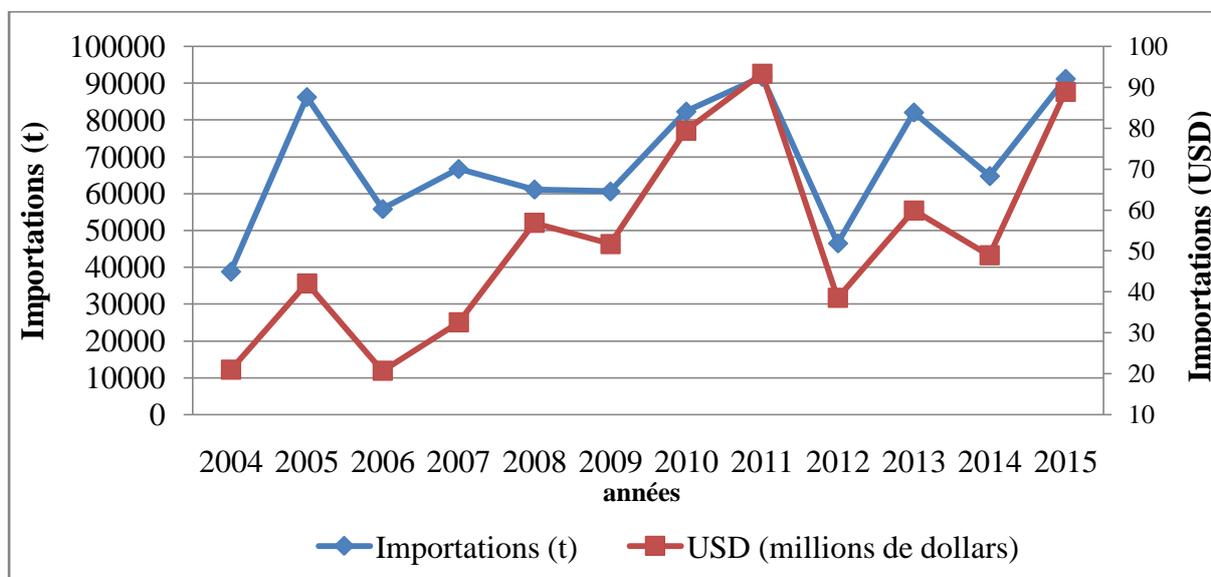


Fig. 4 : Les importations de lentilles en Algérie durant 2004-2015 (Ministère du commerce)

VIII.2.3. Zones de production

La lentille est cultivée dans les zones de culture de blé tendre, dans les sols légers où la pluviométrie est comprise entre 350 et 450 mm, c'est préférable d'éviter les terres trop fertiles.

La plaine du Sersou (Tiaret-Tissemsilt) a été pour longtemps la zone de culture par excellence de la lentille en Algérie (Hamadache, 2014).

Selon l'ITGC (2011), les zones potentielles pour la culture de la lentille sont les suivantes (**Fig. 5**) :

- Plaines de Tlemcen– Meghnia- S.B.Abbès– Ghris- Bas Cheliff- Ain Témouchent- M’Sila- Plaines de Saida- Frenda- Sebdou- Piémonts de l’Ouarsenis.
- Haut et Moyen Cheliff- Plaines des Aribis- Beni Slimane- Berrouaghia- Ain Boucif- Sour El-Ghozlan- Chellalat.
- Hautes Plaines de Sétif- Plaines de Constantine- Guelma- Ain-El-Béida- Oum El Ouaghi- Batna.

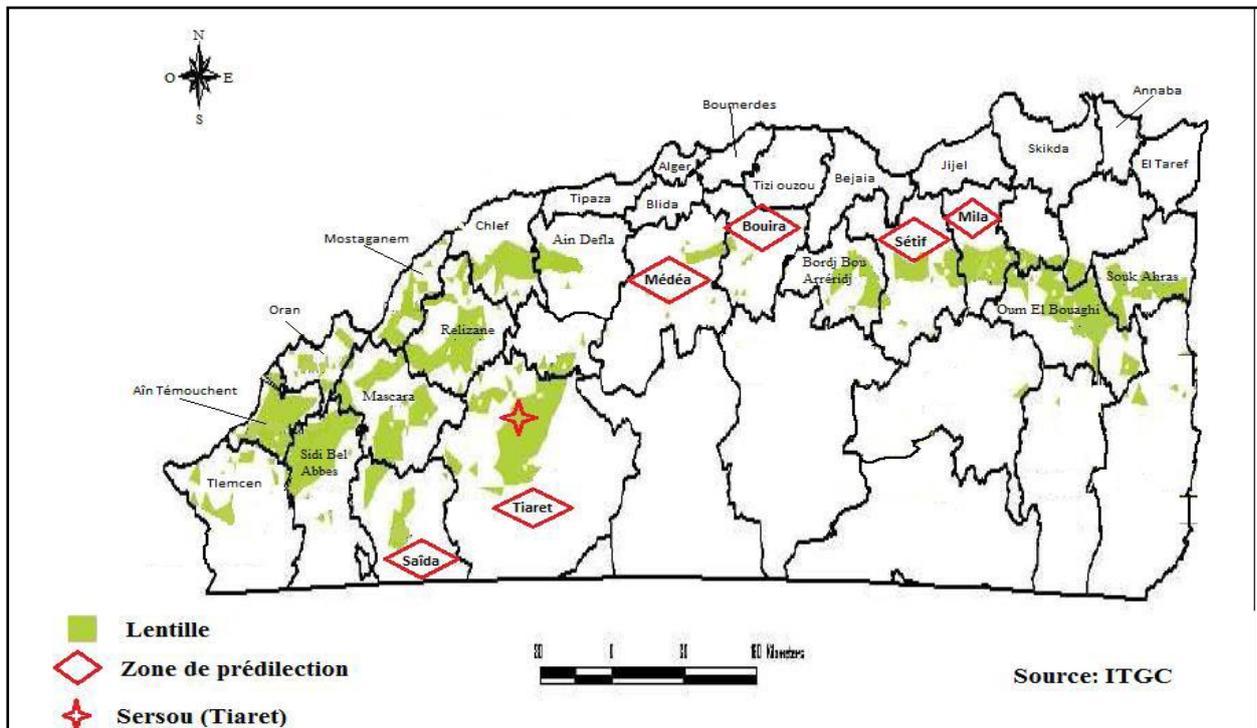


Fig. 5 : Les zones potentielles de la culture de lentille en Algérie (ITGC, 2011).

VIII.2.4. Variétés cultivées

En Algérie, d’après Laumont et Chevassus (1960), les variétés qui ont été sélectionnées sont 9 : très large blonde de Chili 487, large blonde de Chili 485, large blonde Métropole, large blonde de Sersou, Grosse blanche de Syrie, large verte d’Algérie 462/64, Large verte d’Algérie 621, petite blanche Larissa 1 et petite blanche de Syrie 560.

Actuellement, les principales variétés largement cultivées en Algérie sont la Large Blonde Métropole, la Large Blanche de Chili et Dahra (Hamadache, 2014).

D’après l’ITGC (2016), un programme de sélection de quelques variétés de lentille est en cours et plusieurs variétés sont en production de semences (**Tab. 2**).

Des secteurs privés (Axium de Constantine, SARL Chelif et SARL Sersou de Tiaret), se sont impliqués dans le programme national de production de semences ; la variété Syrie 229 est la plus dominante.

Tab. 2 : Les variétés en production de semences en Algérie

Variété	G ₀ (plants)	G ₁ (ha)	G ₂ (ha)	G ₃ (ha)	G ₄ ** (ha)	R ₁ ** (ha)	R ₂ ** (ha)
Balkan 755 (sélection locale sur population introduite)	1400	0,165	0,3	0,25	-	-	-
Dahra (sélection locale sur population introduite)	240	-	-	-	-	-	-
Ibla 1 (Seybousse) (ICARDA)	4200	0,35	0,15	-	-	-	-
Idlib 2 (Atlas) (ICARDA)	1200	0,2	0,5	5	38,00	32,00	909,0
Idlib 3 (Tafrent) (ICARDA) ILL99*ILL5588	240	-	-	-	-	-	-
ILL 5858	500	0,06	0,25	0,25	-	-	-
ILL 7947	500	0,15	0,25	0,25	-	-	-
Métropole (isolée en 1942 en France), relancée en 2017	2000	-	-	-	-	-	-
Nel 45 R (ICARDA)	3000	0,2	1	-	-	-	-
Syrie 229 (ICARDA)	5200	1,45	16,2	152,5	1241,0	7500,5	4155,5
Djendel ILL2126*ILL7946 (nouvellement introduite)	500	-	-	-	-	-	-
Taghit ILL4660*ILL10 023 (nouvellement introduite)	219	-	-	-	-	-	-

** : multipliées par la CCLS et les secteurs privés

Source : ITGC (2018) ; CNCC (2018)

IX. Aperçu sur l'amélioration de la lentille

IX.1. Méthodes conventionnelles de sélection les plus utilisées chez la lentille

Beaucoup d'accessions de lentille dans les collections internationales sont des variétés locales qui hébergent une grande variation génétique. Ces populations comprennent souvent des individus répondant à de nombreux objectifs de sélection sans le recours à l'hybridation. De nombreux cultivars ont été issus, en faisant des sélections individuelles, à partir de ces populations (Stefaniak et McPhee, 2015).

Selon (Muehlbauer *et al.*, 1988), l'hybridation est le moyen le plus connu dans l'augmentation de la variation génétique chez les légumineuses y compris la lentille. L'hybridation chez la lentille est similaire à celle pratiquée chez les autres légumineuses mais un peu entravée chez la lentille, à cause de la taille de ses fleurs et de leur nature. Les fleurs sont cleistogames avec un taux très faible de croisement libre (Muehlbauer et McPhee, 2005).

Des croisements interspécifiques entre *Lens culinaris* et *Lens orientalis*, qui tolère les stress biotiques et abiotiques, ont été réalisés par l'ICARDA (Muehlbauer et McPhee, 2005).

Après l'hybridation, les individus obtenus sont suivis sur le plan morphologique et comportement en fonction de l'objectif de sélectionneur selon la méthode de sélection. Il y a des méthodes de sélection qui suivent les lignées pures et d'autres suivent des mélanges de lignées « Bulk ». La plupart des programmes d'amélioration utilisent la méthode en « Bulk » pour sa simplicité et son pouvoir de produire une large population en ségrégation.

La sélection généalogique est réalisée soit à partir d'une population hétérogène, soit après hybridation. Dans le premier cas, elle consiste à choisir des individus et procéder ensuite à l'étude des descendance obtenues par autofécondation (Debry et Demarly, 1996). La stabilité des caractères d'une génération à l'autre pourrait être la conséquence de la nature hautement autogame de la lentille. Dans le deuxième cas, elle consiste à réaliser un croisement entre deux lignées, suivi par des autofécondations (Gallais et Ricroch, 2006). A partir de la F₂, les meilleurs génotypes sont sélectionnés et suivis. Le cycle autofécondation-sélection est répété pendant 4 à 5 générations. Les plantes issues de ce processus sont ensuite autofécondées et testées pendant 4 générations afin de produire des lignées fixées.

Cette méthode a l'avantage l'élimination rapide des caractères indésirables (Muehlbauer *et al.*, 1988). Des cultivars de lentille ont été développés en utilisant cette méthode en Amérique du Nord et au Chili (Muehlbauer et McPhee, 2005).

La Sélection par la méthode « Bulk » consiste en le passage d'une génération à l'autre par la récolte en mélange d'un ensemble de grains d'une génération et prélèvement en mélange des grains pour constituer la génération suivante (Gallais, 1990). Cette méthode commence par un croisement entre deux parents ayant des caractères que le sélectionneur voudrait combiner (Stefaniak et McPhee, 2015).

Le choix des graines se fait au hasard. Au cours de chaque génération, le taux d'homozygotie augmente régulièrement. Le processus peut se poursuivre jusqu'à la F₅ ou la F₆

ou s'arrêter plus tôt, en F₄ ; après avoir atteint un taux d'homozygotie élevé, on procède ensuite à une sélection individuelle des plants (Stefaniak et McPhee, 2015).

.C'est une méthode très utilisée chez la lentille et le pois chiche (Muehlbauer *et al.*, 1988).

IX.2. Autres méthodes de sélection : cas de la mutagenèse

Des transformations génétiques avec des gènes étrangers en utilisant l'*Agrobacterium tumefaciens* ont été réalisées malgré qu'aucun cultivar obtenu par cette méthode ne soit publié (Stefaniak et McPhee, 2015).

La stérilité male cytoplasmique a été utilisée dans le cas des croisements entre la lentille cultivée et la lentille sauvage (Muehlbauer et McPhee, 2005).

La sélection assistée par marqueurs a été utilisée pour sélectionner des gènes de résistance à l'ascochyta blight et à l'antracnose (Tar'an *et al.*, 2003).

La Mutation induite a permis la création de plusieurs variétés de lentille surtout en Bulgarie, Bangladesh, Pakistan et en Inde. Des variétés telles que Mutant 17 MM, Zornista, Djudje et Elista ont été réalisées et qui sont caractérisées par la résistance aux stress biotiques tels que la fusariose et l'antracnose, un rendement en grain élevé (2454 kg/ha), une grande concentration en protéines (27,9%) et une bonne qualité culinaire (Tomlekova, 2010). L'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) a enregistré 15 cultivars issus de la mutagenèse officiellement inscrits dans sa base de données (<https://mvd.iaea.org>).

L'utilisation des méthodes d'amélioration classiques pour une longue période pourrait rétrécir la variabilité génétique existante. La mutation est l'une des voies les plus importantes pour élargir la variation génétique de la lentille (Erskine *et al.*, 1998).

Une mutation est une modification brusque du patrimoine héréditaire d'une cellule, intervenant au niveau d'un ou plusieurs caractères (Rossignol *et al.*, 2004). Les mutations peuvent être spontanées ou induites artificiellement (Solanki *et al.*, 2011). Selon Van Harten (1998), des mutants spontanés ont été trouvés en Chine sur des céréales 300 A.J.C.

IX.2.1. Mutations provoquées

La découverte des rayons X, par Rontgen en 1895, a permis leur utilisation dans le but d'induire des mutations chez la drosophile par Muller en 1927, et chez l'orge par Stadler en 1928 qui a initié le domaine de la « mutagenèse induite » (Solanki *et al.*, 2011).

Il a été rapporté que la fréquence des mutations induites est 10³ plus que celle des mutations spontanées (Van Harten, 1998).

Durant les premières années du 20^{ème} siècle, un nombre important de mutants ont été développés surtout sur les céréales (Gustafsson, 1954). Après, la mutation induite a été utilisée

pour l'amélioration de différentes plantes cultivées. Les mutants obtenus peuvent être utilisés soit directement comme nouvelles variétés améliorées ou peuvent être utilisés comme parent pour créer de nouvelles variétés (Ahloowalia *et al.*, 2004).

La mutation induite chez les légumineuses a relativement une longue histoire, probablement due à leur rôle important en tant qu'une source protéique dans les pays en développement. Les mutants ont souvent été inclus dans les collections de germplasm des programmes de sélection pour l'amélioration des rendements ou l'élimination des contraintes (Saccardo *et al.*, 1993).

La Division mixte FAO/AIEA soutient (depuis 1970) la production des mutations de légumineuses à graines par le biais de la formation et de la sponsorship de la recherche (Micke, 1984). Chez la lentille, la mutation induite a probablement commencé dans le sous-continent Indien (Solanki *et al.*, 2011).

IX.2.1.1. Avantages et inconvénients

Les mutations provoquées, non seulement elles créent de la variabilité chez les plantes cultivées, mais aussi elles raccourcissent le temps de développement de nouveaux cultivars comparativement aux méthodes conventionnelles (Toker *et al.*, 2007). En outre, en altérant des allèles des gènes déjà connus et inconnus, elles induisent des variabilités pour des caractères quantitatifs et qualitatifs dans un temps relativement court (Konzak *et al.*, 1977).

Les mutations induites pourraient induire des variabilités sans limites, tandis que dans l'hybridation la variabilité est limitée à celle présente chez les parents (Toker et Cagirgan, 2004).

Théoriquement, tout type de variabilité présente chez les espèces voisines pourrait être induite si le gène existe chez l'espèce traitée ; des mutants de lentille résistants à *Uromyces fabae* ont été rapportés (Bravo, 1983).

En plus des mutations désirables, d'autres indésirables, peuvent être induites. La fréquence des mutations désirables est très faible (0.01%) (Sigurbjörnsson, 1983).

Une grande population M₁ est nécessaire pour augmenter le taux des mutations désirables, mais ceci nécessite un temps et des efforts importants (Toker *et al.*, 2007).

IX.2.1.2. Types de mutations

Les mutations sont classées en deux groupes en fonction de la magnitude de l'effet de phénotype produit (Gaul, 1964) :

- Macro mutations : elles produisent un effet phénotypique largement reconnu dans les plantes individuelles, elles se produisent dans les gènes majeurs ou les oligo-gènes et peuvent être sélectionnées à partir de M₂.
- Micro mutations : elles produisent un effet phénotypique qui est identifié seulement en se basant sur la population et peuvent être détectées par des méthodes statistiques. Elles sont de nature polygénique et se produisent dans les gènes mineurs et la sélection pourrait être retardée jusqu'à la M₃ ou après.

IX.2.1.2.1. Mutations géniques ou ponctuelles

Une mutation ponctuelle est le groupe de tous les changements héréditaires qui se produisent dans les limites d'un seul gène (Toker *et al.*, 2007). Selon Rossignol *et al.* (2004), on peut y distinguer soit des substitutions d'une paire de base par une autre ou par le gain ou la perte d'une seule ou d'un petit nombre de paires de base.

La majorité des mutations géniques montrent une hérédité récessive ; cependant, des mutations dominantes du gène se produisent à très basse fréquence (Micke, 1999).

IX.2.1.2.2. Mutations chromosomiques

On y distingue soit l'altération de la structure des chromosomes ou la modification du nombre des chromosomes (Demol *et al.*, 2002).

Dans le premier cas, on parle de remaniement chromosomique (Samouelian *et al.*, 2009).

Dans le deuxième cas selon Demol *et al.* (2002), qui est très important dans l'évolution du règne végétal, des modifications du nombre de chromosomes peuvent impliquer soit des génomes entiers et conduire à la polyploïdie soit des parties du génome avec comme résultat l'aneuploïdie.

IX.2.1.2.3. Mutations extra-chromosomiques

Les mutations pourraient se produire au niveau des organites cytoplasmiques telles que les chloroplastes, c'est le résultat des mutations chlorophylliennes (Jain et Suprasanna, 2011).

Les mutations extra-chromosomiques induisent le nanisme, la tolérance aux herbicides et aussi la stérilité mâle cytoplasmique qui est codée par le génome mitochondrial (Lonsdale, 1987).

IX.2.1.3. Types de mutagènes

On y distingue deux types : les mutagènes chimiques et les mutagènes physiques.

IX.2.1.3.1. Mutagènes chimiques

Les agents chimiques tels que l'éthyle-méthane sulfonate (EMS) et N-éthyle-N nitroso urea (ENU) sont les plus utilisés et il est reporté qu'ils induisent des mutations ponctuelles (McCallum *et al.*, 2000). D'autres agents tels que le bromure d'éthidium, l'acridine et les sels d'azides sont utilisés (Van Harten, 1998).

IX.2.1.3.2. Mutagènes physiques

Parmi les agents physiques mutagènes, on distingue les radiations non ionisantes telles que les rayons ultraviolets (UV) et les radiations ionisantes telles que les rayons X, les rayons gamma (γ), ou les neutrons rapides (Samouelian *et al.*, 2009).

Les études montrent que le plus grand nombre de variétés de mutants réalisées ont été obtenues par les agents physiques et plus particulièrement les rayons gamma. Ceci ne signifie pas que les mutagènes chimiques ne sont pas efficaces, mais s'ils sont utilisés en doses élevées, des mutations indésirables peuvent apparaître (Sybenga, 1983).

Les mutagènes physiques ont l'avantage d'avoir une application simple. Ils sont appliqués sur les grains durs qui peuvent être stockés jusqu'au besoin et ils nécessitent moins de manipulations (Oldach *et al.*, 2011). Les graines traitées par les agents physiques peuvent être stockées avant le semis, par contre celles traitées avec les agents chimiques doivent être rincées et semées immédiatement (Roychowdhury et Tah, 2013).

Les rayons (X et gamma) induisent des aberrations chromosomiques telles les translocations et les délétions (Oldach *et al.*, 2011).

Les rayons gamma sont les plus énergétiques ayant un niveau d'énergie allant de 10 kilo électron volts (keV) à quelques cent keV, donc ils ont un pouvoir de pénétration plus élevé par rapport aux autres types de radiations telles qu'alpha et bêta (Kovacs et Keresztes, 2002). Ils ont été utilisés pour créer 64 % de variétés de mutantes (Sigurbjornsson et Micke, 1974).

Les rayons gamma sont préférables pour leur facilité d'application, leur bonne pénétration, induisant une grande fréquence de mutations et moins de problèmes rencontrés lors de la manipulation (Solanki *et al.*, 2011). Leur application est seulement en deux étapes : la préparation des grains et le traitement mutagène (Toker *et al.*, 2007).

Les rayons gamma interagissent avec les molécules et les atomes pour produire des radicaux libres dans les cellules. Ces radicaux peuvent endommager ou modifier des composantes importantes dans la cellule végétale et il a été rapporté qu'ils affectent différemment la morphologie, l'anatomie, la biochimie et la physiologie de la plante en fonction de la dose d'irradiation. L'irradiation est générée par un irradiateur gamma avec source de

Cobalt (Co^{60}), le débit d'irradiation dépend de la distance entre la colonne Co^{60} et l'échantillon et confirmé par un dosimètre de la thermoluminescence (Wi *et al.*, 2007).

IX.3. Radio-mutagenèse par rayons gamma chez la lentille

IX.3.1. Dose d'irradiation et radiosensibilité

Le succès d'une mutation dépend du taux des mutations et de l'efficacité. Le taux des mutations est affecté par la dose de mutagène. Des doses élevées causent la mortalité, la stérilité du pollen et d'autres détériorations. Pour éviter un taux élevé de mortalité, la détermination d'une dose à laquelle la moitié des plants survivent (DL_{50}) devient importante.

La dose létale (DL_{50}) aide à connaître la sensibilité de chaque variété au mutagène et elle cause 50% de mortalité. Puisque la résistance offerte par le matériel à traiter dépend de différents facteurs tels que la taille des grains, leur rigidité, leur taux d'humidité etc., au moment du traitement, la variation dans la DL_{50} entre les variétés de la même espèce est un phénomène commun dans la mutagenèse (Rajendran et Lakshmi, 2006).

Chez la lentille, les variétés de types *macrosperma* sont plus sensibles que celles du groupe *microsperma* (Sharma et Sharma, 1986). Chez la lentille, une dose de 150 Gy peut induire des mutations chlorophylliennes de type : xantha, albo-xantha et trigina (Paul et Singh, 2002) et des mutations de type nanisme (Sinha, 1988 ; 1989).

Des cultivars ont été officiellement réalisés en utilisant des doses de 30, 40, 200 et 250 Gy (<https://mvd.iaea.org>).

IX.3.2. Travaux réalisés sur la lentille

Khan *et al.* (2006) ont trouvé certains mutants précoces et plus productifs chez la lentille. D'autres mutants présentant des tolérances au flétrissement vasculaire, à l'ascochyta blight, au froid et aux herbicides ont été réalisés dans différentes régions dans le monde (Toker *et al.*, 2007). Des cultivars tels que Aurie, Binamasur (2, 5, 6, 8, 9 et 11), Djudje, Elista, Verzuie ont été obtenus en utilisant les rayons gamma pour la résistance à la chaleur, la tolérance aux basses températures, la maturité précoce, le rendement élevé et une bonne qualité de cuisson et ils sont enregistrés dans la base de données de l'AIEA (<https://mvd.iaea.org>).

IX.3.3. Réalisation et sélection de mutants

Après le traitement mutagène, les graines traitées sont semées pour produire une première génération de mutants M_1 . Chaque cellule de l'embryon est mutée indépendamment ; chaque endroit muté est hétérozygote pour chaque mutation (Bhat *et al.*, 2007). C'est une génération d'individus chimères (Toker *et al.*, 2007). Les graines récoltées en M_1 seront ensuite utilisées

pour obtenir la deuxième génération de mutants (M_2). Le schéma de sélection est mentionné dans la **figure 6**.

D'après Gaul (1964), la variabilité induite par l'irradiation pouvait être déterminée à partir de la deuxième génération (M_2). Sneepe (1977) a suggéré que la sélection pour les caractères quantitatifs, comme le rendement, pourrait être de préférence dans les générations précoces à cause de la perte d'allèles favorables pour les combinaisons désirées dans les prochaines générations.

Des études ont été menées dans le but d'explorer la variabilité polygénique en M_2 pour économiser le temps et les efforts (Sarker et Sharma, 1988). Chez la lentille, en utilisant des radiations ionisantes, certains caractères tels que la floraison, le nombre de pédoncules et de gousses par plant et le rendement en grain ont été rapportés et ils montrent une plus large variabilité que le nombre de grains par gousse et le poids de 1 000 grains en M_2 (Sarker et Sharma, 1988). Cependant, des études ont montré que la sélection en M_3 serait plus efficace (Jana et Roy, 1973; Kalia et Gupta, 1988).

Généralement, 3 types de détection de mutants peuvent être utilisés pour la sélection de mutants en M_2 : visuelle, mécanique/physique et d'autres méthodes telles que chimiques, biochimiques et physiologiques (Roychowdhury *et al.*, 2012) ; la méthode visuelle reste la plus efficace pour identifier les phénotypes mutants (Roychowdhury et Tah, 2013).

La méthode des haploïdes doublés peut être utilisée pour fixer les mutations en M_2 (Szarejko, 2003; Szarejko et Forster, 2007).

Year	Generation	Application	Progress
1	M ₀	<ul style="list-style-type: none"> • Mutagenic application: Physical or chemical mutagens. 	Seeds
1	M ₁	<ul style="list-style-type: none"> • Growing the plants in isolation. • Selection for dominant mutations. • Single plant or bulk harvest. 	Chimeric plants
2	M ₂	<ul style="list-style-type: none"> • Growing the plants in single-plant-row or bulk rows • Selection for recessive mutations. • Harvest putative mutants individually. • Single seed descent (SSD) at least two sets. • Bulk harvest the remaining plants. 	Segregation for recessive gene(s)
3	M ₃	<ul style="list-style-type: none"> • Growing the plants in traditional sowing density. • Confirmation of the putative mutants. • Continue selection. 	Further segregation
4	M ₄	<ul style="list-style-type: none"> • Agronomic evaluation in mini-plots. • Propagation of promising mutants. • Use of mutants in crosses. 	Evaluation of genetic stability
5-8	M ₅ - M ₈	<ul style="list-style-type: none"> • Agronomic evaluation in large plots. • Agronomic evaluation at different locations. • Evaluation of mutants in crosses. 	Direct and indirect use of mutants
9	M ₉	<ul style="list-style-type: none"> • Official testing of mutant lines. 	Releasing of mutant varieties

Fig. 6 : Schéma de sélection de la lentille par mutagenèse (Toker *et al.*, 2007).

IX.3.4. Etude de la variabilité induite en M₂

L'estimation de différents types de paramètres génétiques, tels que les coefficients de variation génotypique et phénotypique, l'héritabilité et le gain génétique pour les caractères étudiés, sont importants pour l'étude de la variabilité créée et pour l'élaboration d'un programme de sélection efficace (Younis *et al.*, 2008). En outre, l'étude des associations entre les divers caractères serait utile pour l'améliorateur pour sélectionner les génotypes possédant des caractères souhaitables et la détermination des relations entre divers caractères agronomiques et leurs effets, directs et indirects, sur le rendement, pourrait donner une indication sur l'amélioration de la productivité des cultures (Ali *et al.*, 2008; Lule *et al.*, 2012).

L'héritabilité donne des informations sur l'ampleur de l'héritage des caractères. Cependant, étant donné que l'héritabilité est influencée par les facteurs environnementaux, elle doit être associée au gain génétique qui peut donner le gain attendu dans la prochaine génération et elle est utile pour formuler un programme de sélection approprié (Roychowdhury *et al.*, 2012).

IX.3.5. TILLING

Le TILLING, une nouvelle stratégie de la génétique inverse, aide à localiser une série allélique de mutations ponctuelles induites dans les gènes d'intérêt (De-Kai *et al.*, 2006). La génétique inversée (de la séquence du gène au phénotype) a largement remplacé la génétique directe dans les études impliquées dans la détection de la fonction des gènes (Kurowska *et al.*, 2011).

Selon (Guo *et al.*, 2015), le Tilling a été largement utilisé pour étudier la fonction des gènes dans différents organismes tels que : *Brassica napus*, *Brassica rapa*, *Lotus japonicus*, *Zea mays*, *Oryza sativa*, et la drosophile.

Selon Kurowska *et al.* (2011), le protocole général de la création de TILLING chez les plantes suit deux grandes étapes (**Fig. 7**). La création d'une population de mutants et la détection de mutations dans les séquences ciblées.

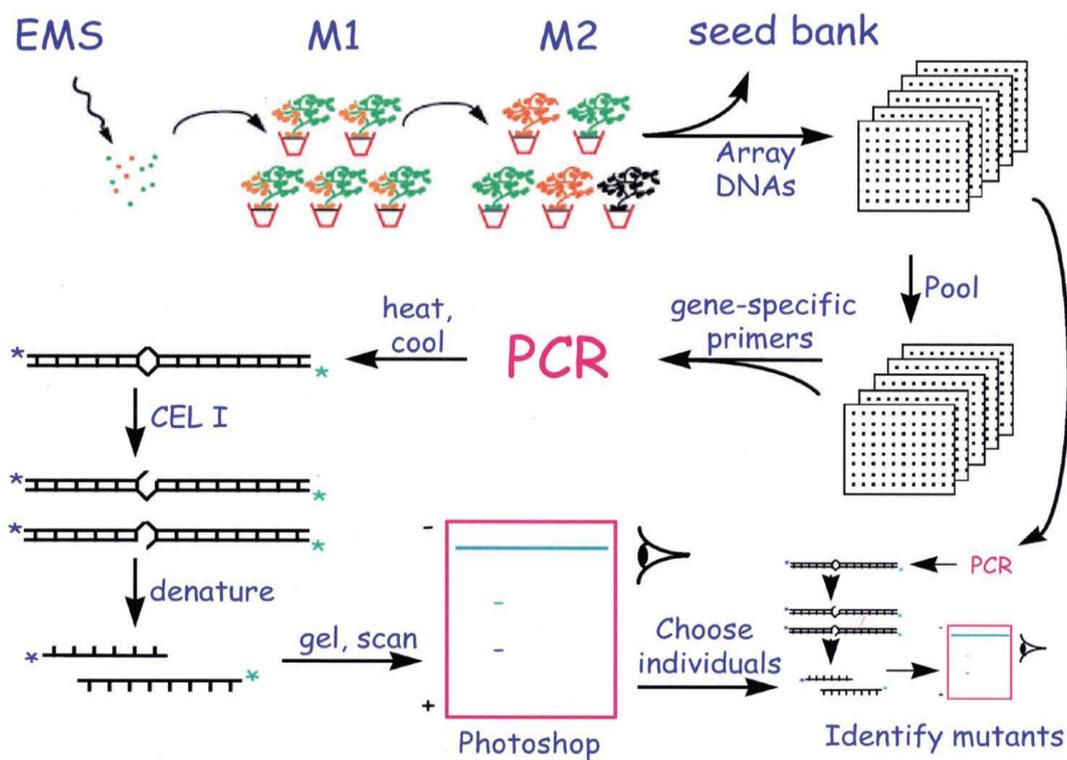


Fig. 7 : Le schéma de TILLING (Colbert *et al.*, 2001)

I. Objectifs

La lentille pose d'énormes problèmes de résistance aux maladies et aux stress abiotiques ainsi que des problèmes techniques liés au port de la plante et à la synchronisation de la récolte (mécanisation de la récolte).

L'objectif du travail consiste à appliquer la radio-mutagenèse sur une variété de lentille, qui rentre dans le programme national de création de semences ; pour créer une variabilité à intérêt agronomique. Pour cela, il sera déterminé la dose létale et la création de populations de mutants (M_0 à M_2) sur lesquelles la sélection sera réalisée.

II. Matériel végétal

Une variété de lentille de type *microsperma*, Idlib-3 (ILL 6994) a été utilisée dans la présente étude. L'ILL6994 est une dérivée d'un croisement entre l'ILL 99 et ILL 5588 : le parent femelle est l'ILL 99, une variété marocaine, et le parent male est ILL 5588, une lignée élite de la Jordanie. Le croisement a été réalisé au niveau du Centre International de la Recherche en Agriculture dans les Zones Arides (ICARDA), Damas, Syrie (El-Ashkar *et al.*, 2004).

III. Lieu d'étude

L'essai a été réalisé au niveau de la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El-Harrach (ENSA) au niveau de l'unité destinée aux cultures expérimentales à une altitude de 48 m à 3°08' de longitude Est et 36°43' de latitude Nord (**Fig. 8**).



Fig. 8 : Localisation des essais au niveau de la station expérimentale de l'ENSA (Google Earth, 2015). **1** : lieu de réalisation de l'essai **M1** ; **2** : lieu de réalisation de l'essai **M2**

IV. Détermination de la dose létale

Des échantillons de 96 graines homogènes et sèches (11% d'humidité) de la variété Idlib-3 ont été irradiées avec des rayons gamma Co^{60} au Centre de Recherche Nucléaire d'Alger (CRNA) par un irradiateur gamma (**Annexe 2**), les doses d'irradiation sont de 45, 60, 75,90, 100, 200, 300 et 400 Gy, le débit d'irradiation est de 12.11Gy/min.

Les graines irradiées avec le témoin ont été ensuite semées le lendemain de l'irradiation dans des petits pots de 9 cm de hauteur et de 7 cm de diamètre en un dispositif en bloc aléatoire complet avec 4 répétitions à raison de 24 graines/traitement/variété dans chaque bloc. Le paramètre taux de germination a été noté dans le but de déterminer la DL_{50} .

V. Réalisation de la première génération de mutants (M_1)

Après la détermination de la dose létale d'irradiation, un essai a été réalisé pour obtenir des plants M_1 . Dix milles (10 000) graines sèches (11% d'humidité) et homogènes ont été irradiées à la dose létale (100 Gy) au niveau du CRNA.

V.1. Caractères édapho-climatiques

Les caractéristiques édaphiques et climatiques de l'essai sont comme suit :

Une série d'analyses a été réalisée sur un échantillon issu d'un mélange de cinq prélèvements du sol à l'aide d'une tarière suivant les diagonales de la parcelle à une profondeur de 20 cm. Les analyses ont été faites au niveau du laboratoire d'Agriculture du département de Production Végétale. Les résultats sont rapportés dans le **tableau 3**.

Tab. 3 : Résultats d'analyse physico-chimique du sol de l'essai de génération de la M_1

Caractéristiques du sol	Résultats d'analyses	Méthodes d'analyses	Interprétation
Texture		Pipette de Robinson	Texture argilo-limono-sableuse (Henin <i>et al.</i> , 1969)
Calcaire total (%)	3,47	Calcimètre de Bernard	Sol non calcaire (Baize <i>et al.</i> , 1995)
pH eau	7,7	pH mètre	Légèrement alcalin (Baize <i>et al.</i> , 1995)
pH KCl	6,72	pH mètre	Acidité échangeable moyenne (AFNOR, 1984)
Carbone organique (%)	1,84	Méthode Anne	Sol riche en matières organiques (Calvet et Villemin, 1986).
Matière organique (%)	3,18	C (%) x 1,72	

La Mitidja est caractérisée par un climat méditerranéen à hiver doux et humide avec une pluviométrie moyenne de 600 mm et à été chaud et sec avec des risques de sirocco réduits. Dans

le but de déterminer les conditions climatiques qui ont caractérisé la campagne 2013-2014, un suivi régulier a été réalisé par la station météorologique de l'ENSA. Les principales données sont rapportées dans le **tableau 4** et la **figure 9**.

Tab. 4 : Pluviométrie (mm) et températures (°C) pour la campagne agricole 2013/2014 (Station météorologique de l'ENSA)

Mois	Précipitations	T° min. (°C)	T° max. (°C)	T° moyenne
Novembre	186,4	8,9	17,5	13,2
Décembre	79,3	7,6	17,8	12,7
Janvier	66,6	8,9	16,9	12,9
Février	46,7	9,5	18,6	14
Mars	88	7,9	17,6	12,7
Avril	0	12,9	22,1	17,5
Mai	3,0	14,9	24,8	19,3
Juin	2,6	17,3	27,3	22,3
Totaux	704,9	106,7	205,8	156,5

Source : Station météorologique (ENSA)

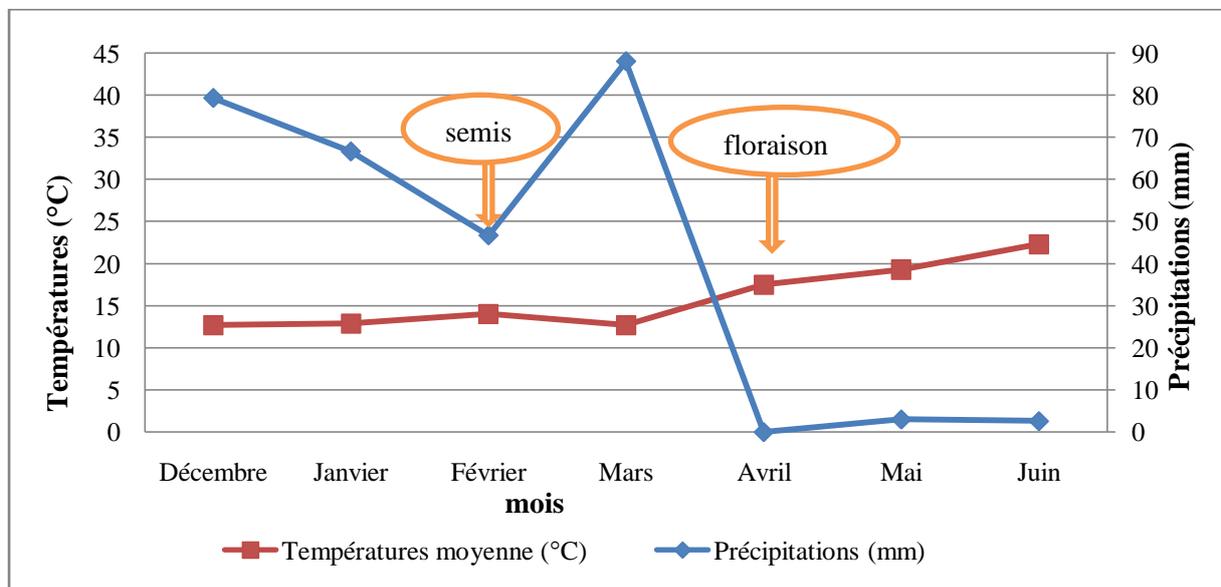


Fig. 9 : Evolution de la température et de la pluie au cours de la campagne d'étude (2013-2014)

L'année de l'étude s'est caractérisée par un manque de précipitations et d'augmentation des températures moyennes et ce surtout à partir de la date de semis. La gamme de température de la campagne 2013-2014 varie de 12,7°C, pour le mois de mars qui correspond au mois le plus froid, à 22,3°C en juin correspondant au mois le plus chaud pour la campagne.

V.2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental mis en place est un dispositif en blocs aléatoires complets à raison de deux blocs. L'espacement entre les blocs est de 50 cm. L'espacement entre les lignes à l'intérieur du bloc est de 20 cm.

V.3. Itinéraire technique

Le précédent de notre essai était une jachère. Un labour à 25 cm de profondeur à l'aide d'une charrue à soc suivi d'un travail superficiel avec un cover-crop et un cultivateur à dents rotatif ont été réalisés.

Une fertilisation en éléments essentiels N, P, K a été réalisée avant le semis en utilisant l'urée 46% pour l'azote et le 0/20/25 pour le phosphore et potassium.

Le semis a été réalisé à l'aide d'un semoir expérimental le 06/02/2013 (semis tardif).

Aucun désherbage chimique n'a été effectué, des désherbages manuels ont été effectués tout au long de l'essai.

Vu la sécheresse qui a coïncidé avec la période de floraison, une irrigation par aspersion a été effectuée.

La récolte s'est faite manuellement et s'est étalée du 02-06-2014 au 18-06-2014. Un total de 428 plants d'Idlib-3 a été récolté séparément.

Aucune sélection n'a été faite dans la première génération M_1 .

V.4. Problèmes rencontrés au cours de l'essai

La parcelle était une jachère depuis quelques années avant l'essai, de ce fait une manifestation très importante en mauvaises herbes a caractérisé l'essai. Les principales espèces étaient : *Sinapis arvensis*, liseron des champs, *Docus carota*, et l'espèce parasite l'orobanche qui a envahi l'essai. En plus une attaque de Fusariose a été notée.

VI. Réalisation de la deuxième génération de mutants (M_2)

Parmi les 428 plants récoltés de la M_1 , cent quarante (140) plants (familles) produisant plus de 30 graines ont été retenues pour générer la M_2 .

VI.1. Caractères édapho-climatiques

Des analyses du sol ont été faites sur des échantillons prélevés de la parcelle (prélèvement à la diagonale) à une profondeur de 20 cm.

Les résultats d'analyse des échantillons prélevés ont été interprétés selon les normes internationales (**Tab. 5**).

Tab. 5 : Résultats d'analyse physico-chimique du sol de l'essai de génération de M₂

Caractéristiques du sol	Résultats d'analyses	Méthodes d'analyses	Interprétation
Texture		Pipette de Robinson	Texture Limono-argileuse. (AFNOR, 1984).
Calcaire total (%)	4,2	Calcimètre de Bernard	Sol non calcaire (Baize <i>et al.</i> , 1995)
pH eau	7,62	pH mètre	Légèrement alcalin (Baize <i>et al.</i> , 1995)
pH KCl	6,75	pH mètre	Acidité échangeable moyenne (AFNOR, 1984)
Carbone total (%)	6,8	Méthode Anne	Sol riche en matières organiques (Calvet et Villemin, 1986).
Matière organique (%)	11,69		
Azote total (%)	1,4	Méthode de Kjeldal	N % > 0,15 Sol bien pourvu en azote. (AFNOR, 1984).
Phosphore (ppm)	0,06	Méthode Olsen	P < 5 ppm Niveau du phosphore assimilable très faible (Hanotiaux, 1985).

La pluviométrie et les précipitations pour l'année 2014/2015 sont rapportées dans le **tableau 6** et **figure 10**.

Tab. 6 : Pluviométrie (mm) et températures (°C) pour la campagne agricole 2014/2015

Mois	Précipitations (mm)	T° min. (°C)	T° max. (°C)	T° moyenne
Novembre	66,6	10,9	22,5	15,5
Décembre	133,9	6,4	15,8	11,6
Janvier	98,9	5,1	13,7	10,5
Février	80	4,6	14,5	9,6
Mars	96,3	10,3	19,3	14,8
Avril	0	12,8	22,5	17,7
Mai	28,4	13,2	24,1	18,8
juin	2,6	18	27,6	27,8
Totaux	506,7	100,03	189,5	139,8

Source : Station météorologique (ENSA)

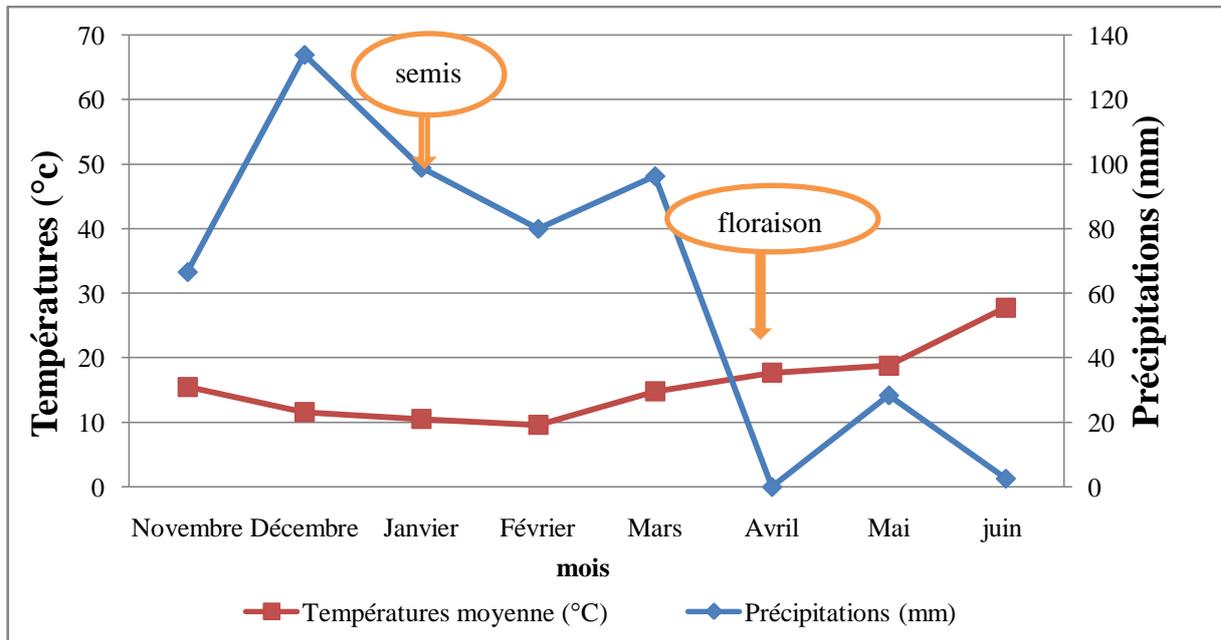


Fig. 10 : Evolution de la température et de la pluie au cours de la campagne d'étude (2014-2015)

La figure montre les conditions relativement favorables (pluviométrie et température) ayant accompagnées le semis, une diminution importante de la pluviométrie ayant atteint 0 mm avec une élévation considérable de la température coïncidant avec les phases sensibles du cycle de développement de la culture de la lentille, à savoir la floraison et le début formation de gousses.

VI.2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental mis en place est un dispositif en blocs aléatoires complets à raison de trois blocs, l'espacement entre les blocs est de 60 cm. Chaque bloc comprend 140 familles et le témoin non irradié est réparti d'une façon aléatoire sur chaque bloc. Chaque ligne (une famille) est représentée par 10 graines/bloc. L'espacement entre les lignes est de 30 cm et entre les graines à l'intérieur de la ligne est de 40 cm. Une ligne de témoin a été semée après chaque dix lignes (au total 14 lignes de témoin) (**Fig. 11 ; Annexe 3**).

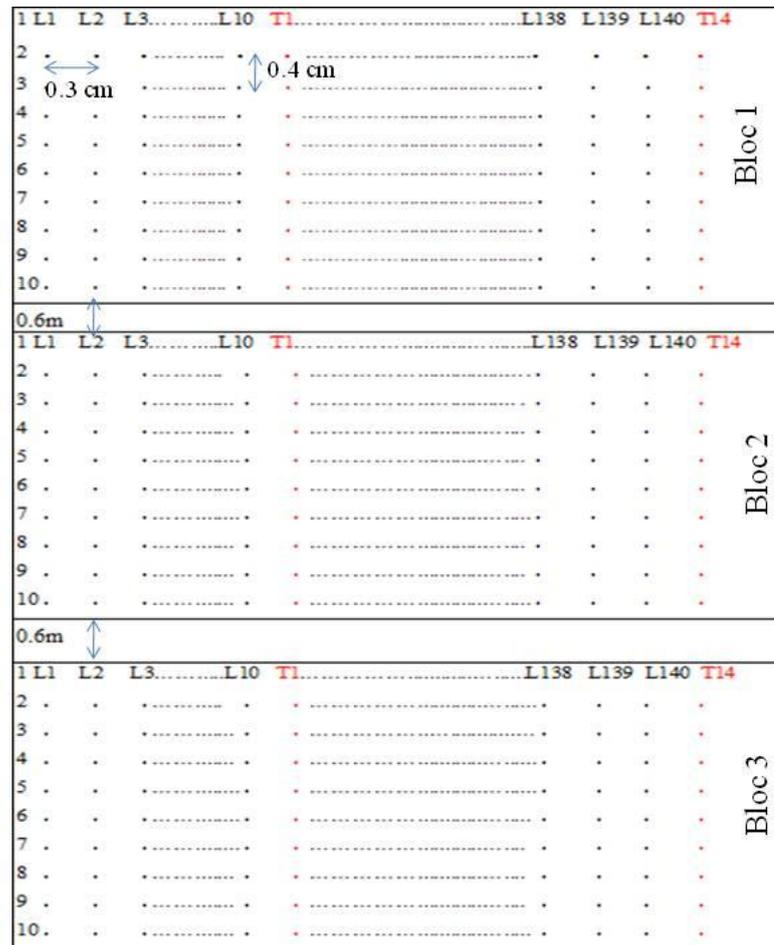


Fig. 11 : Schéma du dispositif expérimental (bloc aléatoire complet ; 3 blocs)

VI.3. Itinéraire technique

- Travail du sol

Le précédent cultural de la parcelle était une culture de maïs. Le travail du sol pour la parcelle d'étude a été effectué à l'aide d'un cover crop, d'une charrue à soc et à la fin une herse pour les façons superficielles.

- Fertilisation

Afin de procurer à la culture tous ses besoins en éléments fertilisants majeurs à savoir (N, P, K), nous avons effectué un apport en fertilisants le 23 décembre 2015 soit 15 jours avant le semis. Cet apport est composé de 3kg d'urée à 46% et 15 kg d'Agriphos « engrais phospho-potassique » (0, 20, 25).

- Semis

Le semis a été réalisé manuellement le 07 janvier 2015.

Les graines utilisées ont été traitées au préalable par un produit appelé Apron Star qui constitue un mélange de fongicides et d'insecticides. Les matières actives de ce produit sont :

Thiaméthoxame : 200 g/kg, Méfénoxam : 200 g/kg, Difénoconazole : 20 g/kg), ce produit a été utilisé à une dose de 2g/10 kg de semence.

Ce traitement permet de protéger la semence durant les premiers 40 jours qui suivent le semis.

- **Désherbage**

Un herbicide de pré-levée « Gesagard » a été appliqué juste après le semis (08/01/2015). La matière active est la Prométryne (500g/l). La dose d'application est de 2,5 l/ha.

Tout au long de l'essai, des dés herbages manuels ont été effectués. Les espèces des mauvaises herbes observées sont les suivantes : *Oxalis sp*, *Convolvulus arvensis* (Liseron des champs), *Elymus repens* (chiendent), *Matricaria perforata* (Matricaire inodore), *Xanthium strumarium* et l'espèce parasite *Orobanche sp* (**Annexe 4**).

- **Irrigation**

Dans le but d'étudier la tolérance ou la sensibilité des mutants à la sécheresse, l'essai a été mené en conditions pluviales, aucune irrigation n'a été effectuée.

- **Traitements phytosanitaires**

Un traitement contre les fourmis a été appliqué juste après la levée par l'utilisation de « Pychlorex » dont la matière active est la Chlorpyrifos. La dose d'application est de 1,77 l/ha.

- **Récolte**

Nous avons procédé à une récolte manuelle qui s'est étalée du 06 mai 2015 jusqu'au 14 mai 2015, à raison de l'échelonnement de la maturité des plants.

VI.4. Caractères étudiés

Dans le but d'étudier la variabilité, les caractères suivants ont été étudiés :

VI.4.1. Phénologie

- Date de début floraison (DF) ; le nombre de jours entre la levée et la première fleur apparue ;

- Date de 95% maturité (DM) ; le nombre de jours entre la levée et 95 % de maturité.

Ces caractères permettent de nous renseigner sur le caractère précoce ou tardif des génotypes.

VI.4.2. Caractères liés au port

Au champ les caractères suivants ont été notés :

- **Le type de port (PR)** : ce caractère traduit l'aspect général et le mode de croissance d'une plante. Pour présenter ce premier caractère, nous avons opté pour l'échelle de Saxena (2009) illustrée ci-dessous (**Fig. 12**).

Il a été noté un type intermédiaire entre « d » et « e » qui a été noté 6.

Ce type 6 se caractérise par une hauteur qui dépasse en général les 30 cm mais dont la distance entre le sol et la première ramification est inférieure à 10 cm.

Ce caractère est déterminant lorsque la récolte est mécanisée. En effet, l'un des buts de notre recherche basée sur la radio-mutagenèse est d'obtenir des ports érigés afin de minimiser les pertes lors de la moisson.

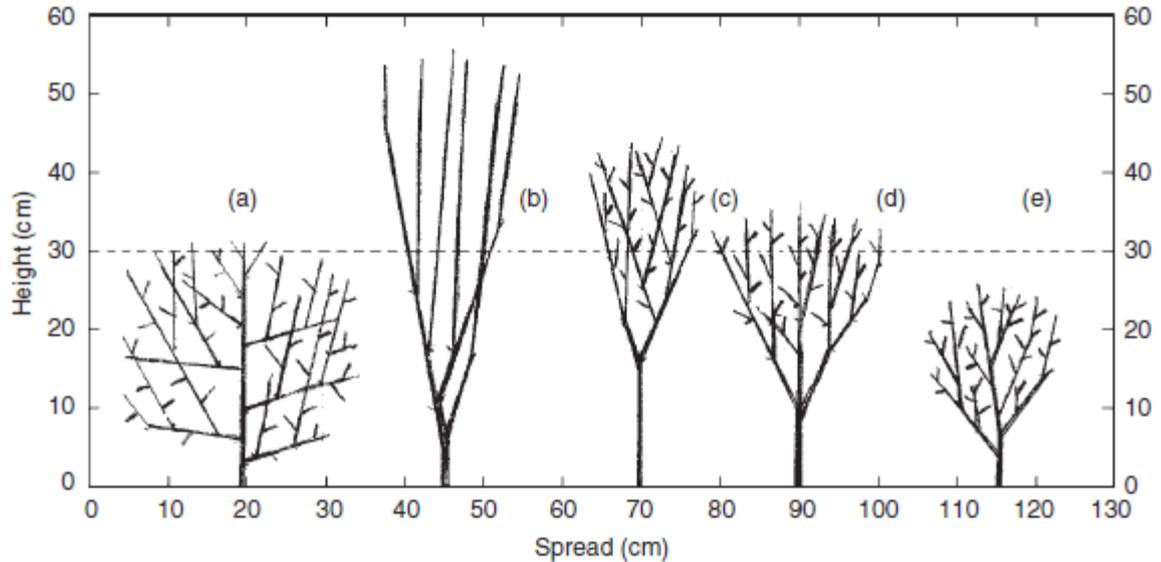


Fig. 12 : Représentation schématique de la variation dans le mode de ramification et de la structure de la plante pour la lentille : (a=1) très ramifiée touffue; (b=2) peu ramifiée, érigée; (c=3) modérément ramifiée, semi-érigée; (d=4) modérément ramifiée à très ramifiée, semi-haute, compacte; (d-e=6) haute, compacte (e=5) modérément ramifiée à très ramifiée, courte, compacte (Saxena, 2009)

- **La verse (VR) :** qui a été notée par absence (1) et présence (2).

Ces caractères sont déterminants pour mener une sélection des individus favorables à la récolte mécanisée.

- **La vigueur (VG) :** représente l'amplitude des végétaux à se développer.

Pour étudier ce caractère, nous avons établi une échelle, du moins rigoureux vers le plus rigoureux, à partir des observations effectuées sur le terrain. Les photographies ci-dessous illustrent l'échelle ainsi adoptée (**Fig. 13**).

Après la récolte, les caractères suivants ont été notés :

- **La hauteur de la tige (HT) :** distance qui sépare le collet de l'extrémité de la tige (en cm) ;
- **La hauteur de la première gousse (HPG) :** hauteur entre le collet et la première gousse la plus proche de ce dernier (en cm).

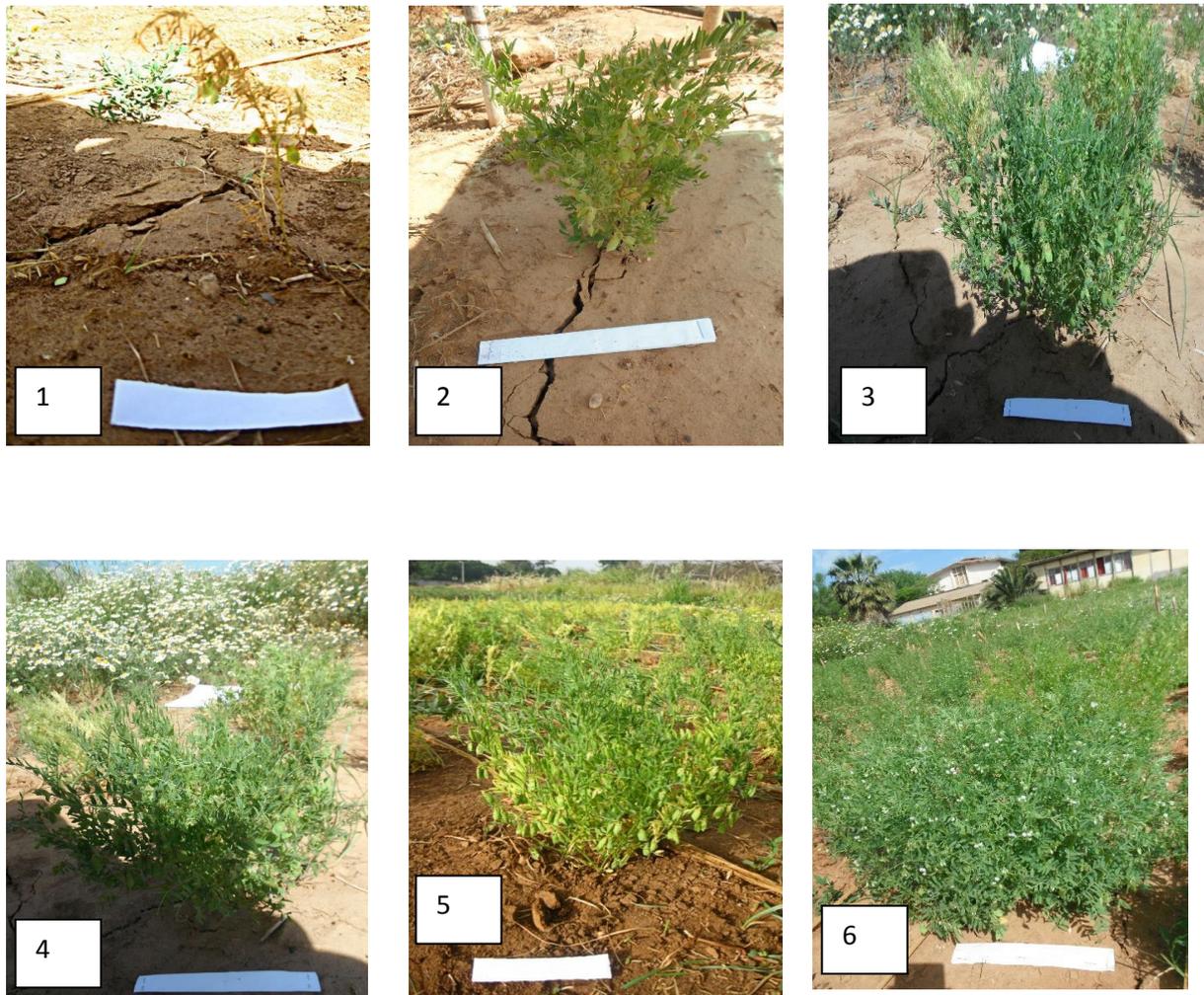


Fig. 13 : Echelle de vigueur adoptée pour les notations
(L'échelle du papier : 20 cm)

VI.4.3. Caractères liés au rendement

- Nombre de rameaux primaires (NRP) ;
- Nombre de gousses/pédoncule (NGP) ;
- Nombre de graines/gousse (NGG) ;
- Nombre total de gousses/plant (NTG) ;
- Rendement en grains/plant (RGP) : c'est le poids des graines/plant (en g) ;
- Poids de 100 grains (PCG) : 100 graines ont été prises au hasard et pesées (en g).

VII. Différents types de mutations

Au cours de l'essai, des mutations chlorophylliennes et morphologiques ont été notées.

VIII. Viabilité du pollen

Nous avons procédé au prélèvement des fleurs au stade plein floraison de 10 géotypes pris aux hasards (I1-1, I1-2, I1-3, I1-4, I1-5, I1-47, I1-48, I1-49, I1-50, I1-51) de chaque bloc à raison de cinq inflorescences par plant.

Au laboratoire, après prélèvement entre une lame et une lamelle, nous avons libéré le pollen contenu dans les anthères auquel nous avons ajouté une goutte d'acétocarmin (**Annexe 5**).

Nous avons utilisé un microscope optique pour la visualisation des échantillons sous les grossissements 4x10 et 10x10, ce qui nous a permis de procéder au comptage des grains de pollen en distinguant les grains de pollen ayant pris une coloration rouge (signe de fertilité) de ceux n'ayant pas pris cette coloration (signe de stérilité).

Cette opération a débouché sur la détermination d'un pourcentage de grains de pollen fertiles sur les fleurs prélevées.

IX. Analyses statistiques

Afin de déterminer la dose létale, une analyse statistique par la méthode des probits a été faite à l'aide du logiciel SPSS (version 20). Cette analyse se base sur la transformation des résultats de la germination en probits et la dose d'irradiation en logarithme décimal (Heinrichs *et al.*, 1981).

L'analyse de la variance (ANOVA) a été faite dans le but d'étudier la variabilité entre les géotypes par le logiciel Genstat, version 18 (VSN International, 2015).

La variance phénotypique (σ^2_p) et génotypique (σ^2_g) ont été calculées par la méthode proposée par Singh (2000).

Le coefficient de variation phénotypique (CVP) et génotypique (CVG) ont été calculés suivant Singh et Chaudhary (1985) et sont classés selon leur valeur en faible (< 10%), moyen (10-20%) et élevé (> 20%) (Sivasubramanian et Madhavamenon, 1973).

L'héritabilité au sens large (H^2) a été estimée selon Hanson *et al.* (1956) et elle a été classée selon Robinson *et al.* (1949) en 3 classes : faible (< 30%), moyenne (31-60%) et élevée (> 60%).

Selon Johnson *et al.* (1955a), le gain génétique attendu en pourcentage (%) (The expected genetic advance as percentage of mean) (GA %) a été estimé. Il est classé en faible (< 10%), moyen (10-20%) et élevé (> 20%) (Johnson *et al.*, 1955b).

Les coefficients de corrélation (r) ont été calculés par le logiciel SPSS, version 20 (IBM Corp., 2011). En plus des corrélations, et dans le but d'étudier les différentes associations entre les caractères étudiés et le rendement en grains et leurs effets directs et indirects sur ce dernier,

une autre analyse a été faite « l'analyse en Path » (Path coefficient analysis) selon la méthode illustrée par Dewey et Lu (1959).

Les coefficients « path » standards qui sont les coefficients de régression partiels standardisés et le diagramme de « path analysis » ont été obtenus par le logiciel AMOS graphics qui est une extension de SPSS.

Les effets indirects des différents caractères ont été calculés comme suit:

L'effet indirect de la variable i *via* la variable j sur la variable dépendante O qui est le rendement en grain : $P_{oj} \times R_{ij}$, où : P_{oj} est l'effet direct de la variable j sur la variable dépendante O ; et R_{ij} est le coefficient de corrélation entre les deux variables dépendantes.

L'analyse en composantes principales (ACP) a été faite avec le logiciel Statistica ver.6.

Pour l'analyse en « Cluster », les données ont été analysées pour déterminer la distance Euclidienne pour déterminer les groupes de mutants qui sont dissimilaires. Cette analyse a été faite par le logiciel PAST-multivaiate (version 3.13).

Pour identifier les familles de mutants qui sont significativement supérieures par rapport au parent non irradié, un test de comparaison multiple (Dunnett's test) a été fait en utilisant le logiciel Genstat, version 18 ((VSN International, 2015).

Best linear unbiased estimates of fixed effects (BLUEs) est utilisé pour l'estimation des effets fixes. En tant que tel, il représente exactement ce qui est arrivé dans notre essai (le génotype est considéré comme fixe). Cependant, il n'est pas le meilleur indicateur de ce qui pourrait arriver si nous répétons les essais. En effet, la meilleure prédiction linéaire non biaisée (Best lineaire unbiased prediction : BLUP) permet une évaluation simultanée des effets génétiques et du milieu.

Le meilleur prédicateur linéaire sans biais (Best Linear Unbiased Prediction : BLUP) est utilisé dans les modèles linéaires mixtes pour l'estimation des effets aléatoires. Le BLUP permet d'améliorer l'efficacité de sélection sur des critères que l'on choisit (le génotype est considéré comme aléatoire).

Les BLUPs ont été calculés en utilisant IBP Breeding Management System Version 3.0.8 (2015).

I. Détermination de la dose létale

La détermination de la dose létale d’irradiation est l’étape la plus importante avant de commencer un programme d’amélioration par la radio-mutagenèse.

Les résultats obtenus, dans notre étude, indiquent qu’il y a une différence très hautement significative entre les huit différentes doses de traitement de rayons gamma et le témoin ($P < 0.001$) (**Tab. 7**).

Tab. 7 : Tableau d’analyse de la variance des différentes doses d’irradiation

Source de variation	ddl	CM	F	P
Dose	8	314,7500***	195,3621	0,000000
Bloc	3	3,3611	2,0862	0,128643
Dose*bloc	24	1,6111		

Le pourcentage de germination des différentes doses de rayons gamma a été calculé. Ces pourcentages ont été corrigés par rapport à la germination du témoin sans irradiation.

Le pourcentage de germination le plus élevé (96.55%) est enregistré avec la dose 45 Gy et le plus faible (4.6%) avec la dose 400 Gy (**Tab. 8**). Un test de comparaison multiple des moyennes (Test Duncan) a été réalisé pour faire ressortir les groupes homogènes ; les résultats indiquent qu’il y a quatre groupes (**Annexe 6**).

Tab. 8 : Le nombre de plants germés, pourcentage de germination et pourcentage par rapport au témoin des différentes doses

Dose (Gy)	Nombre de plants germés	Pourcentage de germination	Pourcentage de germination par rapport au témoin
0	87	90,62	100 ^d
45	84	87,5	96,55 ^d
60	75	78,12	86,21 ^c
75	73	76,04	83,91 ^c
90	71	73,96	81,61 ^c
100	30	31,25	34,4 ^b
200	9	9,37	10,34 ^a
300	8	8,33	9,20 ^a
400	4	4,16	4,60 ^a
CV (%): 10,4			

Les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas différentes significativement (Test de comparaison multiple Duncan à 5 %)

Le pourcentage de germination diminue progressivement avec l’augmentation de la dose d’irradiation. Des résultats similaires ont été observés respectivement par Sharma et Sharma (1986), Solanki et Sharma (1994) et Singh *et al.* (2007), chez la lentille et par Girija et Dhanavel (2009) chez le niébé. Le changement dans le pourcentage de germination est dû au traitement

mutagène (Abdel-Hady *et al.*, 2008) ; dû, aussi au désordre du métabolisme dans les graines après le traitement aux rayons gamma, les graines deviennent incapables de germer ou de survivre plus de quelques jours (Kiong *et al.*, 2008). La destruction de l’auxine, des changements dans le contenu de l’acide ascorbique et des perturbations biochimiques après le traitement mutagène pourraient induire une inhibition de la germination (Shah *et al.*, 2008).

Les fréquences des dommages chromosomiques qui augmentent avec la dose d’irradiation pourraient être aussi la cause du faible taux de germination (Kiong *et al.*, 2008).

La courbe de la radiosensibilité pour la variété Idlib-3 est montrée dans la **figure 14**.

L’augmentation de la dose d’irradiation entraine un taux de mortalité élevé. La mortalité dépend de la dose d’irradiation et le paramètre réduction de 50% de germination (DL_{50}) a été estimé à 104.34 Gy (**Tab. 9**).

Tab. 9: DL_{50} d’irradiation par rayons gamma de la variété Idlib-3

Modèle	Paramètres de l’équation	R ²	LD ₅₀
Probit (Y)=a + bx	a=6,56 b=-3,25	0,92	104,34 ($10^{2,018} = 104,34$)

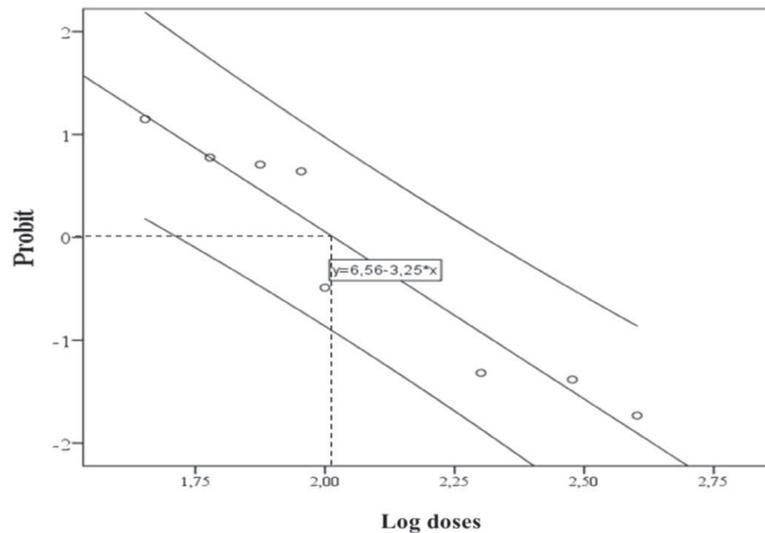


Fig. 14 : La courbe de la radiosensibilité de la variété Idlib-3 (l’analyse en probit)

Les résultats obtenus par Sharma et Sharma (1986) révèlent que la DL_{50} pour la germination varie entre 92 et 107 Gy pour le groupe des *macrosperma* et entre 135 et 186 Gy pour le groupe des *microsperma*. De même Malik *et al.* (1998) ont trouvé que la radiosensibilité varie entre 516 et 162 Gy dans leur étude sur huit génotypes de lentille avec différents taille de grains, avec une moyenne de 250 Gy comme DL_{50} pour la survie.

II. Caractérisation de la deuxième génération M₂

II.1. La variation dans le nombre de plants M₂

En M₂, une réduction dans le nombre de plants vivants à chaque stade a été observée, et seulement 37.29 % des plants ont pu produire des graines (**Fig. 15**). Ceci a été observé sur le terrain, au fur et à mesure que le cycle de la culture avance, les pertes des plants se font de plus en plus. Nous avons remarqué que les premiers plants récoltés avaient plus de graines contrairement aux plants qui ont été récoltés tardivement. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les familles tardives n'ont pas pu supporter la sécheresse tardive ou bien que l'effet du mutagène a un effet non pas seulement sur la germination mais aussi sur la fertilité et la production de semences. Shah *et al.* (2008) ont trouvé des résultats similaires sur le pois chiche. Arisha *et al.* (2015), aussi dans leurs étude sur le poivron, ont remarqué une réduction dans le pourcentage de survie à chaque stade de la culture et essentiellement au stade maturité.

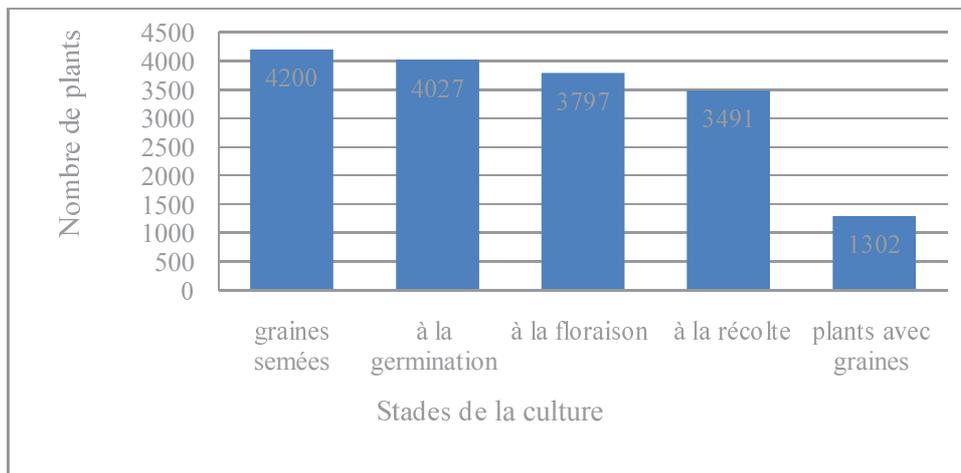


Fig. 15 : Evolution du nombre de plants dans les différents stades de la culture

II.2. La viabilité du pollen

Les observations de grains de pollen, sous microscope photonique à différents grossissements, ont révélé une coloration en rouge, de presque la totalité des grains de pollen, ce qui indique leur fertilité (**Fig. 16**). Cependant, il y a des grains de pollen de quelques familles qui n'ont pas été coloré en rouge, ce qui indiquerait leur stérilité. Cela signifierait que la dose utilisée n'a pas un grand effet sur la fertilité du pollen. Autre hypothèse pour les causes qui pourraient causer la stérilité du pollen, il y a les effets physiologiques (Singh *et al.*, 2007).

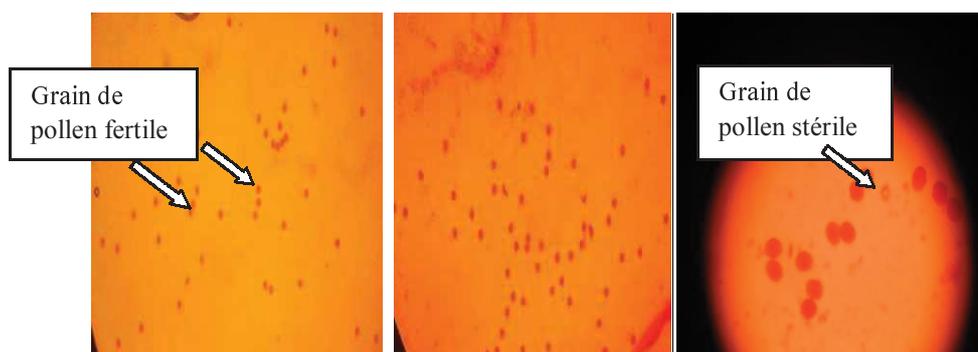


Fig. 16 : Grains de pollen observés sous microscope optique

II.3. Les différents types de mutations viables et chlorophylliennes

L'efficacité du mutagène est entièrement expliquée par la fréquence des mutations induites. En M_2 , différents types de mutation viables et chlorophylliennes ont été observées (Tab. 10).

Tab. 10 : Les différents types de mutations observées en M_2

Type de mutants	Nombre	Pourcentage
Mutations chlorophylliennes	116	2,76
Arrêt de croissance	48	1,14
Nanisme	15	0,35
4 gousses/pédoncule	3	0,07
Aberrations du feuillage	3	0,07

La fréquence des mutations chlorophylliennes est de 2,76 %. Des mutations de type xantha, viridis et chlorina ont été notés (Fig. 17).

Les mutations chlorophylliennes, bien qu'elles ne soient pas utiles pour l'amélioration des plantes, elles sont un index important pour l'évaluation de l'efficacité et l'efficacité du traitement mutagène destiné à créer une variabilité afin de sélectionner la dose optimale de manière à pouvoir l'utiliser dans un programme d'amélioration par mutagenèse (Makeen *et al.*, 2013 ; Usharani et Kumar, 2015). Elles se produisent suite à une altération soit de l'un des gènes responsables de la biosynthèse de la chlorophylle soit de leurs régulateurs sous l'effet du traitement mutagène, ce qui engendre une décoloration du feuillage ou de la plante entière (Masuda, 2008).



Fig. 17: Les mutations chlorophylliennes observées en M₂. a : témoin ; b : xantha ; c : viridis ; d : chlorina

Sharma et Sharma (1981) ont observé 2,55% et 1,26 % de mutations chlorophylliennes chez les lentilles *macrosperma* et *microsperma* en utilisant la dose de 100 Gy, par contre Paul et Singh (2002) ont trouvé 0.8% chez le groupe *microsperma* avec les doses 100 et 150 Gy. Chez les espèces voisines, 1,21 et 2,42 % de mutants chlorophylliens ont été observés chez le soja avec la dose de 150 Gy (Khan et Tyagi, 2009) et 1,66, 2,21 et 2,61 % chez le haricot avec les doses 50, 100 et 150 Gy, respectivement (Bhosle et Kothekar, 2010).

Concernant les mutations viables observées dans cette étude (**Fig. 18**), il s'agit de l'arrêt de croissance, du nanisme, des aberrations du feuillage et une variation dans le caractère des gousses. Trois mutants avec 4 gousses/pédoncule ont été observés et 3 autres avec un feuillage différent par rapport au témoin. Les mutations viables sont le résultat d'un réarrangement chromosomique causé par l'irradiation (Ehrenberg *et al.*, 1961).

Des nanismes ont été observés dans les populations M₂ chez le pois chiche (Kharkwal, 2000), le niébé (Girija et Dhanavel, 2009) et la gesse (Talukdar, 2009).



Fig. 18 : Les différentes mutations viables observées en M₂. a, b : nanisme ; c : aberration de feuillage ; d : décoloration de feuillage.

III. Etude de la variabilité induite en M₂

III.1. L'analyse de variance (ANOVA)

L'ANOVA a révélé une différence très hautement significative entre les familles de mutants pour tous les caractères étudiés ($p < 0.001$) (**Tab. 11**), ce qui indique l'existence d'une variabilité génétique pour tous les caractères étudiés.

Tab. 11: Carrés moyens, moyennes, minima et maxima des dix caractères phénologiques et morphologiques

Caractère	CM	Moyenne \pm SE	Min-Max
DF	39,65***	89,08 \pm 0,76	86,47-95,76
DM	37,24***	125,40 \pm 0,54	122,80-127,40
HT	60,93***	26,57 \pm 1,05	22,66-30,69
HPG	17,65***	9,75 \pm 0,73	7,59-11,67
NRP	1,73***	2,67 \pm 0,21	2-3,19
NGP	0,78***	1,29 \pm 0,13	0,88-1,81
NGG	0,05***	1,03 \pm 0,02	0,67-1,12
NTG	8350***	39,65 \pm 10,86	15,26-112,52
RGP	22,1***	1,28 \pm 0,46	0,03-4,83
PCG	3,26***	2,81 \pm 0,16	1,66-3,79

Une large variabilité a été notée chez plusieurs caractères, tels que la date de floraison (86,47-95,76 jours), la hauteur de la première gousse (7,59-11,67cm), le nombre total de gousses/plant (15,26-112,52 gousses), le rendement en grains/plant (0,03-4,83g) et le poids de 100 grains (1,66-3,79g). Plusieurs auteurs ont trouvé des résultats similaires sur la lentille (Tyagi et Khan, 2010 ; Roy *et al.*, 2013). L'amplitude de variabilité trouvée pour certains caractères pourrait être exploitée pour le développement de nouveaux génotypes (**Tab. 11**).

III.2. Les paramètres génétiques : CVG, CVP, H² et GA %

Les différents paramètres génétiques (CVG, CVP, H² et GA %) sont montrés dans le **tableau 12**.

Les valeurs du coefficient de variation phénotypique (CVP) sont supérieures par rapport à celles de coefficient de variation génotypiques (CVG) pour tous les caractères étudiés. Ceci indique l'effet de l'environnement sur l'expression de ces caractères. Ainsi, une large différence entre les deux valeurs pour les caractères : hauteur de la tige, hauteur de la première gousse, nombre de rameaux primaires, nombre de gousses/pédoncule, nombre total de gousses/plant, rendement en grains/plant et poids de cent grains, indique aussi l'effet positif des facteurs environnementaux dans l'expression de ces caractères. Cependant, une différence faible entre les deux valeurs pour les caractères : début floraison, 95 % maturité et nombre de graines/gousse,

indiquerait une faible influence de l'environnement et une contribution majeure des facteurs génétiques dans l'expression de ces caractères (Gautam *et al.*, 2014).

Des valeurs élevées (> 20%) de CVP et CVG ont été trouvées pour le rendement en grains/plant, le nombre de gousses/plant, le nombre de rameaux primaires, le nombre de gousses/pédoncule et le poids de 100 grains, alors que des valeurs faibles (< 10%) de ces deux paramètres ont été trouvées pour le début floraison et la maturité. Des résultats similaires pour le nombre de rameaux primaires et le rendement en grains ont été notés par plusieurs auteurs chez la lentille (Tyagi et Khan 2010 ; Singh et Srivastava, 2013 ; Rana et Solanki, 2014).

Pour une meilleure détermination de la variation héritable de chaque caractère, l'héritabilité associée au gain génétique exprimé en pourcentage et aussi au CVG sont utilisés et sont trouvés plus efficaces que l'héritabilité seule dans un programme de sélection (Bisne *et al.*, 2009 ; Chatterjee *et al.*, 2012).

Dans notre étude, des valeurs élevées de l'héritabilité, de GA % et de CVG sont notées pour le rendement en grains/plant et le poids de cent grains, ce qui indique l'expression de l'additivité des gènes et donc une meilleure réponse à la sélection de ces caractères (Chatterjee *et al.*, 2012). Cependant, une héritabilité et un GA % élevés et un CVG faible pour les caractères tels que le nombre de graines/gousse, indique l'expression de gènes non additifs et donc la sélection pourrait être non efficace pour ces caractères.

Tab. 12 : L'estimation des différents paramètres génétiques pour les caractères morphologiques, phénologiques et les composantes de rendement pour 140 familles et le témoin non irradié en M₂

Caractère	σ^2_p	σ^2_g	CVP	CVG	h^2	GA %
DF	18,93	10,36	4,89	3,61	54,70	5,51
DM	15,27	10,98	3,12	2,64	71,92	4,62
HT	31,38	14,78	21,08	14,46	47,09	20,45
HPG	11,27	3,19	34,4	18,3	28,31	20,06
NRP	1,02	0,36	37,78	22,38	35,11	27,32
NGP	0,42	0,18	49,69	32,77	43,50	44,52
NGG	0,02	0,02	14,77	12,94	76,78	23,36
NTG	3962,00	2194,00	157,68	117,34	55,38	179,87
RGP	9,51	6,29	239,47	194,79	66,17	326,41
PCG	1,35	0,96	41,17	34,71	71,07	60,27

III.3. Corrélations et l'analyse en « Path »

Les corrélations sont présentées dans le **tableau 13**. Le rendement en grains/plant présente une corrélation positive et significative avec la hauteur de la tige, la hauteur de la première gousse, le nombre de rameaux primaires, le nombre de gousses/pédoncule, le nombre total de gousses/plant, le nombre de graines/gousse et le poids de cent grains ; alors qu'il présente

une corrélation négative avec le début floraison et 95 % de maturité, ce qui indiquerait que les familles précoces sont les plus productives.

Plusieurs auteurs ont trouvé des résultats similaires chez la lentille (Younis *et al.*, 2008 ; Racheed *et al.*, 2008 ; Latif *et al.*, 2010 ; Tyagi et Khan, 2010) et chez le soja (Malek *et al.*, 2014). L'étude des corrélations entre le rendement en grain et les autres caractères quantitatifs est primordiale dans un programme de sélection (Raturi *et al.*, 2015).

En plus des corrélations, connaître l'effet direct et indirect de chaque caractère sur le rendement en grains (l'analyse en « path ») est important dans un programme de sélection.

Les effets directs et indirects des différents caractères observés sont indiqués dans le **tableau 14** et la **figure 19**.

L'effet direct du nombre total de gousses/plant sur le rendement en grains/plant est le plus élevé, ce qui indique que le rendement pourrait être augmenté directement et indirectement en augmentant le nombre total de gousses/plant. Jain *et al.* (1991) indiquent que le nombre de gousses/plant est le meilleur critère pour améliorer le rendement chez la lentille. Chakraborty et Haque (2000) et Tyagi et Khan (2010) ont trouvé les mêmes résultats chez la lentille.

L'effet indirect le plus élevé a été noté par le nombre de gousses/pédoncule. L'effet direct du nombre de rameaux primaires sur le rendement en grains est négatif et significatif, tandis que son effet indirect *via* le nombre total de gousses/plant est positif.

Le poids de cent grains a enregistré un effet direct positif et significatif sur le rendement en grain et un effet indirect aussi positif *via* les autres caractères. Le nombre de gousses/pédoncule a un effet direct positif mais non significatif ; son effet indirect *via* le nombre de gousses/plant est positif et élevé.

Le début floraison et 95% de maturité ont enregistré un effet direct positif sur le rendement en grains et un effet indirect négatif *via* le nombre de graines/gousse, le nombre total de gousses/plant et le poids de cent grains.

La hauteur de la tige et la hauteur de la première gousse ont un effet direct négatif sur le rendement en grains, tandis que leurs effets indirect *via* le nombre de graines/gousse, le nombre total de gousse/plant et le poids de cent grain est positif.

Chakraborty et Haque (2000) ont noté un effet direct positif du nombre de gousses/plant et un effet direct négatif du début floraison et la maturité, tandis que Latif *et al.* (2010) ont trouvé un effet direct positif de la maturité, la hauteur de la tige et un effet négatif du début floraison.

Reddy (2013) a noté également l'effet direct positif de la hauteur de la tige sur le rendement en grains.

Tab. 13 : Les coefficients de corrélation entre les caractères morphologiques, phénologiques et les composantes de rendement pour les 140 familles et le témoin non irradié en M₂

Caractères	DF	DM	HT	HPG	NRP	NGP	NTG	NGG	RGP
DM	0,251**	1,00							
HT	-0,313***	-0,206*	1,00						
HPG	-0,170*	-0,161	0,595***	1,00					
NRP	-0,083	-0,446***	0,463***	0,312***	1,00				
NGP	-0,151	-0,545***	0,419***	0,449***	0,45***	1,00			
NTG	-0,235**	-0,777***	0,434***	0,253**	0,457***	0,699***	1,00		
NGG	-0,141	-0,366***	0,195*	0,086	0,173*	0,332***	0,489***	1,00	
RGP	-0,194*	-0,568***	0,365***	0,175*	0,291***	0,574***	0,852***	0,543***	1,00
PCG	-0,166*	-0,389***	0,020	0,074	0,236**	0,327***	0,394***	0,155	0,452***

*, **, ***: corrélations significatives à 0.05, 0.01 et 0.001 de probabilité respectivement

Tab. 14: Les effets directs et indirects des différents caractères morphologiques, phénologiques et les composantes de rendement sur le rendement en grain des 140 familles et le témoin non irradié en M₂

Caractère	DF	DM	HT	HPG	NRP	NGP	NGG	NTG	PCG	effet indirect	effet direct	corrélation totale
DF		0,0638	0,0022	0,0017	0,0073	0,0041	-0,0230	-0,2275	-0,0292	-0,2000	0,01	-0,19*
DM	0,0025		0,0014	0,0016	0,0392	0,0147	-0,0597	-0,7521	-0,0685	-0,8200	0,254**	-0,566***
HT	-0,0031	-0,0523		-0,0060	-0,0407	-0,0113	0,0318	0,4201	0,0352	0,3730	-0,007	0,366***
HPG	-0,0017	-0,0409	-0,0042		-0,0275	-0,0121	0,0140	0,2449	0,0130	0,1850	-0,01	0,175*
NRP	-0,0008	-0,1133	-0,0032	-0,0031		-0,0122	0,0282	0,4424	0,0415	0,3790	-0,088*	0,291***
NGP	-0,0015	-0,1384	-0,0029	-0,0045	-0,0396		0,0541	0,6766	0,0576	0,6010	-0,027	0,574***
NGG	-0,0014	-0,0930	-0,0014	-0,0009	-0,0152	-0,0090		0,4734	0,0273	0,3790	0,163	0,542***
NTG	-0,0024	-0,1974	-0,0030	-0,0025	-0,0402	-0,0189	0,0797		0,0693	-0,1150	0,968***	0,853***
PCG	-0,0017	-0,0988	-0,0014	-0,0007	-0,0208	-0,0088	0,0253	0,3814		0,2740	0,176**	0,45***

*, **, ***: significatif à 0,05, 0,01 et 0,001 de probabilité respectivement

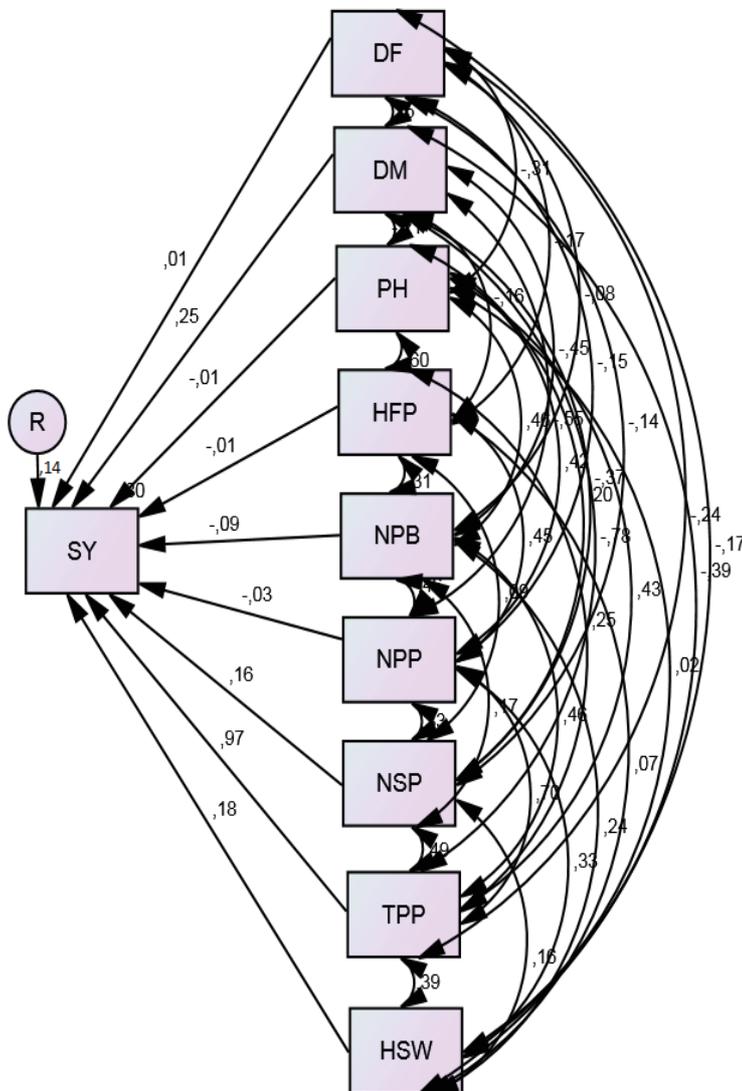


Fig. 19 : Le diagramme de l'analyse en « path » montrant les effets directs et indirect des caractères morphologiques et phénologiques sur le rendement en grains

PH : plant height (hauteur de la tige) ; HFP : height of first pod (hauteur de la première gousse);
 NPB : number of primary branches (nombre de rameaux primaires); NPP: number of pods/peduncle (nombre de gousse/pédoncule); NSP : number of seeds/pod (nombre de graines/gousse); TPP: total number of pods/plant (nombre total de gousses/plant); HSW : hundred seed weight (poids de cent grains); SY : seed yield/plant (rendement en grains/plant).

III.4. Analyse en composante principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur l'ensemble des caractères. Les axes 1 et 2 représentent 50.97 % de la variation (**Fig. 20**).

Le plan factoriel de l'ACP est constitué par le croisement du premier et du second axe. Ce plan permet de visualiser la position des différentes variables. Pour déterminer la source de variabilité représentée par le premier axe, on oppose les éléments situés à droite contre ceux qui sont situés à gauche. On remarque pour cet axe (34.13 % de la variation totale) que le début floraison et la maturité s'opposent aux autres paramètres. A cet effet, on peut dire que l'axe 1 traduit la relation entre la phénologie et les autres paramètres morphologiques et ceux liés au rendement.

En ce qui concerne le deuxième axe (16.48 % de la variation totale), on oppose les éléments situés en haut contre ceux situés en bas. A partir de cela, on constate que les paramètres liés au port : port, vigueur, hauteur de la tige et hauteur de la première gousse (PR, VG, HT, HPG) s'opposent aux paramètres liés au rendement à savoir le nombre de gousses/pédoncule, nombre de graines/gousse, nombre total de gousses/plant et le poids de cent grains (NGP, NGG, NTG et le PCG).

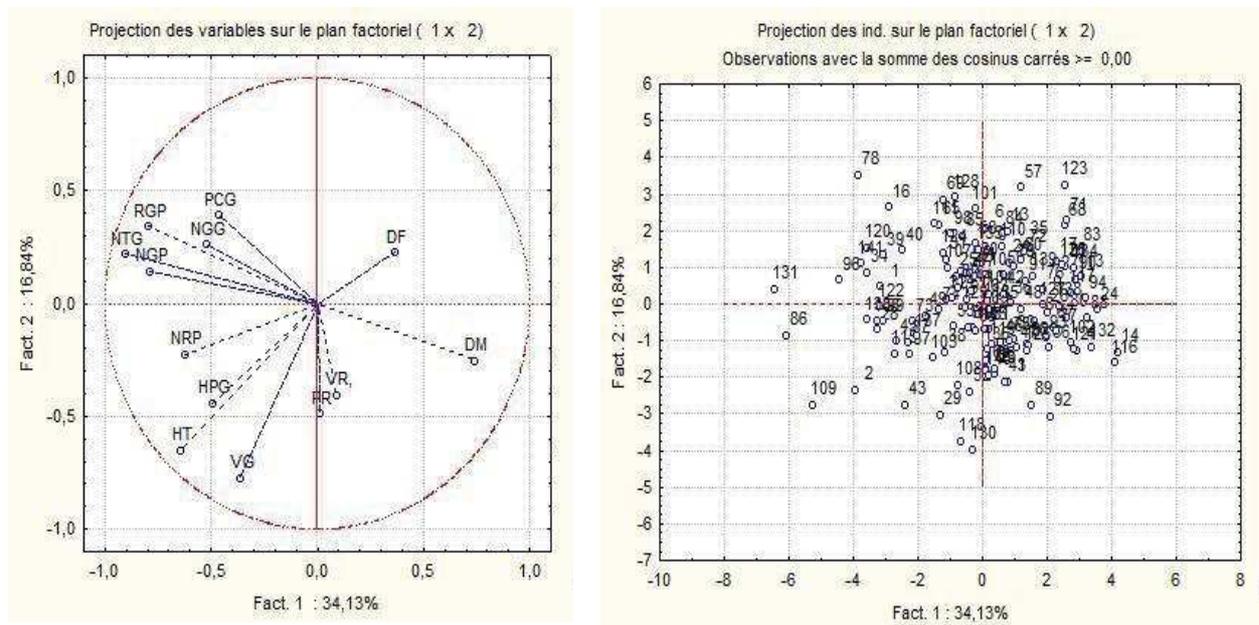


Fig. 20 : Représentation sur le plan factoriel (1-2) de l'ACP des différentes variables et les familles de mutants

III.5. Etude des relations verse-vigueur et verse-port

Le nombre d'individus de mutants présentant les différents types de port et de vigueur et la relation de ces deux derniers paramètres avec la verse, sont mentionnés dans les **figures 21 et 22**.

Pour le port, on remarque que le type de port 1 représente le plus grand nombre d'individus avec 3037 individus (71,78 %) et le port 5 représente le plus faible nombre avec seulement 20 individus (0,47 %).

En ce qui concerne la verse, on remarque qu'elle est présente chez les 6 types de port.

Le pourcentage de verse le plus élevé est enregistré chez les individus du port 4 (54,5%) et ceux du port 6 (50,8%). Les individus du port 6 présentent un pourcentage de 29,1%.

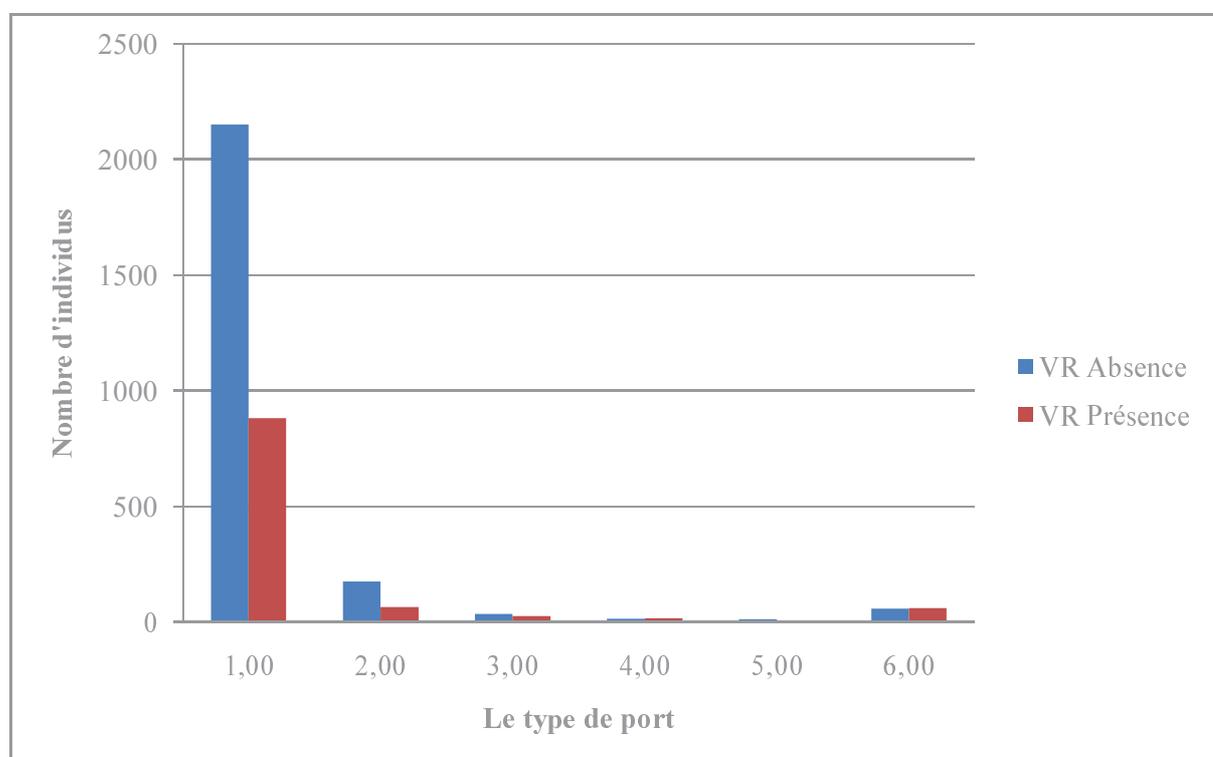


Fig. 21 : Diagramme d'effectif de chaque port en relation avec la verse

Pour la vigueur, on remarque que la vigueur 4 représente le plus grand nombre d'individus avec 1 426 individus (33,70 %) et la vigueur 1 représente le plus faible nombre avec seulement 93 individus (2,2 %).

En ce qui concerne la verse, la **figure 24** montre que la verse augmente avec la vigueur. Le pourcentage le plus faible a été enregistré par la vigueur 1 (4,3%) et le plus élevé par la vigueur 6 (35,52 %). Il serait donc intéressant de sélectionner les individus qui n'ont pas versé. Ceux-ci sont plus adaptés à la récolte mécanique.

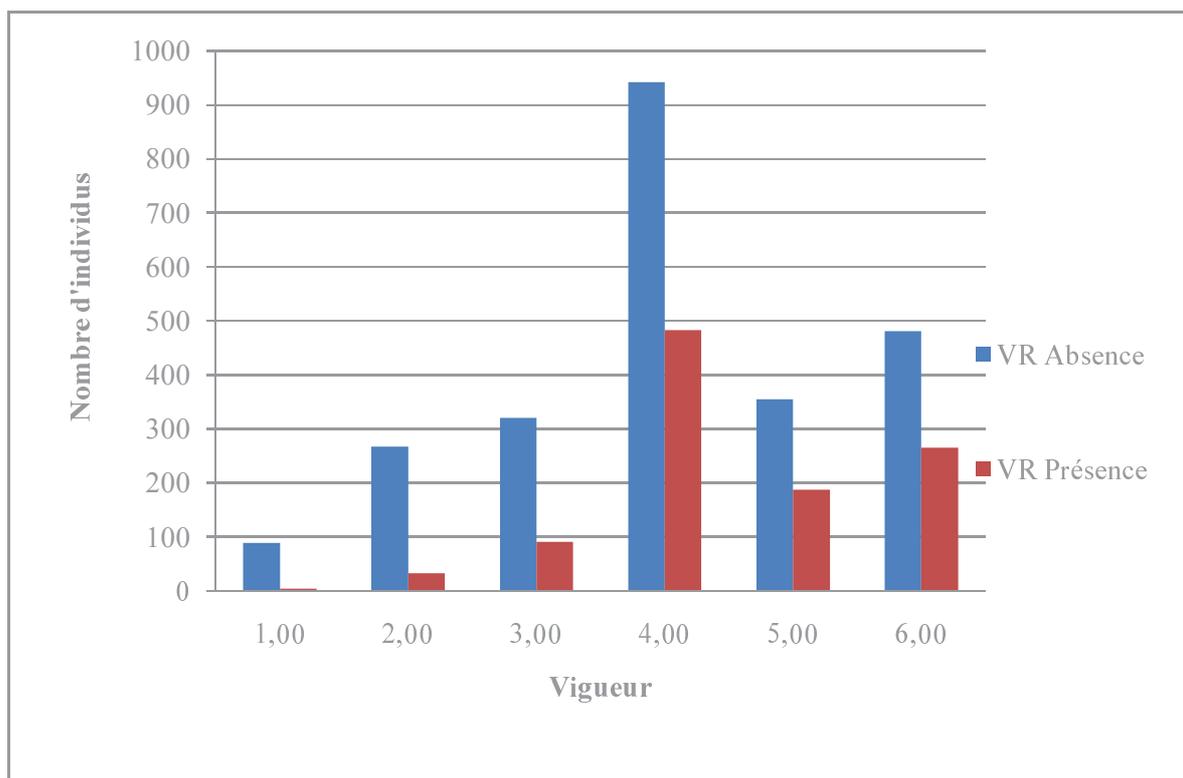


Fig. 22 : Diagramme d'effectif de chaque vigueur en relation avec la verse

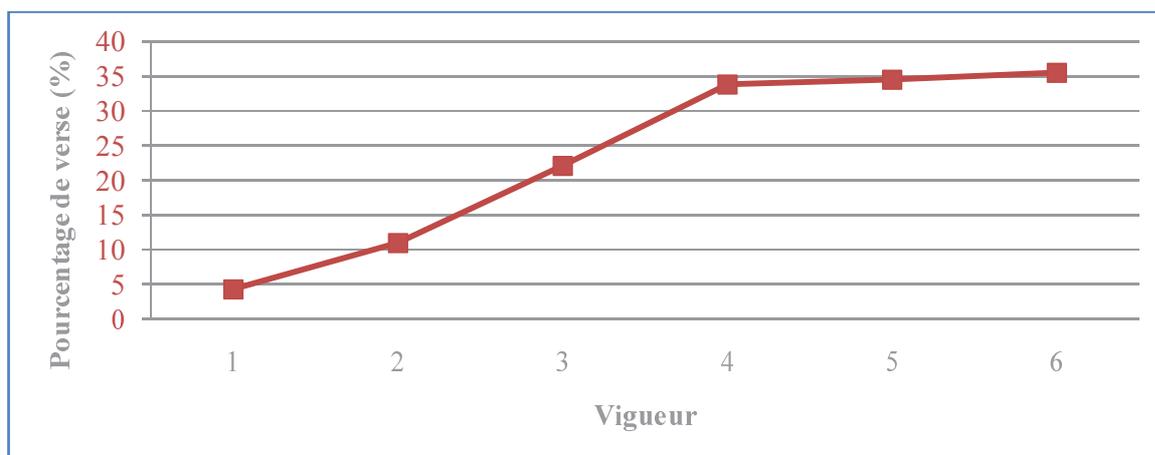


Fig. 23 : Evolution du pourcentage de la verse en fonction de la vigueur

III.6. Test de comparaison des moyennes Dunnett's

Afin de faire ressortir les meilleures familles par rapport au témoin non irradié, le test de comparaison multiple de « Dunnett » a été utilisé ; son principe est de classer un groupe d'individus par rapport à un contrôle. Seulement, les caractères phénologiques, les caractères liés au rendement et le rendement, sont pris en compte (Tab. 14). Les résultats montrent que le nombre de familles qui ne sont pas différentes du témoin non irradié varie entre 32 et 140 familles selon le caractère ; pour le caractère nombre de rameaux primaires, toutes les familles ont présenté une différence non significative, ce qui indiquerait que toutes les familles ont

montré un même nombre de rameaux primaires par rapport au témoin et que pour ce caractère, la radio-mutagenèse n'a pas d'effet.

Le nombre de familles qui sont significativement supérieures par rapport au témoin varient entre 1 et 7 (**Tab. 15**) ; pour le rendement en grains/plant, le test a fait ressortir 7 familles qui sont significativement supérieures par rapport au témoin. Ces 7 familles pourraient être utilisées dans un programme de sélection futur, tandis que le nombre de familles qui sont significativement inférieures varient entre 1 et 108. L'infériorité, du début floraison et de la maturité, est recherchée en agronomie car il correspond à la précocité.

Tab. 15 : La performance de 140 familles avec le test de comparaison multiple « Dunnett »

Caractère	Inférieures	Différences non significatives	Supérieures
DF*	108	32	0
DM*	40	99	1
HT	2	136	2
HPG	2	138	0
NRP	0	140	0
NGP	99	41	0
NGG	1	136	3
NTG	60	79	1
PCG	52	87	1
RGP	73	60	7

* : les valeurs précoces qui ont été prises en compte comme supérieures

Au total 13 familles qui ont été notées supérieures par rapport au témoin pour la maturité, la hauteur de la tige, le nombre de graines/gousse, le nombre total de gousses/plant, le poids de 100 grains et le rendement en grains/plant (**Tab. 15**). Deux familles (5 et 90) ont montré une supériorité pour deux caractères. La famille 5 a été notée supérieures pour la hauteur de la tige (30.69 cm) et le rendement en grain/plant (4,43g) et la famille 90 pour le nombre total de gousses/plant (112,52 gousses) et le rendement en grains/plant (3,07 g).

Aucune famille ne s'est présentée supérieure pour la date de floraison par contre une seule famille (68) a montré une supériorité significative/témoin pour la date de 95% maturité.

Pour le caractère hauteur de la première gousse, aucune famille ne s'est présentée supérieure significativement/témoin ; ce caractère est important pour la sélection de génotypes adaptés à la récolte mécanisée.

Aussi, pour les caractères nombre de rameaux primaires et nombre de gousses/pédoncule, aucune famille n'a montré une supériorité significative.

La famille 33 a été la seule famille qui a montré une supériorité significative/témoin pour le poids de cent grains (3,78g), mais son rendement en grains est largement faible (0,62 g).

Parmi les 13 familles, les suivantes : 68, 5, 11, 84, 118, 33, 75, 134, 133 et 42, bien qu'elles ont montré une supériorité pour certains caractères, elles aussi, ont montré une infériorité significative pour d'autres caractères (**Tab. 16**).

Les familles qui ont été classées significativement inférieures/témoin sont présentées dans les annexes 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 et 16.

Tab. 16 : Les moyennes de 13 familles supérieures par rapport au témoin

Famille	DF	DM	HT	HPG	NRP	NGP	NGT	NGG	RGP	PCG
68	89,7*	<u>122,8</u> **	27,59	9,79	3,19	1,34*	66,17	1,06	2,24	2,76
70	87,97	123,5	<u>30,5</u> **	11,12	2,98	1,41	75,01	1,06	2,18	3,23
5	86,61	124,5	<u>30,69</u> **	10,14	2,70	1,24*	97,72	1,10	<u>4,83</u> **	3,20
11	89,1*	127*	25,54	9,18	2,48	1,27*	31,37*	<u>1,11</u> **	2,14	2,60*
84	89,9*	124,5	26,68	10,03	2,52	1,45	50,46	<u>1,11</u> **	1,64	2,53*
118	90,3*	125,6	26,49	9,73	2,52	1,54	37,71	<u>1,12</u> **	1,196	2,29*
90	87,09	123,3	29,34	9,83	3,10	1,72	<u>112,52</u> **	1,08	<u>3,07</u> **	2,83
33	88,74	126,5*	24,01	9,28	2,25	0,97*	18,53*	1,007	0,62*	<u>3,78</u> **
59	86,6	123	27,67	10,32	2,62	1,57	71,71	1,07	<u>2,90</u> **	3,02
75	89,66*	126,7*	27,79	10,29	2,25	1,35*	40,44	1,06	<u>2,91</u> **	2,91
134	89,39*	125,2	26,99	10,43	2,65	1,48	62,98	1,05	<u>2,99</u> **	2,89
133	90,01*	125,6	26,9	10,26	2,82	1,52	58,27	1,07	<u>3,84</u> **	3,14
42	90,69*	124,6	26,79	9,64	2,86	1,65	84,42	1,09	<u>3,84</u> **	3,04
Idlib-3	86,47	124,4	26,73	10,4	2,633	1,807	68,8	1,049	1,668	3,209
SE (±)	0,402	0,366	0,480	0,135	0,0757	0,0574	6,908	0,00827	0,304	0,0979

** : significativement supérieures/témoin ; * : significativement inférieures/témoin

(Pour DF et DM, les valeurs précoces qui ont été prises comme supérieures).

III.7. Le meilleur prédicteur linéaire sans biais (BLUPs)

Les BLUPs sont communément utilisés chez plusieurs espèces telles que la canne à sucre et l'arachide pour augmenter l'efficacité de la sélection (Resende et Barbosa, 2006). Ils sont plus efficaces qu'une simple sélection phénotypique (Aleta *et al.*, 2004). Pour les programmes d'amélioration par mutagenèse sur les légumineuses alimentaires, très peu de travaux ont utilisé les BLUPs pour la sélection de mutants. Cependant, chez les espèces fruitières, la méthode des BLUPs a été largement utilisée pour une meilleure sélection de mutants (Imai *et al.*, 2016).

Dans notre étude, les BLUPs ont été calculés et ils ont fait ressortir 24 meilleures familles par rapport au témoin pour le rendement en grains/plant (**Tab. 17**).

Le rendement en grains/plant varie entre 1,61 et 3,56 g. Les 3 meilleures familles (5, 42 et 90) pour le rendement en grains/plant présentent aussi des valeurs élevées de la hauteur de la tige, du nombre total de gousses/plant, le nombre de rameaux primaires, et la date de maturité (précocité). Les autres familles aussi présentent des valeurs supérieures par rapport au témoin pour tous les caractères sauf pour la date de floraison, le nombre de gousses/pédoncule et le poids de 100 grains.

Neuf familles (5, 90, 42, 133, 59, 134, 68, 70 et 75) ont été classées supérieures par rapport au témoin par le test de « Dunnett » ; elles ont été aussi classées meilleures par les BLUPs dont sept sont meilleures pour le rendement en grains/plant ; ceci pourrait confirmer la supériorité de ces familles.

Pour une meilleure sélection, on a aussi fait ressortir les meilleures familles par les BLUPs pour les autres caractères (**Annexes 17, 18, 19, 20, 21 et 22**).

Tab. 17 : Identification des 24 meilleures familles pour le rendement en grains/plant par la méthode des BLUPs

Famille	DF	DM	HT	HPG	NRP	NGP	NGT	NGG	RGP	PCG
5*	87,176	124,631	29,454	9,914	2,683	1,264	83,342	1,077	3,562	2,991
42*	90,296	124,743	26,689	9,674	2,761	1,524	72,628	1,068	2,734	2,895
90*	87,576	123,563	28,434	9,759	2,890	1,574	94,467	1,071	2,577	2,813
133*	89,778	125,548	26,764	9,940	2,736	1,438	53,208	1,051	2,473	2,904
59*	87,224	123,416	27,253	9,959	2,637	1,468	62,690	1,062	2,254	2,899
134*	89,315	125,235	26,828	10,028	2,651	1,420	57,014	1,045	2,151	2,825
80	89,329	123,555	26,735	10,145	2,678	1,521	62,293	1,039	2,034	2,987
92	88,446	124,262	27,665	10,034	2,663	1,495	55,613	1,034	2,006	2,873
82	88,096	123,995	26,605	10,536	2,777	1,339	53,061	1,043	1,921	2,910
68*	89,561	123,154	27,258	9,744	2,947	1,329	59,960	1,055	1,913	2,773
70*	88,217	123,754	29,320	10,395	2,837	1,381	66,488	1,058	1,904	3,044
123	88,528	124,580	28,506	9,857	2,691	1,391	58,208	1,066	1,845	2,861
75*	89,522	126,526	27,378	9,972	2,439	1,338	40,233	1,044	1,800	2,815
72	89,405	124,533	26,114	9,398	2,651	1,331	52,153	1,047	1,786	2,872
137	87,931	124,899	27,910	9,795	2,658	1,320	52,191	1,081	1,766	2,708
112	88,697	123,297	25,558	9,377	2,911	1,341	60,195	1,084	1,751	2,904
10	87,752	124,760	28,755	10,633	2,829	1,402	52,073	1,045	1,751	2,948
1	89,667	124,821	27,610	9,766	2,902	1,506	55,047	1,070	1,709	2,721
129	88,264	123,264	27,518	10,133	2,620	1,454	61,227	1,030	1,684	2,983
88	88,708	124,588	25,475	9,521	2,640	1,335	48,133	1,038	1,674	2,900
30	89,392	124,944	25,807	9,618	2,713	1,421	44,770	1,053	1,660	2,832
60	89,220	125,110	25,687	9,611	2,803	1,374	50,906	1,029	1,655	2,757
50	88,140	124,827	27,329	10,280	2,630	1,421	50,420	1,024	1,637	2,805
61	88,420	124,832	27,928	9,688	2,865	1,358	54,592	1,053	1,617	2,885
Idlib-3	87,054	124,525	26,664	10,045	2,640	1,641	62,319	1,045	1,574	3,071

* : les familles qui ont gardé la supériorité ; **En gras**, les valeurs supérieures par rapport au témoin (Pour DM, les valeurs précoces qui ont été prises comme supérieures)

III.8. L'analyse en Cluster

L'analyse en cluster indique la magnitude de la diversité génétique qui est un outil important dans tout programme d'amélioration (Sultana *et al.*, 2006).

L'analyse en cluster des 140 familles ainsi que le témoin non irradié, pour les 10 caractères morphologiques et phénologies à la distance génétique 48, a révélé 4 grands clusters (Tab. 18 et 19 ; Fig. 24).

Le cluster 4 est le plus grand avec 72 familles ce qui représente 51,06% du total des familles ; suivi par le cluster 2 avec 35 familles, y compris le témoin non irradié, ce qui représente 24,82% du total des familles ; le cluster 3 avec 31 familles ce qui représente 21,99 % du total des familles et, enfin, le cluster 1 avec seulement 3 familles ce qui représente seulement 2,13% du total des familles.

Les familles du cluster 1 sont caractérisées par les moyennes les plus faibles pour le début floraison et 95 % maturité (un caractère de précocité) et des moyennes élevées pour le reste des caractères y compris le rendement en grains/plant et à l'exception la hauteur de la première gousse. Ce sont donc les familles précoces ayant des caractères morphologiques élevés, à l'exception de la première gousse qui reste malheureusement proche du sol.

Plusieurs auteurs ont montré que le rendement élevé est souvent lié à la précocité des génotypes (Silim *et al.*, 1993; Shrestha *et al.*, 2005).

Les moyennes de cluster 2 sont élevées pour la hauteur de la première gousse, ce sont des familles intéressantes pour hauteur de la première gousse. Ce caractère est souvent recherché dans l'amélioration de la lentille pour la récolte mécanisée.

Les familles des deux clusters précédents pourraient être utilisées dans des croisements dans un programme de sélection futur.

Les moyennes pour le cluster 4 sont les plus faibles pour tous les caractères à l'exception du début floraison et la maturité où les valeurs moyennes de ces deux derniers caractères ont été les plus élevées pour ce cluster (un caractère de tardivité), ce sont donc les familles les plus tardives et à développement réduit.

Les familles 5, 42 et 90 dans le premier cluster pourraient être utilisées particulièrement pour développer de nouveaux génotypes ayant le caractère de précocité à la floraison et précocité à la maturité. Ces génotypes seraient très intéressants dans des régions qui sont caractérisées par une sécheresse pouvant coïncider avec les stades critiques de la lentille. Aussi elles sont caractérisées par les meilleurs rendements en grains/plant.

En outre, des familles telles que 10, 70 et 82 dans le cluster 2 qui présentent les valeurs élevées du caractère hauteur de la première gousse (plus de 11 cm) pourraient être utilisées pour la sélection afin de faciliter la mécanisation et réduire les pertes à la récolte.

Roy *et al.* (2013) suggèrent qu'un programme de croisement devrait être mené en choisissant des génotypes appartenant à des clusters séparés par une distance génétique élevée ; des parents avec une divergence maximale seraient plus susceptibles à produire plus de recombinaisons génétiques.

Tab. 18 : les groupes “clusters” des 140 familles, ainsi le témoin non irradié en tenant compte des caractères phénologiques et morphologiques

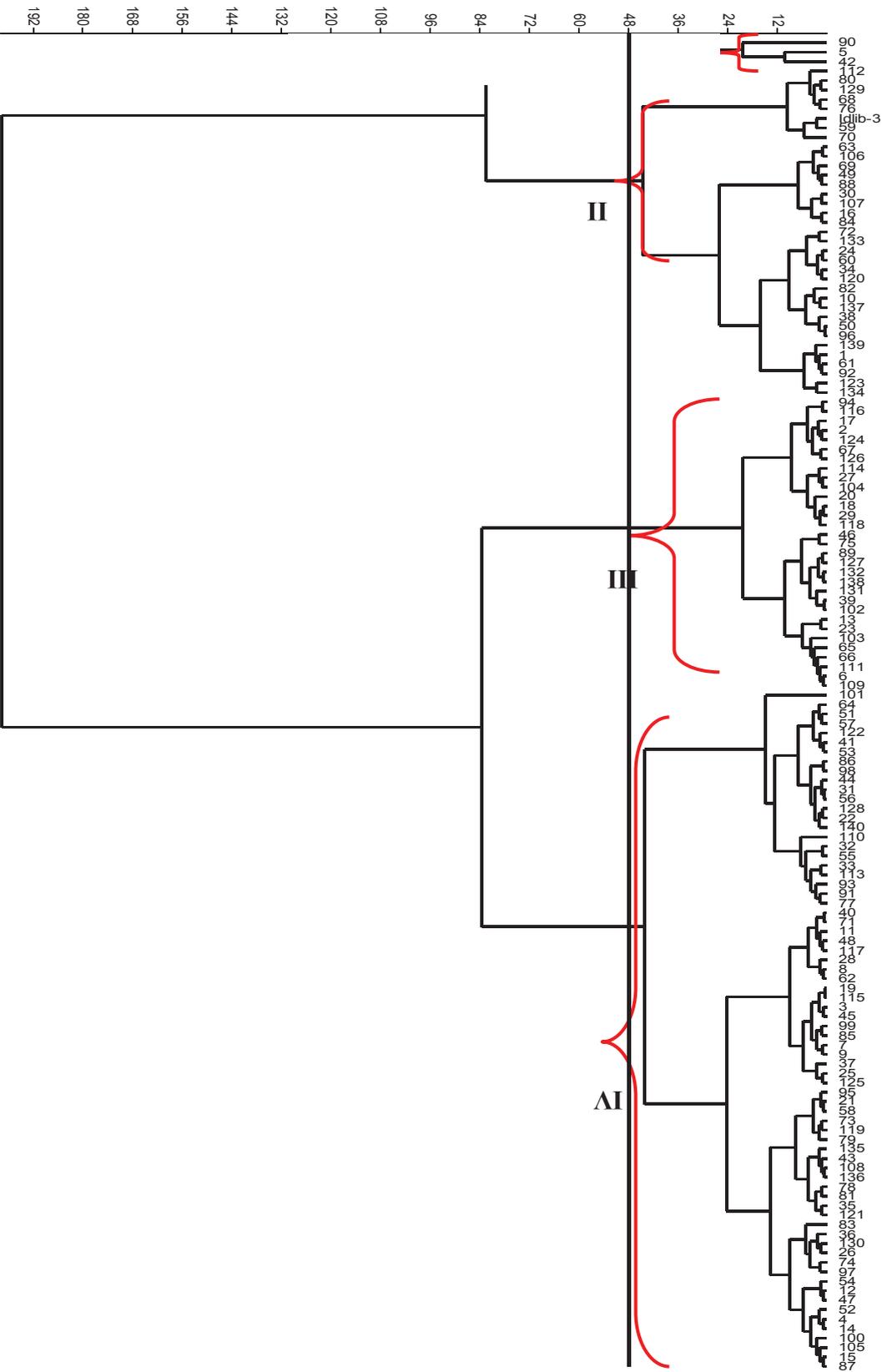
Numéro du cluster	Nombre de familles	Pourcentage %	Les familles
I	3	2,13	90/5/42
II	35	24,82	112/80/129/68/76/ Idlib-3 59/70/63/106/69/49/88/30/107/16/84/72/ 133/24/60/34/120/82/10/137/38/50/96/139/1/61/92/1 23/134
III	31	21,99	94/116/17/2/124/67/126/114/27/104/20/18/29/118/46 /75/89/127/132/138/131/39/102/13/23/103/65/66/111 /6/109
IV	72	51,06	101/64/51/57/122/41/53/86/98/44/31/56/128/22/140/ 110/32/55/33/113/93/91/71/40/71/11/48/117/28/8/62/ 19/115/3/45/99/85/7/9/37/25/125/95/21/58/73/119/79 /135/43/108/136/78/81/35/121/83/36/130/26/74/97/5 4/12/47/52/4/14/100/105/15/87

Tab. 19 : Moyenne des dix caractères phénologiques et morphologiques pour les quatre groupes (clusters) pour 140 familles et le témoin non irradié

Cluster	DF	DM	HT	HPG	NRP	NGP	NTG	NGG	RGP	PCG
1	88,13	124,13	28,94	9,88	2,89	1,54	98,22	1,09	3,92	3,03
2*	88,84	124,26	26,90	9,96	2,78	1,44	58,42	1,05	1,95	2,91
3	89,16	125,08	26,54	9,66	2,66	1,35	41,18	1,03	1,17	2,79
4	89,22	126,26	26,11	9,53	2,56	1,21	26,65	1,01	0,55	2,63
Moyenne	89,08	125,4	26,57	9,75	2,67	1,29	39,65	1,03	1,28	2,81

* La position de Idlib-3 ; **En gras** : les chiffres les plus élevés

Fig. 24 : Le diagramme de l'analyse en cluster pour les 140 familles et le témoin non irradié à la distance génétique 48



Conclusion et perspectives

Les travaux présentés dans cette étude s'inscrivent dans le cadre de la création de la variabilité et la sélection de caractères d'intérêt agronomiques chez la lentille, compte tenu des intérêts économiques, agronomiques et nutritionnels de cette légumineuse.

L'induction de la mutation, par les rayons gamma, s'est révélée utile pour créer une nouvelle source de variabilité chez la lentille et contourner les obstacles posés par les autres méthodes, essentiellement l'hybridation.

Les résultats de la présente étude ont révélé quelques mutants putatifs de la variété Idlib-3, en utilisant une dose d'irradiation de 100 Gy ; ces mutants putatifs pourraient être utilisés soit directement comme des mutants réalisés, soit indirectement dans des croisements dans un programme d'amélioration futur de lentille. L'utilisation de la dose de 100 Gy, sur la variété Idlib-3, a été efficace pour générer une variabilité significative pour la plupart des caractères quantitatifs étudiés. Un coefficient de variation génotypique, une héritabilité et un gain génétique élevés pour le caractère rendement en grain par plant et le poids de cent grains, ont été mis en évidence par notre étude.

Les corrélations et l'analyse en "path" ont montré une grande préférence du caractère nombre total de gousses par plant pour la sélection vue son étroite relation et son important effet direct sur le rendement en grains par plant.

Le test de comparaison multiple de Dunnett a révélé une supériorité de 13 familles par rapport au témoin, certaines d'entre elles présentent une supériorité pour plus d'un caractère.

Quant à l'analyse en cluster, elle a confirmé la présence d'une dissimilarité génétique entre les 140 familles de mutants. Les clusters ont regroupé les familles ainsi que le témoin pour les différents caractères quantitatifs étudiés. Les familles sélectionnées de différents clusters pourraient être utilisées dans l'amélioration génétique de la lentille.

Il est fortement recommandé d'avoir une plus grande population de mutants pour mieux sélectionner pour les caractères à intérêt agronomique et économique, surtout si la dose utilisée est efficace. L'utilisation de plusieurs doses d'irradiation, dans des études similaires, pourrait être aussi plus intéressante, ceci permettra d'avoir une plus grande variabilité. Cependant, ceci demande beaucoup d'effort et de temps.

La poursuite de la sélection des génotypes élités en M₃, M₄ et M₅ dans des environnements différents permettra la sélection de variétés fixées après 3 à 4 années.

Les mutants identifiés dans le travail pourraient faire l'objet d'un screening moléculaire en utilisant le TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes) ce qui permettra une sélection plus efficace et plus rapide. Plusieurs gènes d'intérêt agronomique sont disponibles et pourront être utilisés dans cette démarche TILLING. Pour cela, des ADN de 684 plants des différentes familles ont été extraits dans le but de réaliser le « low cost TILLING » dans le futur.

Des variétés intéressantes, pour les agriculteurs, pourraient être rapidement mises au point, suite à l'ensemble des résultats que nous avons obtenus durant ce travail. Les mutants mis en évidence méritent largement une valorisation immédiate, pour répondre aux besoins des agriculteurs tout en évitant de perdre les acquis de cette étude.

Références bibliographiques

1. **Abdel-Hady, M., E. Okasha, S. Soliman, et M. Talaat. 2008.** Effect of gamma radiation and gibberellic acid on germination and alkaloid production in *Atropa belladonna* L. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2:401-405.
2. **Abdelguerfi, A., D. Boukecha, M. Laouar, F. Zine et L. Bouzid. 1998.** Les végétaux cultivés (locaux et introduits) cas des céréales, légumes secs, fourrages et arbres fruitiers. Rapport de projets. 33p.
3. **Ahloowalia, B., M. Maluszynski et K. Nichterlein. 2004.** Global impact of mutation-derived varieties. Euphytica 135:187-204.
4. **AFNOR (Association Française de Normalisation). 1984.** Qualité des sols, recueil des normes françaises.
5. **Aleta, N., A. Ninot et J. Voltas. 2004.** Retrospective evaluation of parental selection in nursery tests of *Juglans regia* L. using a mixed model analysis. Silvae Genetica 53:26-33.
6. **Ali, Y., B. M. Atta, J. Akhter, P. Monneveux et Z. Lateef. 2008.** Genetic variability, association and diversity studies in wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm. Pak. J. Bot 40:2087-2097.
7. **Arisha, M. H., S. N. Shah, Z.-H. Gong, H. Jing, C. Li et H.-X. Zhang. 2015.** Ethyl methane sulfonate induced mutations in M2 generation and physiological variations in M1 generation of peppers (*Capsicum annuum* L.). Frontiers in plant science 6: 1-11.
8. **Arumuganathan, K. et E. Earle. 1991.** Nuclear DNA content of some important plant species. Plant molecular biology reporter 9:208-218.
9. **Baize, D., D. King et M. Jamagne. 1995.** Référentiel pédologique. France, INRA, 332p.
10. **Bayaa, B., W. Erskine et A. Hamdi. 1995.** Evaluation of a wild lentil collection for resistance to vascular wilt. Genetic Resources and Crop Evolution 42:231-235.
11. **Bhat, R. S., N. M. Upadhyaya, A. Chaudhury, C. Raghavan, F. Qiu, H. Wang, J. Wu, K. McNally, H. Leung et B. Till. 2007.** Chemical-and irradiation-induced mutants and TILLING. In: Upadhyaya, N. Rice Functional Genomics. Springer, New York, pp 148-180.
12. **Bhosle, S. S et V. S. Kothekar. 2010.** Mutagenic efficiency and effectiveness in cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.). Journal of Phytology 2: 21-27.

13. **Bisne, R., A. Sarawgi et S. Verulkar. 2009.** Study of heritability, genetic advance and variability for yield contributing characters in rice. *Bangladesh Journal of Agricultural Research* 34:175-179.
14. **Boudjenouia, A., A. Fleury et A. Tacherifte. 2003.** Les légumineuses alimentaires dans les zones peri-urbaines de Sétif (Algérie): analyse d'une marginalisation.
15. **Bravo, A. 1983.** Development of disease-resistant lines of grain legumes through mutation breeding. Induced mutations for disease resistance in crop plants II. Conference proceedings.
16. **Brink, M. et G.M. Belay. 2006.** Céréales et légumes secs. 1. Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Fondation PORTA, Wageningen, 327p.
17. **Calvet, G. et P. Villemin. 1986.** Interprétation des analyses de terre. SCPA, Aspach le Bas, France, 25 p.
18. **Chahota, R., N. Kishore, K. Dhiman, T. Sharma et S. Sharma. 2007.** Predicting transgressive segregants in early generation using single seed descent method-derived micro-macrosperma gene pool of lentil (*Lens culinaris* Medikus). *Euphytica* 156:305-310.
19. **Chakraborty, M. et M. Haque. 2000.** Genetic variability and component analysis in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Journal of Research, Birsa Agricultural University* 12:199-204.
20. **Chatterjee, A., S. Shukla, B. K. Mishra, A. Rastogi et S. P. Singh. 2012.** Induction of variability through mutagenesis in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 36:1-11.
21. **Chaturvedi, S., D. S. Gupta et R. Jain . 2011.** Biology of Food Legumes. In: Aditya P. et Kumar J.: *Biology and Breeding of Food Legumes*. Cabi, Oxford, pp: 35-48.
22. **CNCC (Centre National de Control et de Certification des semences et des plants). 2018.** Service production de semences.
23. **Colbert, T., B. J. Till, R. Tompa, S. Reynolds, M. N. Steine, A. T. Yeung, C. M. McCallum, L. Comai, et S. Henikoff. 2001.** High-throughput screening for induced point mutations. *Plant Physiology* 126:480-484.
24. **Coyne, C. et R. McGee. 2013.** Lentil. In: H. D. Upadhyaya et I. S. Bisht.: *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement*. Elsevier, Oxford, pp:157-180.
25. **Cubero, J., M. Pérez de la Vega, R. Fratini, W. Erskine, F. Muehlbauer, A. Sarker et B. Sharma. 2009.** Origin, phylogeny, domestication and spread. In: W.

- Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp:13-33.
26. **De-Kai, W., S. Zong-Xiu et T. Yue-Zhi. 2006.** Application of TILLING in plant improvement. *Acta Genetica Sinica* 33:957-964.
27. **De Ron, A. M. (2015).** Grain Legumes. Springer, London, 449p.
28. **Debry, G. et Y. Demarly. 1996.** Amélioration des plantes et biotechnologies. John Libbey Eurotext. London, 835p.
29. **Demol, J., B.-P. Louant et G. Mergeai. 2002.** Amélioration des plantes: Application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Presses Agronomiques de Gembloux.
30. **Dewey, D. R. et K. Lu. 1959.** A correlation and path-coefficient analysis of components of crested wheatgrass seed production. *Agronomy journal* 51:515-518.
31. **Duke, J. 1981.** Handbook of legumes of world economic importance. Springer, Netherlands, Dordrecht, 345 p.
32. **Duran, Y., R. Fratini, P. Garcia et M. P. De la Vega. 2004.** An intersubspecific genetic map of Lens. *Theoretical and Applied Genetics* 108:1265-1273.
33. **Ehrenberg, L., Å. Gustafsson et U. Lundqvist. 1961.** Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* 47:243-282.
34. **El-Ashkar, F., A. Sarker, W. Erskine, B. Bayaa, H. El-Hassan, N. Kadah et B. Karim. 2004.** Registration of Idlib-3 lentil. *Crop science* 44:2261-2262.
35. **Erskine, W. 2009.** Global Production, Supply and Demand. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp:4-12.
36. **Erskine, W., S. Chandra, M. Chaudhry, I. Malik, A. Sarker, B. Sharma, M. Tufail et M.C. Tyagi. 1998.** A bottleneck in lentil: widening its genetic base in South Asia. *Euphytica* 101:207-211.
37. **Erskine, W. et F. El Ashkar. 1993.** Rainfall and temperature effects on lentil (*Lens culinaris*) seed yield in Mediterranean environments. *The Journal of Agricultural Science* 121:347-354.
38. **Erskine, W., S. Rihawi et B. Capper. 1990.** Variation in lentil straw quality. *Animal Feed Science and Technology* 28:61-69.
39. **Erskine, W., A. Sarker et S. Kumar. 2011.** Crops that feed the world 3. Investing in lentil improvement toward a food secure world. *Food Security* 3:127-139.
40. **Fatima, K., M. A. Khan, M. M. Raza, M. Yaseen, M. A. Iqbal et M. U. Shahbaz. 2015.** Identification of resistant source in lentil germplasm against fusarium wilt in

- relation to environmental factors. Academic Research Journal of Agricultural Science and Research 3: 60-70.
41. **Ferguson, M. E., N. Maxted, M. V. Slageren et L. D. Robertson. 2000.** A re-assessment of the taxonomy of Lens Mill.(Leguminosae, Papilionoideae, Viciae). Botanical Journal of the Linnean Society 133:41-59.
 42. **Fratini, R. M., M. P. de la Vega et M. L. R. Sánchez. 2014.** Lentil. In Singh, M., I.S. Bisht et M. Dutta. Broadening the Genetic Base of Grain Legumes. Springer, New Delhi, pp 115-147.
 43. **Gallais, A. 1990.** Théorie de la sélection en amélioration des plantes. Masson, Paris, 588 p.
 44. **Gallais, A. et A. Ricroch. 2006.** Plantes transgéniques: faits et enjeux. Quae, Versailles, 283 p.
 45. **Gaul, H. 1964.** Mutations in plant breeding. Radiation Botany 4:155-232.
 46. **Gautam, N., N. Singh, M. Iquebal, M. Singh, J. Akhtar, Z. Khan et B. Ram. 2014.** Genetic diversity analysis for quantitative traits in lentil (*Lens culinaris* Medik) germplasm. Legume Res 37:139-144.
 47. **Girija, M. et D. Dhanavel. 2009.** Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, ethyl methane sulphonate and their combined treatments in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). Global J. Mol. Sci 4:68-75.
 48. **Guo, Y., B. Abernathy, Y. Zeng et P. Ozias-Akins. 2015.** TILLING by sequencing to identify induced mutations in stress resistance genes of peanut (*Arachis hypogaea*). BMC genomics 16:157-170.
 49. **Gupta, D., R. Ford et P. W. Taylor. 2011.** Lens. In: Kole, C. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Springer, Berlin Heidelberg, pp127-139.
 50. **Gustafsson, Å. 1954.** Swedish mutation work in plants: background and present organization. Acta Agriculturae Scandinavica 4:361-364.
 51. **Hanotiaux, G. 1985.** L'analyse du sol. Service de la science du sol, faculté des sciences agronomiques de l'état, Gembloux, 48p.
 52. **Hanson, C.H., Rabinson, H.E. et R.E. Comstock 1956.** Biometrical studies of yield in segregating population of Korean lespedeza. Agron. J. 48: 268-272.
 53. **Hamadache, A. 2014.** Grandes cultures : Principaux itinéraires techniques des principales espèces de grandes cultures pluviales cultivées en Algérie et en Afrique du Nord (agriculture conventionnelle) légumineuses alimentaires (pois chiche, fèves, lentilles). ITGC. 188 p.

54. **Heinrichs, E.A., S. Chelliah, S.L. Valencia, M.B.Arceo, L.T. Fabellar, G.B. Aquino et S. Pickin. 1981.** Manual for testing insecticides on rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, 141p.
55. **Henin, S., R. Gras et G. Monnier. 1969.** Le profil cultural. 2^{ème} édition. Masson, Paris, 332 p.
56. **Imai, A., T. Kuniga, T. Yoshioka, K. Nonaka, N. Mitani, H. Fukamachi, N. Hiehata, M. Yamamoto et T. Hayashi. 2016.** Evaluation of the best linear unbiased prediction method for breeding values of fruit quality traits in citrus. *Tree Genet. Genom.* 12: 119-129.
57. **ITGC (Institut Technique des Grandes cultures). 2018.** Service production de semences.
58. **ITGC (Institut Technique des Grandes cultures). 2011.** La lentille et le pois chiche pour une conduite mécanisée. 28p.
59. **Jain, S. K., Sharma, H. L., Mehra, R. B. and J. P. Khare. 1991.** Multiple correlation and regression analysis in lentil. *Lens Newsl*, 18:11-13.
60. **Jain, S. M. et P. Suprasanna. 2011.** Induced mutations for enhancing nutrition and food production. *Geneconserve* 40: 201-215.
61. **Jana, M. K. et K. Roy. 1973.** Induced quantitative mutation in rice. *Radiation Botany* 13:245-257.
62. **Johnson, H.W., Robinson, H.F. et R.E. Comstock. 1955a.** Genotypic and phenotypic correlations and their implication in selection. *Agronomy Journal*, 47: 477-483.
63. **Johnson, H.W., Robinson, H.F. et R.E. Comstock. 1955b.** Estimates of genetic and environmental variability in Soyabean. *Agronomy Journal*, 47: 314- 318.
64. **Kalia, N. et V. Gupta. 1988.** Induced polygenic variation in lentils [*Lens culinaris*]. *Lens Newsletter* 16: 8-16.
65. **Keatinge, J., A. Qi, I. Kusmenoglu, R. Ellis, R. Summerfield, W. Erskine et S. Beniwal. 1996.** Using genotypic variation in flowering responses to temperature and photoperiod to select lentil for the west Asian highlands. *Agricultural and forest meteorology* 78:53-65.
66. **Kesli, Y. et M. S. Adak. 2012.** Effects of different harvest time and sulfur fertilization on amino acid composition of lentil. *Journal of plant nutrition* 35:1693-1704.
67. **Khan, M. H. et S. D. Tyagi. 2009.** Studies on induction of chlorophyll mutations in soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. *Frontiers of Agriculture in China* 3:253-258.

68. **Khan, S., M. R. Wani et K. Parveen. 2006.** Sodium azide induced high yielding early mutant in lentil. *Agricultural Science Digest* 26: 65-66.
69. **Kharkwal, M. 2000.** Induced mutations in chickpea (*Cicer arietinum* L.) IV. Types of macromutations induced. *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding* 60:305-320.
70. **Khazaei, H., C. T. Caron, M. Fedoruk, M. Diapari, A. Vandenberg, C. J. Coyne, R. McGee et K. E. Bett. 2016.** Genetic Diversity of Cultivated Lentil (*Lens culinaris* Medik.) and Its Relation to the World's Agro-ecological Zones. *Frontiers in plant science* 7: 1-7.
71. **Kiong, A. L. P., A. G. Lai, S. Hussein, and A. R. Harun. 2008.** Physiological responses of *Orthosiphon stamineus* plantlets to gamma irradiation. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 2:135-149.
72. **Konzak, C., R. Nilan et A. Kleinhofs. 1977.** Artificial mutagenesis as an aid in overcoming genetic vulnerability of crop plants. *Genetic Diversity in Plants* 8: 163-177.
73. **Kovacs, E. et A. Keresztes. 2002.** Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron* 33:199-210.
74. **Kumar, J., E. Srivastava, M. Singh, D. Mahto, A. Pratap, et S. Kumar. 2014.** Lentil. In: Aditya P. et J. Kumar. *Alien Gene Transfer in Crop Plants, Volume 2.* Springer, New Delhi, pp 191-205.
75. **Kumar, N., R. Chahota et B. Sood. 2009.** Component analysis for seed yield and yield traits in *microsperma* × *macrosperma* derivatives of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Agricultural Science Digest* 29:163-168.
76. **Kumari, S. G., R. Larsen, K. M. Makkouk, and M. Bashir. 2009.** Virus Diseases and their Control. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. *The lentil: Botany, production and uses.* CABI, Oxford, pp 306-325.
77. **Kurowska, M., A. Daszkowska-Golec, D. Gruszka, M. Marzec, M. Szurman, I. Szarejko et M. Maluszynski. 2011.** TILLING-a shortcut in functional genomics. *Journal of applied genetics* 52:371-390.
78. **Ladizinsky, G. and S. Abbo. 2015.** The Lens Genus. In: 70. Ladizinsky, G. and S. Abbo. *The Search for Wild Relatives of Cool Season Legumes.* Springer, London, pp 1-28.
79. **Larousse agricole: encyclopédie illustrée.** Librairie Larousse, 1184 p.
80. **Latif, M. A., Hassan, M. M. et N. Sultana. 2010.** Variability and character association and path coefficient analysis in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Bangladesh J*, 18, 49-51.

81. **Laumont, P. and A. Chevassus. 1960.** Notes sur l'amélioration de la lentille en algérie. 36p.
82. **Lim, T. K. 2012.** Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits. Springer Netherlands, Dordrecht. 440 p.
83. **Lonsdale, D. 1987.** Cytoplasmic male sterility: a molecular perspective [mitochondrial DNA; a review]. *Plant Physiology and Biochemistry* 25: 265-271.
84. **Lule, D., K. Tesfaye, M. Fetene et S. De Villiers. 2012.** Inheritance and association of quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* Subsp. *Coracana*) landraces collected from eastern and south eastern Africa. *International Journal of Genetics* 2: 12-21.
85. **MADR (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. 2016.** Série B : Statistiques.
86. **Makeen, K., B. Suresh, G. Lavanya et A. Kumari. 2013.** Study of chlorophyll and macromutations induced by gamma rays and sodium azide in urd bean (*Vigna mungo* L. Hepper). *African Journal of Agricultural Research* 8:5958-5961.
87. **Malek, M. A., Rafii, M. Y., Nath, U. K. et M. Mondal. 2014.** Morphological Characterization and Assessment of Genetic Variability, Character Association, and Divergence in Soybean Mutants. *The Scientific World Journal*, 2014: 1-12.
88. **Malik, I., M. Chaudhry, M. Ashraf et W. Erskine. 1998.** Radio-sensitivity and mutability in lentil (*Lens culinaris* Medik.) as related to seed size. *Journal of Genetics and Breeding* 52:9-16.
89. **Masuda, T. 2008.** Recent overview of the Mg branch of the tetrapyrrole biosynthesis leading to chlorophylls. *Photosynthesis Research* 96:121-143.
90. **Materne, M. et K. Siddique. 2009.** Agroecology and Crop Adaptation. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. *The lentil: Botany, production and uses*. CABI, Oxford, pp 47-63.
91. **McCallum, C. M., L. Comai, E. A. Greene et S. Henikoff. 2000.** Targeted screening for induced mutations. *Nature biotechnology* 18:455-457.
92. **McKenzie, B. et G. Hill. 1989.** Environmental control of lentil (*Lens culinaris*) crop development. *The Journal of Agricultural Science* 113:67-72.
93. **Micke, A. 1984.** Mutation breeding of grain legumes. *Plant and soil* 82:337-357.
94. **Micke, A. 1999.** Mutations in plant breeding. *Breeding in crop plants: mutations and in vitro mutation breeding*. Kalyani Publishers, Ludhiana, India, pp: 1-19.

95. **Monti, L., A. Biddle, M. Moreno et P. Plancquaert. 1994.** Biotic and abiotic stresses of pulse crops in Europe. In: Muehlbauer F.J. et W.J. Kaiser Expanding. The Production and Use of Cool Season Food Legumes. Springer, New York, pp 204-218.
96. **Muehlbauer, F., R. Redden, A. Nassib, L. Robertson, et J. Smithson. 1988.** Population improvement in pulse crops: an assessment of methods and techniques. In: Summerfield R.J. World crops: Cool season food legumes. Springer. New York, pp 943-966.
97. **Muehlbauer, F. J., S. Cho, A. Sarker, K. E. McPhee, C. J. Coyne, P. Rajesh et R. Ford. 2006.** Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. *Euphytica* 147:149-165.
98. **Muehlbauer, F. J. et K. E. McPhee. 2005.** Lentil (*Lens culinaris* Medik.). In: Singh, R. et Jauhar, P. Genetic resources and chromosome engineering and crop improvement. Grain legumes, Taylor and Francis, London, pp 268-280.
99. **Oldach, K., A. Pratap et J. Kumar. 2011.** Mutagenesis. In: Aditya, P. et J. Kumar. Biology and Breeding of Food Legumes. Cabi, Kanpur, pp 208-219.
100. **Oweis, T., A. Hachum et M. Pala. 2004.** Lentil production under supplemental irrigation in a Mediterranean environment. *Agricultural water management* 68: 251-265.
101. **Pala, M. et A. Mazid. 1992.** On-farm assessment of improved crop production practices in Northwest Syria. II. Lentil. *Experimental Agriculture* 28:185-193.
102. **Paul, A. et D. Singh. 2002.** Induced chlorophyll mutations in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 62:263-264.
103. **Quinn, M. A. 2009.** Biological Nitrogen Fixation and Soil Health Improvement. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp 229-247.
104. **Rasheed, S., Hanif, M., Sadiq, S., Abbas, G., Asghar, M. J. et M. A. Haq. 2008.** Inheritance of seed yield and related traits in some lentil (*Lens culinaris* Medik) genotypes. *Pak. J. Agri. Sci*, 45: 49-52.
105. **Raghuvanshi, R. S. et D. Singh. 2009.** Food Preparation and Use. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp 408-428.
106. **Rahman, M. M., A. Sarker, S. Kumar, A. Ali, N. Yadav et M. L. Rahman. 2009.** Breeding for Short Season Environments. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp 121-136.

107. **Rajendran, K. et S. Lakshmi. 2006.** Effect of gamma rays and EMS on two varieties of soybean. *Asian J Plant Sci* 5:721-724.
108. **Rana, A. et I. Solanki. 2014.** Assessment of Gamma Rays Induced Genetic Variability, Heritability and Genetic Advance in *Macrosperma* and *Microsperma* Lentils (*Lens culinaris* Medik.). Society for Plant Research:21.
109. **Rana, A. et I. Solanki. 2015.** Ethyl methane sulphonate induced genetic variability and heritability in *macrosperma* and *microsperma* lentils. *Journal of environmental biology* 36:1119.
110. **Raturi, A., Singh, S. K., Sharma, V. et R. Pathak. 2015.** Genetic variability, heritability, genetic advance and path analysis in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Legume Research-An International Journal*, 38: 157-163.
111. **Reddy, Y. S. 2013.** Creation of genetic variability and early generation evaluation for yield and yield related traits in lentil (*Lens culinaris* Medik.). IARI, Division of Genetics. Doctor thesis, India, 133p.
112. **Resende, M. D. V. d. et M. H. P. Barbosa. 2006.** Selection via simulated individual BLUP based on family genotypic effects in sugarcane. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41:421-429.
113. **Riah, N., G. Béna, A. Djekoun, K. Heulin, P. de Lajudie et G. Laguerre. 2014.** Genotypic and symbiotic diversity of Rhizobium populations associated with cultivated lentil and pea in sub-humid and semi-arid regions of Eastern Algeria. *Systematic and applied microbiology* 37:368-375.
114. **Robinson, H.F., Comstock R.E. et P.H. Hairey. 1949.** Estimates of heritability and the degree of dominance in Cowpea. *Agronomy Journal* 41: 353-359.
115. **Rossignol, J.-L., R. Berger, J. Deutsch et M. Fellous. 2004.** Génétique : Gènes et génomes. Dunod, Paris, 231p.
116. **Roy, S., M. Islam, A. Sarker, M. Malek, M. Rafii et M. Ismail. 2013.** Determination of genetic diversity in lentil germplasm based on quantitative traits. *Australian Journal of Crop Science* 7: 14-21.
117. **Roychowdhury, R., S. Datta, P. Gupta et T. Jagatpati. 2012.** Analysis of genetic parameters on mutant populations of mungbean (*Vigna radiata* L.) after ethyl methane sulphonate treatment. *Notulae Scientia Biologicae* 4:137.
118. **Roychowdhury, R. et J. Tah. 2013.** Mutagenesis-A Potential Approach for Crop Improvement. In K.R. Hakeem, P. Ahmad et M. Ozturk. *Crop Improvement: New Approaches and Modern Techniques*. Springer US, Boston, pp 149-187.

119. **Rubiales, D., M. Fernández-Aparicio et A. Haddad. 2009.** Parasitic Weeds. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp 343-349.
120. **Saccardo, F., A. Errico, P. Crino, B. Ocampo et G. Venora. 1993.** Mutagenesis and chromosome manipulation for stress tolerance in cool-season food legumes. In: Singh, K.B, Saxena, M.C. Breeding for stress tolerance in cool-season food legumes, Wiley Publisher, London, pp 343-357.
121. **Samouelian, F., V. Gaudin et M. Boccara. 2009.** Génétique moléculaire des plantes. Quae, Paris, 360p.
122. **Sandhu, J. et S. Singh. 2007.** History and origin. In: S.S. Yadav, D. McNeil, et P.C. Stevenson. Lentil : An ancien crop for modern times. Springer, Dordrecht, pp 1-9.
123. **Sarker, A., A. Aydogan, S. Chandra, M. Kharrat, and S. Sabaghpour. 2009.** Genetic enhancement for yield and yield stability. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp102-120.
124. **Sarker, A. et B. Sharma. 1988.** Efficiency of early generation selection for induced polygenic mutations in lentil (*Lens culinaris* Medik.). The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 48:155-159.
125. **Saxena, M. C. 2009.** Plant morphology, anatomy and growth habit. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp 34-45.
126. **Shah, T. M., J. I. Mirza, M. A. Haq et B. M. Atta. 2008.** Radio sensitivity of various chickpea genotypes in M1 generation I-Laboratory studies. Pak. J. Bot 40: 649-665.
127. **Sharma, S. et B. Sharma. 1981.** Induced chlorophyll mutations in lentil. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 41: 328-333.
128. **Sharma, S. et B. Sharma. 1986.** Mutagen sensitivity and mutability in lentil. Theoretical and Applied Genetics 71: 820-825.
129. **Shekib, L. A., M. Zoueil, M. Youssef et M. S. Mohamed. 1986.** Amino acid composition and In vitro digestibility of lentil and rice proteins and their mixture (Koshary). Food chemistry 20:61-67.
130. **Shrestha, R., K. Siddique, D. W. Turner et N. C. Turner. 2009.** Breeding and Management to Minimize the Effects of Drought and Improve Water Use Efficiency. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp 172-193.

131. **Shrestha, R., K. Siddique, N. Turner, D. Turner et J. Berger. 2005.** Growth and seed yield of lentil (*Lens culinaris* Medikus) genotypes of West Asian and South Asian origin and crossbreds between the two under rainfed conditions in Nepal. Australian Journal of Agricultural Research 56: 971-981.
132. **Sigurbjörnsson, B. 1983.** Induced mutations. In : D.R. Wood. Crop Breeding. American Society of Agronomy, pp 153-176.
133. **Sigurbjörnsson, B. et A. Micke. 1974.** Philosophy and accomplishments of mutation breeding. Polyploidy and Induced Mutations in Plant Breeding (Rapport: International Atomic Energy Agency (IAEA).
134. **Silim, S., M. Saxena et W. Erskine. 1993.** Adaptation of lentil to the Mediterranean environment. I. Factors affecting yield under drought conditions. Experimental Agriculture 29: 9-19.
135. **Singh B.D. 2000.** Plant breeding: principles and methods, Kalyani Publishers, 896p.
136. **Singh R.K. et Chaudhary, B.D. 1985.** Biometrical Methods in Quantitative Analysis. kalayani Publishers. New Delhi, 318 p.
137. **Singh, S., R. Singh, N. Singh, J. Prasad et J. Shahi. 2007.** Mutagenic efficiency of gamma-rays, ethyl methane sulphonate and its combination on micro-sperma lentil (*Lens culinaris* Medik). International Journal of Agricultural Sciences 3: 113-118.
138. **Singh, U. et R. Srivastava. 2013.** Genetic Variability, Heritability, Interrelationships Association and Path Analysis in Lentil (*Lens culinaris* Medik.). Trends in Biosciences 6: 277-280.
139. **Sinha, R. 1988.** Induced dwarf mutant of lentil, RPL-1. Mutation breeding newsletter 32:1-5.
140. **Sinha, R. 1989.** Induced shy mutant of lentil (*Lens culinaris* Med.). Current Science 58:252-253.
141. **Sivasubramanian, S. et P. Madhavamenon. 1973.** Genotypic and phenotypic variability in rice. Madras Agric. J 60: 1093-1096.
142. **Slinkhard, A., G. Bascur et G. Hernandez-Bravo. 1994.** Biotic and abiotic stresses of cool season food legumes in the western hemisphere. In: Fred J., Muehlbauer et W..J. Kaiser. Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes. Springer, Berlin, pp 195-203.
143. **Sneep, J. 1977.** Selection for yield in early generations of self-fertilizing crops. Euphytica 26: 27-30.

144. **Solanki, I. et B. Sharma. 1994.** Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, ethylene imine and N-nitroso-N-ethyl urea in macrosperma lentil (*Lens culinaris* Medik.). The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 54:72-76.
145. **Solanki, I., S. S. Yadav, et P. Bahl. 2007.** Varietal adaptation, participatory breeding and plant type. In: S.S. Yadav, D. McNeil, et P.C. Stevenson. Lentil : An ancien crop for modern times. Springer, Dordrecht, pp 255-274.
146. **Solanki, R., R. Gill, P. Verma et S. Singh. 2011.** Mutation breeding in pulses: an overview. In: S. Khan et M. I. Kozgar. Breeding of pulse crops. Kalyani Publishers, Ludhiana, pp: 85-103.
147. **Stefaniak, T. R. et K. E. McPhee. 2015.** Lentil. In: A.M. De Ron. Grain Legumes. Springer, New York, pp: 111-140.
148. **Sultana, T., A. Ghafoor et M. Ashraf. 2006.** Geographic patterns of diversity of cultivated lentil germplasm collected from Pakistan, as assessed by seed protein assays. Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica, Poland 48: 77-84.
149. **Summerfield, R., F. Muehlbauer et E. Roberts. 1984.** Controlled environments as an adjunct to field research on lentils (*Lens culinaris*). III. Photoperiodic lighting and consequences for flowering. Experimental Agriculture 20: 1-18.
150. **Sybenga, J. 1983.** Genetic manipulation in plant breeding: somatic versus generative. Theoretical and Applied Genetics 66: 179-201.
151. **Szarejko, I. 2003.** Doubled haploid mutant production. In: M. Maluszynski, K.J. Kasha, B.P. Forster et I. Szarejko. Doubled haploid production in crop plants. Springer, New York, pp: 351-361.
152. **Szarejko, I. et B. Forster. 2007.** Doubled haploidy and induced mutation. Euphytica 158: 359-370.
153. **Talukdar, D. 2009.** Dwarf mutations in grass pea (*Lathyrus sativus* L.): Origin, morphology, inheritance and linkage studies. Journal of Genetics 88: 165-175.
154. **Tar'an, B., L. Buchwaldt, A. Tullu, S. Banniza, T. Warkentin et A. Vandenberg. 2003.** Using molecular markers to pyramid genes for resistance to ascochyta blight and anthracnose in lentil (*Lens culinaris* Medik). Euphytica 134:223-230.
155. **Taylor, P., K. Lindbeck, W. Chen et R. Ford. 2007.** Lentil diseases. In: S.S. Yadav, D. McNeil, et P.C. Stevenson. Lentil: an Ancient Crop for Modern Times. Springer, Dordrecht, pp: 291-313.
156. **Thavarajah, D. et P. Thavarajah. 2011.** Lentil (*Lens culinaris*) as a biofortified crop with essential micronutrients: a food-based solution to micronutrient malnutrition. Grain Legum 57: 29-31.

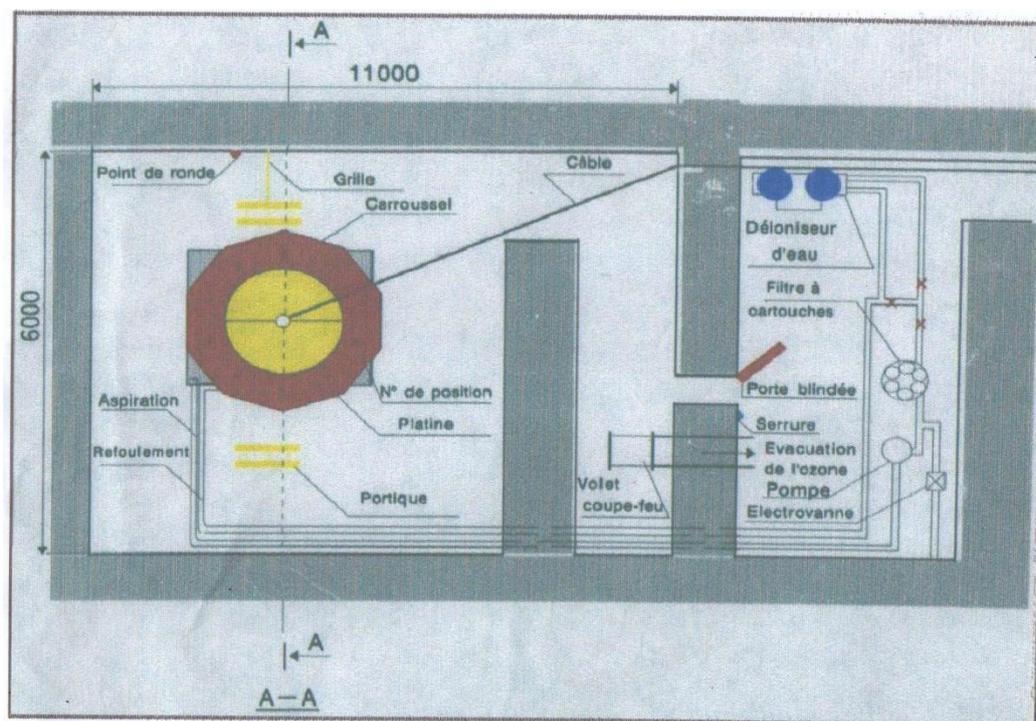
157. **Toker, C. et M. Cagirgan. 2004.** Spectrum and frequency of induced mutations in chickpea. *International Chickpea and Pigeonpea. Newsletter* 11: 8-10.
158. **Toker, C., S.S. Yadav, and I. Solanki. 2007.** Mutation breeding. In: S.S. Yadav, D. McNeil, et P.C. Stevenson. *Lentil: An ancient crop for modern times.* Springer, Dordrecht, pp: 209-224.
159. **Tomlekova, N. 2010.** Induced mutagenesis for crop improvement in Bulgaria. *Plant Mutation Reports* 2:4-27.
160. **Turner, N. C., G. C. Wright et K. Siddique. 2001.** Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments. *Advances in Agronomy* 71: 193-231.
161. **Tyagi, S. et M. Khan. 2010.** Studies on genetic variability and interrelationship among the different traits in *Microsperma lentil (Lens culinaris Medik.)*. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development* 2:15.
162. **Ujagir, R. et O. M. Byrne. 2009.** Insect Pests and their Management. In: W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. *The lentil: Botany, production and uses.* CABI, Oxford, pp: 283-305.
163. **Usharani, K. et C. A. Kumar. 2015.** Induced polygenic variability using combination treatment of gamma rays and ethyl methane sulphonate in blackgram (*Vigna mungo (L.) Hepper*). *African Journal of Biotechnology* 14: 1702-1709.
164. **Van Harten, A. M. 1998.** Mutation breeding: theory and practical applications. Cambridge University Press, UK, 330 p.
165. **Vandenberg, B. 2011.** Lentils—the little seeds with the big impact on human health. *Grain Legum* 57: 25-26.
166. **Verma, P., R. Goyal, R. Chahota, T. R. Sharma, M. Abdin et S. Bhatia. 2015.** Construction of a Genetic Linkage Map and Identification of QTLs for Seed Weight and Seed Size Traits in *Lentil (Lens culinaris Medik.)*. *PloS one* 10:1-17.
167. **Weiss, E. et D. Zohary. 2011.** The Neolithic southwest Asian founder crops. *Current Anthropology* 52: 237-254.
168. **Wi, S. G., B. Y. Chung, J.-S. Kim, J.-H. Kim, M.-H. Baek, J.-W. Lee et Y. S. Kim. 2007.** Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. *Micron* 38: 553-564.
169. **Williams, J., A. Sanchez et M. Jackson. 1974.** Studies on lentils and their variation: 1. The taxonomy of the species. *Sabrao J* 6:133-145.
170. **Yadav, S. S., A. Rizvi, M. Manohar, A. Verma, R. Shrestha, C. Chen, G. Bejiga, W. Chen, M. Yadav et P. Bahl. 2007a.** Lentil growers and production systems

- around the world. In: S.S. Yadav, D. NcNeil, et P.C. Stevenson. Lentil: An ancien crop for modern times. Springer, Dordrecht, pp: 415-442.
171. **Yadav, S. S., P. C. Stevenson, A. Rizvi, M. Manohar, S. Gailing et G. Mateljan. 2007b.** Uses and consumption. In: S.S. Yadav, D. NcNeil, et P.C. Stevenson. Lentil : An ancien crop for modern times. Springer, Dordrecht, pp: 33-46.
172. **Yenish, J. P., J. Brand, M. Pala et A. Haddad. 2009.** Weed Management. W. Erskine, F. J. Muehlbauer, A. Sarker and B. Sharma. The lentil: Botany, production and uses. CABI, Oxford, pp: 326-342.
173. **Younis, N., M. Hanif, S. Sadiq, G. Abbas, M. Asghar et M. A. Haq. 2008.** Estimates of genetic parameters and path analysis in lentil (*Lens culinaris* Medik). Pak. J. Agri. Sci 45:44-48.
174. www.fao.org
175. <http://www.fao.org/faostat>
176. <https://mvd.iaea.org>

Annexe 1 : superficies, productions et rendements de lentille en Algérie durant la période 2000-2016

Années	Superficies (ha)	Production(q)	Rendement (q/ha)
2000	690	1 940	2,81
2001	920	4 580	4,98
2002	920	4 350	4,7
2003	840	4 900	5,8
2004	862	6 130	7,1
2005	1 090	4 230	3,9
2006	1 218	6 584	5,4
2007	873	5 605	6,4
2008	1 369	10 809	7,9
2009	2 588	26 932	10,41
2010	4 233	45 902	10,8
2011	11 090	82 152	7,4
2012	6 244	57 380	9,2
2013	5 543	63 184	11,4
2014	6 458	53 409	8,3
2015	6 330	49 454	7,8
2016	8762,3	100712,6	11,5

Source : MADR

Annexe 2 : Schéma de l'irradiateur pilote de CRNA


Annexe 3 : Répartition des 140 familles sur les 3 blocs

REP 1 (CELLS CONTAIN PLOT NUMBERS ON TOP, TREATMENTS BELOW)

COL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ROW	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	26	126	42	60	112	63	23	103	76	30	129	96	120	84
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
2	90	70	72	69	34	116	137	88	71	125	67	106	82	139
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
3	49	92	2	134	124	65	68	1	131	132	123	50	59	61
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56
4	80	38	10	114	6	17	104	109	138	128	12	7	95	40
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
5	99	21	62	79	107	86	101	39	48	8	41	3	66	24
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
6	64	29	89	32	136	35	18	13	102	85	135	28	33	22
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98
7	115	130	45	52	83	94	127	75	91	25	105	27	20	4
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112
8	53	110	133	108	78	55	121	122	58	119	111	97	93	9
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126
9	43	47	51	118	54	44	5	57	14	113	74	11	140	98
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
10	73	100	46	81	37	31	15	87	77	56	36	16	117	19
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

REP 2 (CELLS CONTAIN PLOT NUMBERS ON TOP, TREATMENTS BELOW)

COL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ROW	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154
1	117	53	71	23	72	102	48	82	74	35	88	113	86	112

|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|323|324|325|326|327|328|329|330|331|332|333|334|335|336|
4| 99| 19| 60| 71| 61| 72| 43| 25| 22|134| 17| 73| 87| 28|
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|337|338|339|340|341|342|343|344|345|346|347|348|349|350|
5| 2| 23| 37|107| 81|133| 98|136|100| 15| 3| 38| 95|116|
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|351|352|353|354|355|356|357|358|359|360|361|362|363|364|
6| 59| 53| 52| 50|118|125|110| 92| 88| 5|123|128| 96|122|
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|365|366|367|368|369|370|371|372|373|374|375|376|377|378|
7|132| 56| 32| 30| 10| 41| 65| 93| 84|103|124| 35| 7| 55|
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|379|380|381|382|383|384|385|386|387|388|389|390|391|392|
8|104| 46| 75| 6| 78| 91| 77| 54| 57| 82|138| 69| 51| 64|
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|393|394|395|396|397|398|399|400|401|402|403|404|405|406|
9| 66| 11| 40|139|121|137| 79| 4| 97| 21| 47| 42| 12|131|
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|407|408|409|410|411|412|413|414|415|416|417|418|419|420|
10|101| 1| 48| 74| 85| 26| 86|140| 62|113| 58|115| 44| 33|
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|

Annexe 4: Mauvaises herbes observées au cours de l'essai de la M₂*Orobanche sp**Oxalis sp**Convolvulus arvensis**Elymus repens**Matricaria perforata**Xanthium strumarium***Annexe 5:** Préparation de l'acétocarmin

Produits	Quantités
Carmin	5 g
Eau distillée	55 ml
Acide acétique	45 ml

1. Mixer le mélange.
2. Chauffer jusqu'à ébullition.
3. Laisser refroidir.
4. Filtrer le mélange.

Annexe 6: Test de comparaison multiple (Duncan test) pour les huit doses d'irradiation

Dose	Moyenne	a	b	c	d
400	1	****			
300	2	****			
200	2,25	****			
100	7,5				****
90	17,75		****		
75	18,25		****		
60	18,75		****		
45	21			****	
0	21,75			****	

Annexe 7 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour DF

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
T	86,47	I1-79	88,43	I1-56	89,14	I1-34	89,76
I1-139	86,56	I1-96	88,43	I1-15	89,15	I1-81	89,76
I1-59	86,60	I1-3	88,44	I1-11	89,17	I1-65	89,81
I1-5	86,61	I1-9	88,45	I1-128	89,17	I1-48	89,84
I1-27	87,01	I1-8	88,50	I1-108	89,21	I1-1	89,86
I1-90	87,09	I1-4	88,52	I1-111	89,26	I1-41	89,88
I1-37	87,26	I1-86	88,55	I1-60	89,27	I1-38	89,88
I1-10	87,37	I1-112	88,57	I1-49	89,30	I1-136	89,90
I1-126	87,46	I1-88	88,58	I1-135	89,37	I1-138	89,92
I1-131	87,51	I1-115	88,62	I1-134	89,39	I1-84	89,92
I1-137	87,59	I1-19	88,63	I1-80	89,40	I1-64	89,97
I1-58	87,64	I1-114	88,63	I1-53	89,45	I1-113	90,00
I1-21	87,71	I1-26	88,65	I1-51	89,45	I1-133	90,01
I1-14	87,73	I1-130	88,67	I1-83	89,47	I1-106	90,03
I1-82	87,79	I1-87	88,67	I1-109	89,50	I1-20	90,03
I1-50	87,87	I1-52	88,68	I1-72	89,51	I1-94	90,03
I1-104	87,93	I1-120	88,70	I1-30	89,51	I1-66	90,09
I1-70	87,97	I1-45	88,70	I1-132	89,51	I1-100	90,13
I1-77	88,00	I1-7	88,72	I1-13	89,52	I1-110	90,27
I1-129	88,02	I1-107	88,73	I1-43	89,53	I1-116	90,27
I1-74	88,05	I1-33	88,74	I1-99	89,54	I1-118	90,38
I1-39	88,07	I1-91	88,77	I1-23	89,57	I1-54	90,39
I1-102	88,08	I1-36	88,78	I1-76	89,57	I1-122	90,40
I1-124	88,09	I1-117	88,82	I1-85	89,58	I1-121	90,53
I1-127	88,13	I1-2	88,90	I1-44	89,60	I1-69	90,58
I1-67	88,19	I1-62	88,90	I1-24	89,61	I1-42	90,69
I1-61	88,22	I1-16	88,91	I1-40	89,62	I1-12	90,73
I1-92	88,25	I1-28	88,94	I1-71	89,62	I1-46	90,89
I1-95	88,26	I1-73	88,98	I1-6	89,64	I1-47	91,17
I1-32	88,31	I1-25	88,99	I1-17	89,66	I1-63	91,24
I1-123	88,36	I1-18	88,99	I1-75	89,66	I1-35	91,48
I1-140	88,36	I1-98	89,01	I1-105	89,67	I1-103	91,65
I1-93	88,37	I1-78	89,02	I1-125	89,67	I1-101	95,76
I1-55	88,38	I1-119	89,09	I1-57	89,70		
I1-97	88,39	I1-89	89,12	I1-68	89,70		
I1-29	88,41	I1-22	89,13	I1-31	89,71		

En rouge : significativement inférieures ; T : témoin non irradié

Annexe 8 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour DM

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-68	122,8	I1-83	124,7	I1-27	125,6	I1-86	126,5
I1-129	122,9	I1-69	124,7	I1-130	125,7	I1-33	126,5
I1-112	123,0	I1-114	124,7	I1-25	125,7	I1-4	126,5
I1-59	123,0	I1-1	124,7	I1-89	125,7	I1-53	126,6
I1-120	123,2	I1-50	124,7	I1-135	125,7	I1-35	126,6
I1-90	123,3	I1-61	124,7	I1-108	125,7	I1-37	126,6
I1-80	123,3	I1-131	124,7	I1-99	125,7	I1-110	126,6
I1-49	123,3	I1-111	124,7	I1-18	125,7	I1-46	126,6
I1-126	123,3	I1-96	124,8	I1-105	125,7	I1-64	126,7
I1-70	123,5	I1-137	124,8	I1-128	125,8	I1-73	126,7
I1-82	123,8	I1-30	124,8	I1-136	125,8	I1-75	126,7
I1-34	123,8	I1-103	124,9	I1-104	125,8	I1-43	126,7
I1-63	124,0	I1-94	124,9	I1-7	125,9	I1-121	126,7
I1-92	124,1	I1-2	124,9	I1-62	125,9	I1-81	126,8
I1-23	124,1	I1-29	125,0	I1-117	125,9	I1-15	126,8
I1-116	124,1	I1-65	125,0	I1-115	125,9	I1-58	126,8
I1-76	124,1	I1-60	125,1	I1-12	125,9	I1-77	126,8
I1-39	124,1	I1-20	125,1	I1-52	126,0	I1-97	126,9
I1-67	124,2	I1-124	125,1	I1-9	126,0	I1-140	126,9
I1-109	124,2	I1-107	125,1	I1-79	126,0	I1-122	126,9
I1-72	124,3	I1-125	125,2	I1-28	126,0	I1-98	126,9
T	124,4	I1-134	125,2	I1-48	126,0	I1-91	126,9
I1-123	124,4	I1-36	125,3	I1-31	126,1	I1-55	126,9
I1-139	124,4	I1-40	125,3	I1-21	126,1	I1-11	127,0
I1-88	124,4	I1-8	125,3	I1-14	126,2	I1-47	127,0
I1-26	124,5	I1-16	125,4	I1-119	126,2	I1-57	127,0
I1-24	124,5	I1-13	125,4	I1-66	126,2	I1-51	127,0
I1-84	124,5	I1-6	125,4	I1-85	126,2	I1-54	127,1
I1-102	124,5	I1-71	125,4	I1-56	126,2	I1-44	127,1
I1-5	124,5	I1-17	125,4	I1-22	126,3	I1-93	127,2
I1-106	124,6	I1-95	125,4	I1-19	126,3	I1-113	127,2
I1-45	124,6	I1-3	125,5	I1-32	126,3	I1-74	127,4
I1-132	124,6	I1-138	125,6	I1-78	126,3	I1-101	127,4
I1-42	124,6	I1-133	125,6	I1-100	126,5		
I1-38	124,6	I1-118	125,6	I1-87	126,5		
I1-10	124,7	I1-127	125,6	I1-41	126,5		

En gras : significativement supérieures

Annexe 9 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour HT

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-83	22,66	I1-41	25,40	I1-6	26,56	I1-68	27,59
I1-23	23,14	I1-40	25,46	I1-114	26,56	I1-46	27,59
I1-63	23,70	I1-37	25,48	I1-109	26,64	I1-62	27,65
I1-36	23,74	I1-69	25,52	I1-28	26,65	I1-59	27,67
I1-122	23,93	I1-54	25,52	I1-82	26,66	I1-124	27,68
I1-33	24,01	I1-120	25,52	I1-31	26,67	I1-50	27,72
I1-106	24,08	I1-11	25,54	I1-84	26,68	I1-65	27,78
I1-57	24,34	I1-25	25,60	I1-136	26,69	I1-75	27,79
I1-97	24,40	I1-111	25,60	I1-16	26,72	I1-85	27,80
I1-13	24,58	I1-103	25,62	T	26,73	I1-19	27,80
I1-51	24,59	I1-102	25,72	I1-22	26,77	I1-140	27,80
I1-34	24,65	I1-78	25,79	I1-42	26,79	I1-52	27,86
I1-74	24,67	I1-32	25,82	I1-4	26,79	I1-7	27,89
I1-53	24,84	I1-125	25,86	I1-14	26,82	I1-135	27,91
I1-77	24,86	I1-105	25,88	I1-80	26,83	I1-129	28,00
I1-88	24,94	I1-72	25,89	I1-132	26,85	I1-96	28,06
I1-49	24,95	I1-107	25,92	I1-127	26,86	I1-73	28,07
I1-35	24,97	I1-67	25,96	I1-133	26,90	I1-9	28,13
I1-26	24,98	I1-64	26,02	I1-66	26,96	I1-1	28,15
I1-113	25,02	I1-87	26,02	I1-134	26,99	I1-20	28,18
I1-98	25,08	I1-56	26,03	I1-21	27,03	I1-92	28,21
I1-12	25,08	I1-126	26,10	I1-104	27,08	I1-38	28,30
I1-117	25,08	I1-39	26,11	I1-45	27,09	I1-76	28,51
I1-112	25,12	I1-29	26,18	I1-58	27,11	I1-137	28,54
I1-71	25,14	I1-27	26,22	I1-99	27,12	I1-61	28,57
I1-86	25,15	I1-18	26,24	I1-8	27,14	I1-131	28,60
I1-116	25,18	I1-138	26,26	I1-55	27,15	I1-139	28,80
I1-47	25,22	I1-44	26,27	I1-89	27,17	I1-79	28,93
I1-93	25,24	I1-121	26,29	I1-100	27,21	I1-90	29,34
I1-60	25,24	I1-94	26,29	I1-101	27,23	I1-123	29,48
I1-48	25,29	I1-43	26,32	I1-95	27,30	I1-10	29,67
I1-91	25,29	I1-130	26,36	I1-3	27,34	I1-70	30,50
I1-110	25,30	I1-128	26,41	I1-2	27,37	I1-5	30,69
I1-24	25,30	I1-81	26,41	I1-119	27,38		
I1-15	25,30	I1-108	26,44	I1-17	27,52		
I1-30	25,33	I1-118	26,49	I1-115	27,52		

Annexe 10 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour HPG

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-77	7,594	I1-102	9,222	I1-39	9,746	I1-15	10,227
I1-93	7,990	I1-53	9,242	I1-18	9,759	I1-103	10,240
I1-81	7,996	I1-110	9,256	I1-89	9,762	I1-58	10,255
I1-57	8,256	I1-25	9,262	I1-7	9,775	I1-133	10,262
I1-13	8,296	I1-28	9,265	I1-66	9,777	I1-2	10,288
I1-23	8,372	I1-33	9,282	I1-56	9,786	I1-113	10,290
I1-35	8,420	I1-88	9,292	I1-68	9,798	I1-19	10,294
I1-107	8,433	I1-112	9,313	I1-127	9,800	I1-75	10,295
I1-12	8,454	I1-40	9,344	I1-126	9,814	I1-59	10,325
I1-111	8,468	I1-46	9,356	I1-117	9,830	I1-62	10,392
I1-114	8,475	I1-108	9,364	I1-90	9,833	I1-131	10,396
I1-106	8,486	I1-136	9,412	I1-1	9,853	T	10,400
I1-37	8,505	I1-45	9,437	I1-99	9,858	I1-92	10,431
I1-47	8,531	I1-69	9,460	I1-21	9,891	I1-134	10,433
I1-36	8,555	I1-30	9,483	I1-139	9,897	I1-4	10,483
I1-130	8,556	I1-60	9,495	I1-137	9,908	I1-20	10,504
I1-85	8,581	I1-41	9,497	I1-17	9,921	I1-65	10,519
I1-64	8,649	I1-91	9,507	I1-3	9,927	I1-8	10,547
I1-125	8,652	I1-104	9,512	I1-140	9,960	I1-16	10,580
I1-27	8,778	I1-98	9,527	I1-132	9,963	I1-80	10,600
I1-63	8,853	I1-29	9,546	I1-38	9,966	I1-129	10,645
I1-48	8,855	I1-120	9,592	I1-138	9,973	I1-9	10,711
I1-43	8,902	I1-32	9,602	I1-97	9,983	I1-73	10,755
I1-86	8,942	I1-109	9,603	I1-115	9,989	I1-96	10,852
I1-72	8,949	I1-116	9,617	I1-31	9,991	I1-50	10,963
I1-135	8,979	I1-49	9,628	I1-84	10,032	I1-119	10,977
I1-105	9,004	I1-52	9,630	I1-122	10,036	I1-101	10,978
I1-54	9,019	I1-74	9,646	I1-87	10,044	I1-124	11,020
I1-34	9,058	I1-42	9,649	I1-123	10,055	I1-100	11,048
I1-78	9,085	I1-71	9,655	I1-76	10,073	I1-70	11,128
I1-26	9,114	I1-51	9,662	I1-22	10,100	I1-82	11,483
I1-94	9,160	I1-61	9,680	I1-95	10,137	I1-10	11,583
I1-11	9,189	I1-67	9,685	I1-5	10,145	I1-79	11,667
I1-83	9,189	I1-6	9,731	I1-44	10,162		
I1-121	9,203	I1-24	9,735	I1-55	10,171		
I1-128	9,212	I1-118	9,739	I1-14	10,189		

Annexe 11 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour NRP

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-78	1,998	I1-41	2,508	I1-72	2,654	I1-8	2,822
I1-44	2,083	I1-102	2,509	I1-55	2,656	I1-131	2,822
I1-93	2,106	I1-56	2,514	I1-85	2,656	I1-133	2,823
I1-74	2,115	I1-13	2,517	I1-20	2,657	I1-69	2,830
I1-83	2,147	I1-84	2,521	I1-62	2,659	I1-116	2,833
I1-51	2,200	I1-118	2,523	I1-81	2,662	I1-119	2,844
I1-36	2,239	I1-107	2,532	I1-2	2,665	I1-96	2,852
I1-77	2,251	I1-45	2,540	I1-137	2,665	I1-89	2,855
I1-75	2,256	I1-117	2,542	I1-15	2,670	I1-136	2,856
I1-33	2,256	I1-101	2,543	I1-92	2,676	I1-42	2,868
I1-91	2,261	I1-54	2,547	I1-106	2,679	I1-99	2,874
I1-37	2,286	I1-17	2,551	I1-12	2,686	I1-82	2,886
I1-40	2,311	I1-4	2,551	I1-139	2,686	I1-7	2,928
I1-64	2,314	I1-52	2,554	I1-100	2,690	I1-19	2,933
I1-110	2,320	I1-58	2,568	I1-71	2,690	I1-39	2,937
I1-47	2,328	I1-122	2,569	I1-80	2,700	I1-38	2,956
I1-53	2,343	I1-120	2,574	I1-57	2,701	I1-65	2,963
I1-32	2,355	I1-6	2,578	I1-5	2,709	I1-60	2,963
I1-140	2,372	I1-46	2,586	I1-25	2,713	I1-10	2,967
I1-14	2,400	I1-21	2,590	I1-63	2,717	I1-114	2,971
I1-66	2,404	I1-35	2,594	I1-95	2,724	I1-18	2,983
I1-113	2,418	I1-129	2,594	I1-125	2,728	I1-70	2,985
I1-121	2,420	I1-43	2,597	I1-123	2,731	I1-132	2,999
I1-98	2,425	I1-3	2,598	I1-138	2,732	I1-79	3,033
I1-26	2,426	I1-28	2,612	I1-124	2,738	I1-9	3,035
I1-24	2,445	I1-50	2,614	I1-130	2,741	I1-108	3,043
I1-109	2,448	I1-86	2,620	I1-67	2,741	I1-61	3,049
I1-23	2,457	I1-22	2,623	I1-48	2,743	I1-16	3,098
I1-103	2,471	I1-59	2,626	I1-115	2,751	I1-90	3,102
I1-97	2,477	I1-104	2,630	I1-27	2,765	I1-128	3,115
I1-11	2,480	I1-88	2,632	I1-49	2,778	I1-1	3,134
I1-87	2,484	T	2,633	I1-34	2,781	I1-112	3,141
I1-111	2,487	I1-105	2,644	I1-76	2,785	I1-68	3,190
I1-126	2,488	I1-73	2,645	I1-135	2,791		
I1-29	2,490	I1-134	2,654	I1-30	2,798		
I1-94	2,507	I1-31	2,654	I1-127	2,813		

Annexe 12 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour NGP

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-77	0,879	I1-56	1,190	I1-71	1,300	I1-34	89,76
I1-77	0,879	I1-56	1,190	I1-71	1,300	I1-60	1,420
I1-110	0,939	I1-26	1,199	I1-28	1,301	I1-139	1,424
I1-33	0,975	I1-87	1,199	I1-74	1,306	I1-65	1,426
I1-91	1,009	I1-83	1,202	I1-124	1,313	I1-17	1,427
I1-81	1,014	I1-52	1,207	I1-66	1,316	I1-112	1,428
I1-57	1,042	I1-119	1,220	I1-27	1,316	I1-6	1,431
I1-64	1,057	I1-67	1,222	I1-137	1,329	I1-39	1,434
I1-113	1,061	I1-24	1,227	I1-120	1,331	I1-123	1,443
I1-13	1,066	I1-29	1,229	I1-3	1,335	I1-38	1,445
I1-85	1,067	I1-79	1,233	I1-2	1,338	I1-18	1,447
I1-111	1,077	I1-23	1,234	I1-68	1,342	I1-7	1,449
I1-86	1,077	I1-121	1,235	I1-99	1,343	I1-10	1,450
I1-53	1,083	I1-45	1,238	I1-116	1,350	I1-84	1,452
I1-97	1,094	I1-109	1,238	I1-72	1,350	I1-34	1,465
I1-47	1,110	I1-5	1,243	I1-88	1,354	I1-94	1,474
I1-41	1,112	I1-54	1,248	I1-75	1,357	I1-131	1,479
I1-128	1,116	I1-104	1,250	I1-82	1,358	I1-50	1,486
I1-8	1,119	I1-22	1,257	I1-115	1,359	I1-134	1,488
I1-36	1,131	I1-58	1,260	I1-69	1,364	I1-46	1,502
I1-130	1,137	I1-25	1,261	I1-136	1,369	I1-138	1,504
I1-93	1,138	I1-12	1,264	I1-106	1,373	I1-30	1,520
I1-35	1,139	I1-122	1,268	I1-126	1,377	I1-133	1,523
I1-107	1,140	I1-49	1,271	I1-127	1,378	I1-76	1,529
I1-31	1,141	I1-9	1,272	I1-103	1,378	I1-129	1,538
I1-101	1,142	I1-11	1,273	I1-73	1,379	I1-118	1,545
I1-105	1,142	I1-44	1,275	I1-43	1,381	I1-59	1,578
I1-135	1,147	I1-98	1,277	I1-140	1,382	I1-16	1,596
I1-55	1,156	I1-14	1,278	I1-95	1,384	I1-92	1,602
I1-78	1,160	I1-20	1,279	I1-96	1,385	I1-1	1,624
I1-4	1,172	I1-15	1,281	I1-61	1,387	I1-80	1,627
I1-40	1,175	I1-114	1,283	I1-62	1,396	I1-42	1,659
I1-21	1,180	I1-100	1,285	I1-102	1,399	I1-90	1,727
I1-51	1,181	I1-48	1,291	I1-63	1,400	T	1,807
I1-108	1,182	I1-89	1,294	I1-19	1,404		
I1-37	1,184	I1-117	1,296	I1-132	1,410		
I1-125	1,186	I1-32	1,299	I1-70	1,419		

Annexe 13 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour NGG

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-12	0,671	I1-7	1,002	I1-50	1,018	I1-82	1,047
I1-28	0,997	I1-122	1,002	I1-104	1,018	I1-94	1,048
I1-19	0,997	I1-44	1,002	I1-66	1,021	I1-34	1,048
I1-57	0,997	I1-81	1,002	I1-109	1,022	T	1,049
I1-95	0,998	I1-97	1,005	I1-48	1,022	I1-10	1,050
I1-98	0,998	I1-41	1,005	I1-71	1,023	I1-134	1,057
I1-56	0,998	I1-136	1,005	I1-58	1,023	I1-72	1,060
I1-22	0,998	I1-89	1,006	I1-69	1,023	I1-139	1,062
I1-73	0,998	I1-124	1,006	I1-67	1,024	I1-61	1,063
I1-140	0,998	I1-43	1,006	I1-29	1,025	I1-68	1,065
I1-52	0,999	I1-116	1,006	I1-127	1,026	I1-75	1,066
I1-55	0,999	I1-125	1,007	I1-60	1,026	I1-54	1,067
I1-15	0,999	I1-113	1,007	I1-93	1,027	I1-70	1,069
I1-78	0,999	I1-33	1,007	I1-138	1,027	I1-133	1,072
I1-65	0,999	I1-64	1,007	I1-106	1,030	I1-6	1,078
I1-100	0,999	I1-8	1,009	I1-129	1,030	I1-30	1,078
I1-21	0,999	I1-4	1,009	I1-27	1,030	I1-59	1,078
I1-31	0,999	I1-120	1,010	I1-103	1,031	I1-63	1,078
I1-110	0,999	I1-35	1,010	I1-83	1,032	I1-123	1,084
I1-119	0,999	I1-62	1,012	I1-39	1,034	I1-90	1,086
I1-51	0,999	I1-40	1,012	I1-92	1,034	I1-126	1,087
I1-9	1,000	I1-36	1,013	I1-24	1,035	I1-46	1,091
I1-14	1,000	I1-121	1,013	I1-17	1,035	I1-1	1,091
I1-105	1,000	I1-18	1,013	I1-76	1,035	I1-42	1,092
I1-87	1,000	I1-20	1,014	I1-2	1,037	I1-107	1,093
I1-32	1,000	I1-37	1,015	I1-26	1,038	I1-108	1,100
I1-45	1,000	I1-135	1,015	I1-96	1,039	I1-128	1,102
I1-47	1,000	I1-86	1,016	I1-111	1,040	I1-5	1,102
I1-77	1,001	I1-49	1,016	I1-38	1,041	I1-137	1,105
I1-91	1,001	I1-117	1,016	I1-80	1,042	I1-112	1,107
I1-101	1,001	I1-25	1,017	I1-88	1,042	I1-11	1,114
I1-115	1,001	I1-16	1,017	I1-23	1,043	I1-84	1,116
I1-114	1,001	I1-3	1,017	I1-130	1,043	I1-118	1,124
I1-74	1,001	I1-132	1,017	I1-53	1,046		
I1-79	1,002	I1-85	1,017	I1-131	1,047		
I1-99	1,002	I1-13	1,017	I1-102	1,047		

Annexe 14 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour NTG

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-110	15,26	I1-26	26,82	I1-27	35,75	I1-106	50,77
I1-77	17,49	I1-119	27,32	I1-104	35,85	I1-88	51,29
I1-113	18,19	I1-79	27,43	I1-20	36,19	I1-69	51,90
I1-91	18,41	I1-43	27,77	I1-114	36,44	I1-49	52,34
I1-33	18,53	I1-136	27,92	I1-118	37,71	I1-38	53,51
I1-122	19,76	I1-21	27,98	I1-18	37,79	I1-96	53,86
I1-32	19,76	I1-108	28,14	I1-29	37,83	I1-50	53,99
I1-55	19,78	I1-97	28,43	I1-67	38,41	I1-34	54,95
I1-93	20,05	I1-95	28,53	I1-2	38,48	I1-120	55,27
I1-53	20,08	I1-83	28,67	I1-124	39,59	I1-60	55,28
I1-41	20,90	I1-73	28,70	I1-17	39,89	I1-10	55,63
I1-51	21,21	I1-135	28,80	I1-116	39,90	I1-24	56,42
I1-64	21,82	I1-58	28,86	I1-126	39,93	I1-137	56,49
I1-31	22,06	I1-78	28,95	I1-75	40,44	I1-82	57,50
I1-57	22,15	I1-81	29,01	I1-94	40,50	I1-72	57,83
I1-56	22,18	I1-35	29,92	I1-89	41,94	I1-133	58,27
I1-44	22,32	I1-62	30,01	I1-46	42,23	I1-61	59,95
I1-128	22,83	I1-121	30,22	I1-127	42,77	I1-139	60,19
I1-98	23,16	I1-28	30,80	I1-13	42,87	I1-1	60,34
I1-22	23,44	I1-8	30,90	I1-132	42,89	I1-92	61,10
I1-86	23,72	I1-117	31,11	I1-138	42,96	I1-134	62,98
I1-140	23,89	I1-11	31,37	I1-39	43,57	I1-123	64,86
I1-101	23,92	I1-48	31,44	I1-23	43,74	I1-68	66,17
I1-105	25,25	I1-7	32,01	I1-131	43,84	I1-112	67,24
I1-12	25,42	I1-9	32,11	I1-102	44,01	I1-76	67,63
I1-87	25,47	I1-71	32,16	I1-66	44,37	I1-129	68,34
I1-47	25,51	I1-40	32,27	I1-109	44,64	I1-80	68,77
I1-36	25,54	I1-99	32,81	I1-6	44,97	T	68,80
I1-100	25,57	I1-3	33,21	I1-111	45,11	I1-59	71,71
I1-52	25,74	I1-85	33,37	I1-103	45,82	I1-70	75,01
I1-4	25,95	I1-45	33,42	I1-65	46,00	I1-42	84,42
I1-15	26,08	I1-25	33,79	I1-30	47,37	I1-5	97,72
I1-74	26,31	I1-115	34,05	I1-107	47,78	I1-90	112,52
I1-54	26,48	I1-19	34,09	I1-16	49,96		
I1-14	26,72	I1-37	34,15	I1-84	50,46		
I1-130	26,73	I1-125	34,70	I1-63	50,68		

Annexe 15 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour RGP

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-101	0,030	I1-114	0,433	I1-115	0,961	I1-13	1,604
I1-32	0,062	I1-86	0,445	I1-6	0,990	I1-84	1,644
I1-74	0,084	I1-78	0,455	I1-104	0,994	T	1,668
I1-105	0,087	I1-17	0,483	I1-124	1,005	I1-34	1,692
I1-110	0,089	I1-83	0,524	I1-3	1,007	I1-69	1,727
I1-31	0,112	I1-8	0,549	I1-89	1,041	I1-139	1,751
I1-87	0,147	I1-125	0,552	I1-58	1,042	I1-61	1,865
I1-81	0,167	I1-98	0,561	I1-7	1,065	I1-129	1,891
I1-15	0,173	I1-54	0,565	I1-71	1,067	I1-50	1,906
I1-56	0,183	I1-19	0,569	I1-102	1,087	I1-46	1,937
I1-122	0,185	I1-135	0,576	I1-93	1,106	I1-112	2,003
I1-100	0,192	I1-36	0,606	I1-21	1,117	I1-37	2,016
I1-55	0,194	I1-113	0,613	I1-126	1,151	I1-1	2,031
I1-51	0,194	I1-33	0,620	I1-120	1,152	I1-60	2,059
I1-77	0,218	I1-67	0,626	I1-94	1,160	I1-10	2,059
I1-22	0,221	I1-45	0,634	I1-118	1,196	I1-137	2,061
I1-119	0,227	I1-14	0,643	I1-107	1,204	I1-88	2,085
I1-99	0,235	I1-64	0,649	I1-29	1,208	I1-11	2,146
I1-91	0,236	I1-27	0,650	I1-131	1,217	I1-70	2,182
I1-53	0,263	I1-121	0,669	I1-106	1,239	I1-123	2,223
I1-73	0,270	I1-136	0,679	I1-16	1,245	I1-68	2,245
I1-47	0,294	I1-26	0,702	I1-65	1,254	I1-30	2,283
I1-41	0,303	I1-35	0,772	I1-111	1,265	I1-82	2,310
I1-40	0,305	I1-18	0,808	I1-49	1,341	I1-72	2,326
I1-9	0,311	I1-130	0,828	I1-38	1,367	I1-80	2,366
I1-12	0,317	I1-39	0,850	I1-48	1,369	I1-92	2,505
I1-62	0,318	I1-109	0,851	I1-116	1,388	I1-59	2,904
I1-95	0,328	I1-108	0,872	I1-127	1,423	I1-75	2,914
I1-140	0,342	I1-85	0,880	I1-2	1,471	I1-134	2,992
I1-52	0,346	I1-132	0,898	I1-24	1,516	I1-90	3,078
I1-97	0,379	I1-117	0,906	I1-66	1,521	I1-133	3,840
I1-128	0,385	I1-138	0,921	I1-63	1,536	I1-42	3,841
I1-28	0,386	I1-20	0,924	I1-76	1,555	I1-5	4,833
I1-57	0,400	I1-4	0,934	I1-103	1,572		
I1-79	0,415	I1-25	0,935	I1-23	1,575		
I1-44	0,424	I1-43	0,950	I1-96	1,597		

Annexe 16 : Test de comparaison multiples (Dunnet's test) pour PCG

Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne	Famille	Moyenne
I1-110	1,662	I1-56	2,584	I1-50	2,820	I1-92	2,966
I1-52	1,815	I1-11	2,600	I1-7	2,822	I1-18	2,985
I1-91	1,911	I1-23	2,601	I1-139	2,828	I1-61	2,986
I1-55	2,011	I1-135	2,617	I1-122	2,833	I1-12	2,986
I1-74	2,027	I1-86	2,621	I1-90	2,834	I1-105	2,989
I1-28	2,038	I1-37	2,625	I1-45	2,834	I1-39	3,003
I1-31	2,111	I1-87	2,626	I1-65	2,836	I1-112	3,007
I1-101	2,121	I1-137	2,631	I1-130	2,841	I1-117	3,007
I1-81	2,123	I1-108	2,633	I1-71	2,846	I1-127	3,008
I1-51	2,124	I1-79	2,635	I1-38	2,851	I1-34	3,010
I1-32	2,146	I1-96	2,636	I1-89	2,853	I1-72	3,014
I1-44	2,148	I1-78	2,636	I1-26	2,855	I1-59	3,023
I1-9	2,185	I1-4	2,646	I1-63	2,855	I1-25	3,027
I1-77	2,242	I1-1	2,650	I1-103	2,858	I1-82	3,027
I1-118	2,294	I1-35	2,652	I1-114	2,862	I1-21	3,033
I1-85	2,403	I1-73	2,658	I1-124	2,862	I1-42	3,042
I1-17	2,437	I1-104	2,668	I1-49	2,866	I1-102	3,063
I1-57	2,442	I1-83	2,680	I1-43	2,866	I1-88	3,082
I1-53	2,451	I1-67	2,686	I1-3	2,870	I1-10	3,100
I1-40	2,463	I1-100	2,689	I1-125	2,871	I1-80	3,131
I1-111	2,465	I1-46	2,691	I1-134	2,897	I1-54	3,132
I1-8	2,471	I1-138	2,693	I1-2	2,902	I1-69	3,136
I1-95	2,486	I1-109	2,701	I1-94	2,906	I1-133	3,144
I1-6	2,495	I1-60	2,712	I1-75	2,911	I1-129	3,147
I1-121	2,497	I1-19	2,727	I1-128	2,912	I1-27	3,153
I1-97	2,504	I1-66	2,738	I1-14	2,921	I1-15	3,155
I1-136	2,508	I1-13	2,744	I1-107	2,924	I1-48	3,198
I1-58	2,513	I1-93	2,745	I1-20	2,930	I1-5	3,204
I1-84	2,531	I1-115	2,753	I1-24	2,933	T	3,209
I1-62	2,536	I1-68	2,764	I1-126	2,935	I1-70	3,238
I1-119	2,541	I1-120	2,769	I1-123	2,938	I1-113	3,405
I1-16	2,542	I1-106	2,777	I1-41	2,944	I1-98	3,466
I1-99	2,549	I1-29	2,787	I1-30	2,949	I1-33	3,786
I1-64	2,566	I1-76	2,792	I1-131	2,950		
I1-22	2,573	I1-132	2,810	I1-47	2,955		
I1-140	2,577	I1-116	2,815	I1-36	2,966		

Annexe 17 : Identification des meilleures familles pour DM par la méthode des BLUPs

Familles	DM	Familles	DM	Familles	DM
68	123,15	49	123,57	92	124,26
129	123,26	126	123,63	76	124,27
112	123,30	70	123,75	23	124,27
59	123,42	82	124,00	39	124,28
120	123,51	34	124,03	67	124,38
80	123,56	63	124,23	109	124,40
90	123,56	116	124,26	T	124,52

Annexe 18 : Identification des meilleures familles pour HT par la méthode des BLUPs

Familles	HT	Familles	HT	Familles	HT
5	29,45	7	27,44	101	26,97
70	29,32	52	27,44	89	26,93
10	28,76	65	27,38	8	26,92
123	28,51	75	27,38	45	26,92
90	28,43	140	27,36	58	26,91
79	28,23	19	27,35	99	26,90
139	28,05	85	27,33	104	26,89
131	27,93	50	27,33	55	26,88
61	27,93	124	27,31	21	26,86
76	27,92	62	27,29	134	26,83
137	27,91	68	27,26	66	26,81
38	27,74	59	27,25	133	26,76
92	27,66	17	27,21	127	26,75
20	27,62	115	27,20	132	26,74
1	27,61	46	27,14	80	26,74
9	27,58	119	27,09	14	26,72
96	27,57	2	27,09	4	26,70
73	27,57	3	27,04	42	26,69
129	27,52	95	27,04	22	26,68
135	27,48	100	27,00	T	26,66

Annexe 19 : Identification des meilleures familles pour HPG par la méthode des BLUPs

Familles	HPG	Familles	HPG	Familles	HPG
79	10,67	119	10,27	65	10,08
10	10,63	96	10,24	16	10,08
82	10,54	101	10,23	8	10,07
70	10,39	73	10,18	4	10,07
100	10,34	80	10,14	20	10,05
124	10,32	9	10,14	T	10,05
50	10,28	129	10,13		

Annexe 20 : Identification des meilleures familles pour NRP par la méthode des BLUPs

Familles	NRP	Familles	NRP	Familles	NRP
68	2,95	136	2,76	5	2,68
112	2,91	116	2,75	25	2,68
1	2,90	119	2,75	80	2,68
90	2,89	89	2,75	57	2,67
128	2,89	131	2,74	100	2,67
16	2,87	127	2,74	71	2,67
79	2,87	8	2,74	139	2,67
61	2,87	133	2,74	12	2,66
9	2,85	69	2,73	92	2,66
108	2,84	135	2,73	106	2,66
70	2,84	76	2,73	15	2,66
132	2,84	34	2,72	137	2,66
10	2,83	49	2,72	2	2,66
65	2,82	27	2,71	81	2,65
114	2,82	30	2,71	62	2,65
38	2,82	115	2,70	20	2,65
18	2,81	130	2,70	85	2,65
39	2,81	67	2,70	55	2,65
60	2,80	124	2,70	31	2,65
7	2,79	48	2,70	134	2,65
19	2,79	138	2,69	72	2,65
82	2,78	123	2,69	73	2,65
42	2,76	95	2,69	105	2,65
99	2,76	125	2,69	88	2,64
96	2,76	63	2,69	T	2,64

Annexe 21 : Identification des meilleures familles pour NTG par la méthode des BLUPs

Familles	NTG	Familles	NTG	Familles	NTG
90	94,47	42	72,63	59	62,69
5	83,34	70	66,49	T	62,32

Annexe 22 : Identification des meilleures familles pour NGG par la méthode des BLUPs

Familles	NGG	Familles	NGG	Familles	NGG
112	1,08	123	1,07	133	1,05
137	1,08	59	1,06	72	1,05
5	1,08	70	1,06	134	1,05
90	1,07	68	1,06	10	1,05
1	1,07	30	1,05	T	1,05
4	1,07	61	1,05		

DOI : <http://doi.org/10.22438/jeb/39/2/MRN-476>

JEB™

p-ISSN: 0254-8704
e-ISSN: 2394-0379
CODEN: JEBIDP

Identification of desirable mutants in quantitative traits of lentil at early (M_2) generation



Abstract

Aim : Narrow genetic base and limited genetic diversity are the major research constraints that affect the efficacy of class breeding methods in lentil. In order to circumvent these conditions, mutation breeding techniques were successfully employed in many studies. The present study was conducted to find the LD_{50} dose of gamma rays in lentil cultivar, Idlib-3 and also to develop and characterize M_2 population for economically important quantitative traits.

Methodology : Initially, seeds of lentil variety Idlib-3 were treated with eight doses (45, 60, 75, 90, 100, 200, 300 and 400 Gy) of gamma rays. Germination percentage was recorded to determine LD_{50} by probit analysis. After determining LD_{50} , M_1 and M_2 generations were raised. At M_2 generation, mutant families were characterized for a set of ten different economically important traits.

Results : The LD_{50} of gamma rays was calculated as 104.34 Gy based on the germination percentage. In M_2 generation many induced mutations such as chlorophyll mutation (2.76%), stunted growth (1.14%) and dwarf mutants (0.35%) were recorded. Dunnett's test revealed a total of 13 superior families over parent for various quantitative traits. The results of Best Linear Unbiased Predictors (BLUPs) confirmed the recurrence and superiority of same seven families, identified in Dunnett's test for high seed yield.

Interpretation : Early selection in M_2 generation was found useful to identify new desirable mutant traits in lentil. The superior families identified for early maturity, high yield and more total number of pods per plants could be either utilized as direct mutants or in the future crossing program.

Authors Info

D. Tabti^{1,2*}, M. Laouar¹,
K. Rajendran³, S. Kumar³
and A. Abdelguerfi²

¹ENSA, Laboratoire d'Amélioration Intégrative des Productions Végétales, Alger, 16051, Algérie

²ENSA, Laboratoire des Ressources Génétiques et Biotechnologies, Alger, 16051, Algérie

³Biodiversity and Integrated Gene Management Program. The International Centre for Agricultural Research in Dry Areas, Rabat-Institutes, 10020, Morocco

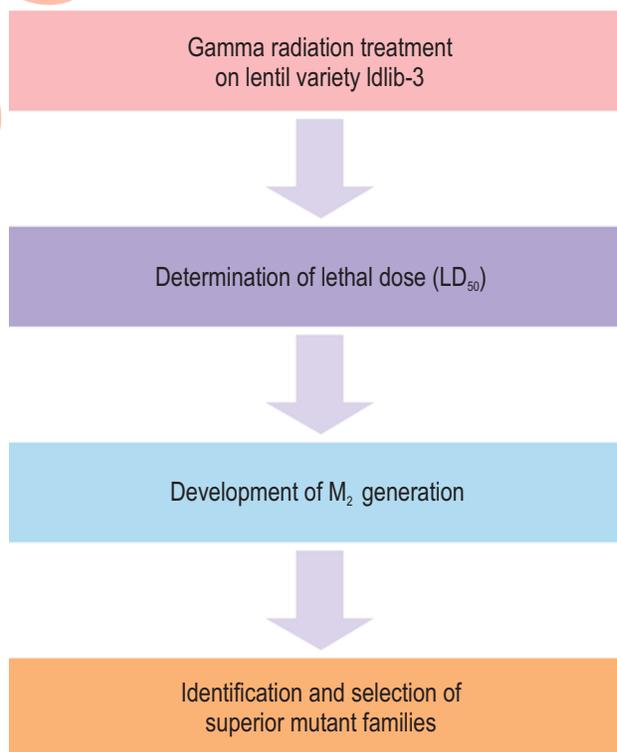
*Corresponding Author Email : tdahbia1990@gmail.com

Key words

BLUPs values
Gamma rays
Lentil
Lethal dose
Mutants

Publication Info

Paper received : 05.10.2016
Revised received : 07.02.2017
Re-revised received : 30.05.2017
Accepted : 28.06.2017



Introduction

Lentil (*Lens culinaris* Medik. subsp. *culinaris*) is one of the earliest domesticated crops in the Near East (Stefaniak and McPhee, 2015). It is an autogamous, diploid ($2n=2x=14$) species with a genome size of approximately 4063 Mbp (Arumuganathan and Earle, 1991). It is a drought tolerant legume crop. When compared to other food legumes it can be easily grown in marginal environments (Cubero, 1981). It is predominantly cultivated in the Indian subcontinent, the Middle East, Northern America, Southern Europe, and Eastern and Northern Africa for food (Gupta et al., 2011).

Lentil is the fourth most important food legume crop after faba bean, chickpea and peas in Algeria. Even-though, lentil cultivation is promoted by the Algerian Ministry of Agriculture, its production has decreased in the past few years (Riah et al., 2014; FAO, 2014) due to lack of adapted varieties to the agro-systems that have legumes production vocation. Moreover, attributes such as limited genetic diversity and narrow genetic base severely affect the crop improvement (Fratini et al., 2014). Research efforts are currently underway in many Algerian Agricultural Research Institutes to develop new lentil varieties for Algerian agro-climatic conditions.

Creating genetic variation through hybridization is a cumbersome practice in lentil. The small sized fragile flowers make the emasculation process difficult (Rana and Solanki, 2015). Moreover, self-fertile nature of the crop further imposes limitation to the success of the hybridization program. In view of that, classical plant breeding approaches have become slow and unreliable.

Alternatively, mutation breeding appears to play an important role in the genetic improvement of lentil. Mutants are usually induced by different types of chemical mutagens and ionizing radiations (Amin et al., 2015). Among them, gamma rays are commonly used mutagen to create variation in lentil (Singh et al., 2011). Gamma rays cause chromosomal rearrangements, deletions, and hence produce new source of genetic variations in plants (Bhat et al., 2007). The application of gamma rays is also found easy only on two steps: preparation of seeds and mutagen treatment (Toker et al., 2007). Gamma rays were successfully used to develop lentil cultivars such as Elista for resistance to main lentil diseases and Djudje for high protein content and good culinary quality (Tomlekova, 2010).

To avoid high level of mortality rate due to mutation, determination of safe dose at which half of the plant material survives, which is commonly known as Lethal Dose₅₀ (LD₅₀), should be estimated at initial stage. The LD₅₀ helps in determining the sensitivity of a particular variety to the critical dose of mutagen causing 50% mortality rate (Kangarasu et al., 2014). It was reported that the factors such as seed size, maturity, hardness, moisture content and time of the treatment influence variation in LD₅₀ dose, even between different varieties of same crop (Karthika and Subba Lakshmi, 2006).

As mentioned in early mutation studies quantitative traits such as yield should undergo selection at early generation. Selections at early generation reduce the loss of desirable combination of favorable alleles (Solanki and Sharma, 2001, 2002; Sneep, 1977). It seems that exercise of selection is independent of the mutagen being used for the development of M₂ population (Rana and Solanki, 2015). Moreover, in order to utilize the usefulness of mutations for efficient plant breeding, the study of frequency of chlorophyll mutants and viable mutants in M₂ generation is widely recommended (Kharkwal, 2000).

With this background, the following study was conducted to determine the LD₅₀ dose of gamma rays in lentil cultivar, Idlib-3 and also to develop and characterize M₂ population for economically important quantitative traits.

Materials and Methods

All experiments were carried out at the National High School of Agriculture (ENSA), Algiers, Algeria during 2013-2015 cropping seasons. The experimental plot had sandy loam soil with a pH of 7.6. It had 1.04% nitrogen, 11.69% organic matter and 0.06 ppm available phosphorus. For this study, a *microsperma* type of lentil, Idlib-3 (ILL6994) derived from a cross between ILL99 (Moroccan landrace) and ILL5588 (Jordanian landrace) was employed.

Estimation of germination percentage : A total of 768 well-filled, homogeneous, dry seeds (11% moisture) of ILL 6994 were chosen and divided into eight sets (96 seeds per set). Each of these eight sets were then exposed to 45, 60, 75, 90, 100, 200, 300 and 400 Gy gamma rays treatment using Cobalt 60 (⁶⁰Co) source in the gamma cell, National Center for Nuclear Research (CRNA), Algeria at the dose rate of 12.11 Gy.min⁻¹. All eight sets of treated seeds along with a one set of untreated control seeds (96 seeds) were sown in pots (one plant per pot). On 25th day after sowing, the total number of germinated seedlings were recorded across all treatments, as well as in the control. The germination percentage and the percentage over control were calculated according to the formula given by Kangarasu et al. (2014).

Raising M₁ generation : In order to raise M₁ generation, samples of 10,000 homogeneous, air-dried seeds of Idlib-3 were treated with 100 Gy gamma radiation. All treated as well as untreated seeds were sown in 600 m² areas with 20 cm × 10 cm spacing during 2013-14 cropping season. From this material, a total of 428 single plants were harvested and forwarded to raise M₂ generation.

Raising M₂ generation and data collection : From M₁ (428 single plants), a sum of 140 single plants (4200 seeds), which had at least 30 seeds per plant were selected and sown (40cm × 30cm spacing) in a randomized complete block design with three replications during 2014-15 cropping season. All mutant progenies were characterized for viable mutants and chlorophyll mutants at different growth stages. The frequency of chlorophyll and viable mutations was calculated following the method of Khan and Tyagi

(2009). Observations were recorded for a set of ten economically important traits namely, days to first flowering (DF), days to 95% maturity (DM), plant height (PH), height of first pod (HFP), number of primary branches (NPB), number of pods per peduncle (NPP), number of seeds per pod (NSP), total number of pods per plant (TPP), seed yield (SY) and hundred seed weight (HSW).

Statistical analysis : The LD₅₀ value was calculated by probit analysis using SPSS software version 20 (IBM Corp., 2011). The probit vs log of the doses were plotted in a graph to fit a line of regression. From the plot of probit, the average dose response was calculated and the LD₅₀ value was obtained (Heinrichs *et al.*, 1981).

In order to identify mutant families which were significantly superior over the parent (untreated control) in M₂, Dunnett's test was employed using Genstat software, version.18 (VSN International, 2015). The Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) values were calculated (genotypes modeled as a random effect) for all quantitative characters and the twenty four superior mutant families over control for seed yield (SY) were selected. The BLUPs were calculated using IBP Breeding Management System Version 3.0.8 (2015).

Results and Discussion

Germination under different doses of gamma rays were recorded, and the percentage over control was calculated (Table 1). Germination was found to decrease progressively with the increasing dose of treatment. The highest germination percentage (96.55%) was obtained at 45 Gy treatment and the lowest germination percentage was obtained at 400 Gy treatment (4.6%). Similar results were observed by Solanki and Sharma (1994), Singh *et al.* (2007) in lentil and by Girjia and Dhanavel

Table 1 : Number of seeds germinated, germination percentage and percentage over control calculated for different doses of gamma ray treatment in lentil variety, Idlib-3

Dose (Gy)	Number of seeds germinated	Germination percentage	Percentage over control
0	87	90.62	100 ^d
45	84	87.5	96.55 ^d
60	75	78.12	86.21 ^c
75	73	76.04	83.91 ^c
90	71	73.96	81.61 ^c
100	30	31.25	34.4 ^b
200	9	9.37	10.34 ^a
300	8	8.33	9.20 ^a
400	4	4.16	4.60 ^a

CV (%): 10.4

Means followed by same letter are not significantly different at 5% (Duncan Multiple range test)

(2009) in cowpea. Usually, the altered physiological balance caused by mutagenic treatments causes reduction in seed germination (Singh *et al.*, 2007).

Based on the germination percentage and probits, LD₅₀ of Idlib-3 was estimated. The LD₅₀ value was obtained at 104.34 Gy gamma ray treatment (R²=0.92). Sharma and Sharma (1986) reported that the LD₅₀ of *microsperma* lentil types usually vary from 135 to 186 Gy. In M₂ population, a significant reduction in survival of plants was observed at each growth stage. Even though only 95.88% seeds were germinated, 90.40% and 83.12% of seedlings survived at the stage of flowering and maturity respectively. It was further decreased to 37.29% and only a total of 1302 single plants (with seeds) were harvested at the end. These results indicate the

Table 2 : Mean performances of thirteen significantly superior mutants' families over parent, Idlib-3 identified by Dunnett's test for ten traits

Families	DF	DM	PH (cm)	HFP (cm)	NPB	NPP	TPP	NSP	SY (g)	HSW (g)
68	89.7	122.8**	27.59	9.79	3.19	1.34	66.17	1.06	2.24	2.76
70	87.97	123.5	30.5**	11.12	2.98	1.41	75.01	1.06	2.18	3.23
5	86.61	124.5	30.69**	10.14	2.70	1.24	97.72	1.10	4.83**	3.20
11	89.17	127	25.54	9.18	2.48	1.27	31.37	1.11**	2.14	2.6
84	89.92	124.5	26.68	10.03	2.52	1.45	50.46	1.11**	1.64	2.53
118	90.38	125.6	26.49	9.73	2.52	1.54	37.71	1.12**	1.196	2.29
90	87.09	123.3	29.34	9.83	3.10	1.72	112.52**	1.08	3.07**	2.83
33	88.74	126.5	24.01	9.28	2.25	0.97	18.53	1.007	0.62	3.78**
59	86.6	123	27.67	10.32	2.62	1.57	71.71	1.07	2.90**	3.02
75	89.66	126.7	27.79	10.29	2.25	1.35	40.44	1.06	2.91**	2.91
134	89.39	125.2	26.99	10.43	2.65	1.48	62.98	1.05	2.99**	2.89
133	90.01	125.6	26.9	10.26	2.82	1.52	58.27	1.07	3.84**	3.14
42	90.69	124.6	26.79	9.64	2.86	1.65	84.42	1.09	3.84**	3.04
Idlib-3	86.47	124.4	26.73	10.4	2.633	1.807	68.8	1.049	1.668	3.209
SD	1.505	1.368	1.797	0.505	0.283	0.215	25.85	0.0309	1.137	0.366
SE (±)	0.402	0.366	0.480	0.135	0.0757	0.057	6.908	0.0082	0.304	0.0979

** : significantly superior

Table 3 : Identification of twenty four “best” mutant families, based on seed yield by BLUPs

Families	DF	DM	PH (cm)	HFP (cm)	NPB	NPP	TPP	NSP	SY (g)	HSW (g)
5*	87.17	124.63	29.45	9.91	2.68	1.26	83.34	1.07	3.56	2.99
42*	90.29	124.74	26.68	9.67	2.76	1.52	72.62	1.06	2.73	2.89
90*	87.57	123.56	28.43	9.75	2.89	1.57	94.46	1.07	2.57	2.81
133*	89.77	125.54	26.76	9.94	2.73	1.43	53.20	1.05	2.47	2.90
59*	87.22	123.41	27.25	9.95	2.63	1.46	62.69	1.06	2.25	2.89
134*	89.31	125.23	26.82	10.02	2.65	1.42	57.01	1.04	2.15	2.82
80	89.32	123.55	26.73	10.14	2.67	1.52	62.29	1.03	2.03	2.98
92	88.44	124.26	27.66	10.03	2.66	1.49	55.61	1.03	2.00	2.87
82	88.09	123.99	26.60	10.53	2.77	1.33	53.06	1.04	1.92	2.91
68*	89.56	123.15	27.25	9.74	2.94	1.32	59.96	1.05	1.91	2.77
70*	88.21	123.75	29.32	10.39	2.83	1.38	66.48	1.08	1.90	3.04
123	88.52	124.58	28.50	9.85	2.69	1.39	58.20	1.06	1.84	2.86
75*	89.52	126.52	27.37	9.97	2.43	1.33	40.23	1.04	1.80	2.81
72	89.40	124.53	26.11	9.39	2.65	1.33	52.15	1.07	1.78	2.87
137	87.93	124.89	27.91	9.79	2.65	1.32	52.19	1.08	1.76	2.70
112	88.69	123.29	25.55	9.37	2.91	1.34	60.19	1.04	1.75	2.90
10	87.75	124.76	28.75	10.63	2.82	1.40	52.07	1.05	1.75	2.94
1	89.66	124.82	27.61	9.76	2.90	1.50	55.04	1.07	1.70	2.72
129	88.26	123.26	27.51	10.13	2.62	1.45	61.22	1.03	1.68	2.98
88	88.70	124.58	25.47	9.52	2.64	1.33	48.13	1.03	1.67	2.90
30	89.39	124.94	25.80	9.61	2.71	1.42	44.77	1.05	1.66	2.83
60	89.22	125.11	25.68	9.61	2.80	1.37	50.90	1.02	1.65	2.75
50	88.14	124.82	27.32	10.28	2.63	1.42	50.42	1.02	1.63	2.80
61	88.42	124.83	27.92	9.68	2.86	1.35	54.59	1.05	1.61	2.88
ldlib-3	87.05	124.52	26.66	10.04	2.64	1.64	62.31	1.04	1.57	3.07

*: kept the same ranking as superior families; In bold are higher values of predicted mean compared to the control

deleterious effect of mutations on survival of plants over different growth stages. Arisha *et al.* (2015) noticed similar reduction in survival of M_2 mutant plants at maturity stage in pepper.

The effectiveness of a given mutagen can be fully explicated through the frequency of induced mutations. Chlorophyll mutation frequency is a dependable index to evaluate the efficiency of mutagenic treatments, destined to generate a wide array of variability (Usharani and Kumar, 2015). In M_2 generation, different types of chlorophyll mutants such as xantha, viridis and chlorina were observed in the present study. The frequency of chlorophyll mutation was found to be 2.76% (116 mutants). Sharma and Sharma (1981) recorded 2.55% and 1.26% chlorophyll mutants in *macrosperma* and *microsperma* lentils at 100 Gy. Similarly, Paul and Singh (2002) reported 0.8% of chlorophyll mutants in *microsperma* lentils using 100 and 150 Gy. The frequency of chlorophyll mutation was observed as 1.21% and 2.42% in two varieties of soybean at 150 Gy (Khan and Tyagi, 2009). In cluster bean, Bhosle and Kothekar (2010) recorded 1.66%, 2.21% and 2.61% of chlorophyll mutations at 50, 100 and 150 Gy, respectively.

The viable mutants observed in the present study consisted of forty eight stunted growth mutants (1.14%), fifteen

dwarf mutants (0.35%), three mutants with four pods per peduncle (0.07%) and three mutants with abnormal leaves (0.07%). In previous studies, similar spectra of viable mutants were reported in M_2 population of chickpea (Kharkwal, 2000), cowpea (Girija and Dhanavel, 2009) and grasspea (Talukdar, 2009). Viable mutations are the result of gross chromosomal rearrangements caused by ionizing radiations and the application of different mutagens could alter the spectra of viable mutations (Ehrenberg *et al.*, 1961).

In the present study, the superiority of mutant families over parent was studied through “comparison with control” (Dunnett’s test). The total number of mutant families showing significant superiority over the parent varied from 1 to 7 for all traits. Only one family was found superior over the parent for days to maturity, total number of pods per plant and hundred seed weight; two families for plant height; three families for number of seeds per pod and seven families for seed yield. For other traits, no family was found superior over the parent. It appears that among the 140 evaluated mutant families; only 13 families (0.09%) demonstrated superiority over the parent for yield and yield components, phenological and morphological characters (Table 2). Ali *et al.* (2010) found mutant lines which had superiority over parent for flowering, yield, number of branches and hundred seed weight in lentil.

The Best Linear Unbiased Predictors (BLUPs) were more commonly utilized to increase the sugarcane breeding efficiency (Resende and Barbosa, 2006). It was found more effective method than routine phenotypic selection in walnut breeding (Aleta *et al.*, 2004). However, there were no similar evidences found for legumes and other crops. In most of the fruit breeding programs (Imai *et al.*, 2016), mutagenesis often accumulates highly unbalanced phenotypic records, which create serious obstacles for comparison and phenotypic selection. To overcome this obstacle, the best linear unbiased prediction (BLUP) method is widely recommended. In this study, the BLUP values were calculated for the set of ten economically important traits. A total of twenty four high yielding mutants were sorted out from the BLUP values. The range of BLUPs for seed yield varied from 1.61 to 3.56 g. The three best mutants families identified for seed yield also recorded high values for total number of pods per plant. Similarly, these high yielding families had demonstrated other desirable characters such as more plant height and early maturity. Nine families classified as best by Dunnett's test were also classified as the best ones by BLUP. It confirms again the superiority of mutants identified in the present study (Table 3).

The findings of the present study revealed some putative mutants of Idlib-3 at 100 Gy treatment in M₂ generation which can be used as either direct mutants or in the future crossing program. However, it is recommended to have more number of individuals in M₂ population to facilitate selection for seed yield, especially when LD₅₀ is effective.

Acknowledgments

We thank Mr. M. Baaliouamer from Commissariat à l'Energie Atomique (COMENA) and Mr. R. Yefsah from Centre de Recherche Nucléaire d'Alger (CRNA) of Algeria for their research support.

References

- Aleta, N., A. Ninot and J. Voltas: Retrospective evaluation of parental selection in nursery tests of *Juglans regia* L. using a mixed model analysis. *Silvae Genet.*, **53**, 26-33 (2004).
- Ali, J.F., M.A. Arain and N.A. Shaikh: Genetic manipulation of lentil through induced mutations. *Pak. J. Bot.*, **42**, 3449-3455 (2010).
- Amin, R., R.A. Laskar and S. Khan: Assessment of genetic response and character association for yield and yield components in lentil (*Lens culinaris* L.) population developed through chemical mutagenesis. *Cogent Food Agricul.*, **1**, 1-15 (2015).
- Arisha, M.H., S.N.M. Shah, Z.H. Gong, H. J., C. Li and H.X. Zhang: Ethyl methane sulfonate induced mutations in M₂ generation and physiological variations in M₁ generation of peppers (*Capsicum annum* L.). *Front. Plant Sci.*, **6**, 399-409 (2015).
- Arumuganathan, K. and E.D. Earle: Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.*, **9**, 208-218 (1991).
- Bhat, R.S, N.M. Upadhyaya, A. Chaudhury, C. Raghavan, F. Qiu, H. Wang, J. Wu, K. McNally, H. Leung and B. Till: Chemical and irradiation-induced mutants and Tilling. In: Rice Functional Genomics: Challenges, Progress and Prospects (Ed: N.M. Upadhyaya). Springer, New York, pp. 148-180 (2007).
- Bhosle, S.S. and V.S. Kothekar: Mutagenic efficiency and effectiveness in cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.). *J. Phytol.*, **2**, 21-27 (2010).
- Cubero, J.I.: Origin, taxonomy and domestication. In: Lentil (Eds.: C. Webb and G. Hawtin). C.A.B., London, UK., pp. 15-38 (1981).
- Ehrenberg, L., A. Gystafsson and U. Lundqvist: Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas*, **47**, 243-282 (1961).
- Food and Agriculture Organization (FAO): crops statistics. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, (2014).
- Fratini, R.M., M. Pérez de la Vega and M.L. Ruiz Sanchez: Lentil. In: Broadening the genetic base of grain legumes (Eds.: M. Singh, I.S. Bisht and M. Dutta). Springer, New Delhi, pp. 115-147 (2014).
- Girija, M. and D. Dhanavel: Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, ethyl methane sulphonate and their combined treatments in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Global J. Mol. Sci.*, **4**, 68-75 (2009).
- Gupta, D., R. Ford and P.W.J. Taylor: Lens. In: Wild crop relative: Genomic and Breeding Resources, Legume Crops and Forage (Ed.: C. Kole). Springer, Berlin and Heidelberg, pp. 127-139 (2011).
- Heinrichs, E.A., S. Chelliah, S.L. Valencia, M.B. Arceo, L.T. Fabellar, G.B. Aquino and S. Pickin: Manual for testing insecticides on rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines (1981).
- Imai, A., T. Kuniga, T. Yoshioka, K. Nonaka, N. Mitani, H. Fukamachi, N. Hiehata, M. Yamamoto and T. Hayashi: Evaluation of the best linear unbiased prediction method for breeding values of fruit-quality traits in citrus. *Tree Genet. Genom.*, **12**, 119-129 (2016).
- Kangarasu, S., S. Ganeshram and A. J. Joel: Determination of lethal dose for gamma rays and ethyl methane sulphonate induced mutagenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). *Int. J. Sci. Res.*, **3**, 3-6 (2014).
- Karthika, R. and B. Subba lakshmi: Effect of gamma rays and EMS on two varieties of soybean. *Asian J. Plant Sci.*, **5**, 721-724 (2006).
- Khan, M.H. and S.D. Tyagi: Studies on induction of chlorophyll mutations in soybean, (*Glycine max* L. Merrill). *Front. Agric. China*, **3**, 253-258 (2009).
- Kharkwal, M.C.: Induced mutations in chickpea (*Cicer arietinum* L.) IV. Types of macromutations induced. *Indian J. Genet. Plant Breed.*, **60**, 305-320 (2000).
- Paul, A. and D.P. Singh: Induced chlorophyll mutations in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Indian J. Genet. Plant Breed.*, **6**, 263-264 (2002).
- Rana, A. and I.S. Solanki: Ethyl methane sulphonate induced genetic variability and heritability in macrosperma and microsperma lentils. *J. Environ. Biol.*, **36**, 1119-1123 (2015).
- Resende, M.D.V.D. and M.H.P. Barbosa: Selection via simulated individual BLUP based on family genotypic effects in sugarcane. *Pesq. Agropec. Bras.*, **41**, 421-429 (2006).
- Riah, N., G. Bénab, A. Djekoun, K. Heulin, P. de Lajudie and G. Laguerre: Genotypic and symbiotic diversity of *Rhizobium* populations associated with cultivated lentil and pea in sub-humid and semi-arid regions of Eastern Algeria. *System. Applied Microbiol.*, **37**, 368-375 (2014).
- Sharma, S.K. and B. Sharma: Induced chlorophyll mutations in lentil. *Indian J. Genet. Plant Breed.*, **41**, 328-333 (1981).
- Sharma, S.K. and B. Sharma: Mutagen sensitivity and mutability in lentil. *Theoret. Appl. Genet.*, **71**, 820-825 (1986).
- Singh, M., S. Sardana and S.K. Sharma: Genetic resources of lentil and its utilization in India. *Plant Genet. Res.*, **9**, 30-37 (2011).
- Singh, S.P., R.P. Singh, N.K. Singh, J.P. Prasad and J.P. Shahi: Mutagenic efficiency of gamma-rays, ethyl methane sulphonate

- and its combination on microsperma lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Int. J. Agr. Sci.*, **3**, 113-118 (2007).
- Sneep, J.: Selection for yield in early generations of self-fertilizing crops. *Euphytica*, **26**, 27-30 (1977).
- Solanki, I.S. and B. Sharma: Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, ethylene imine and N-nitroso-N-ethyl urea in macrosperma lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Indian J. Genet.*, **54**, 72-76 (1994).
- Solanki, I.S. and B. Sharma : Early generation selection of polygenic mutations in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Indian J. Genet.*, **61**, 330-334 (2001).
- Solanki, I.S. and B. Sharma : Induced polygenic variability in different groups of mutagenic damage in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Indian J. Genet.*, **62**, 135-139 (2002).
- Stefaniak, T.R. and K.E. McPhee: Lentil. In : Grain Legumes (Ed.: A.M. De Ron). Springer, New York, USA, pp. 111-140 (2015).
- Talukdar, D.: Dwarf mutations in grass pea (*Lathyrus sativus* L.): Origin, morphology, inheritance and linkage studies. *J. Genet.*, **88**, 165-175 (2009).
- Toker, C., S.S. Yadav and I.S. Solanki: Mutation breeding. In: Lentil: An Ancient Crop for Modern Times (Eds.: S.S. Yadav, D.L McNeil and P.C. Stevenson). Springer, Netherlands, pp. 209-224 (2007).
- Tomlekova, N.B.: Induced mutagenesis for crop improvement in Bulgaria. *Plant Mut. Rep.*, **2**, 4-27 (2010).
- Usharani, K.S. and C.A. Kumar: Mutagenic effects of gamma rays and EMS on frequency and spectrum of chlorophyll mutations in urdbean (*Vigna mungo* (L.) Hepper). *Indian J. Sci. Technol.*, **8**, 927-933 (2015).

Online Copy

Résumé

En Algérie, la lentille est une légumineuse largement consommée. Sa production est très faible par rapport aux besoins nationaux. Ceci est dû aux plusieurs paramètres tels que la réduction des superficies, les conditions climatiques et les variétés cultivées. Une très faible diversité existe dans cette espèce. Des programmes de sélection de nouvelles variétés ont été lancés par l'ITGC en collaboration avec l'ICARDA. La mutagenèse induite est une méthode très utilisée pour créer une nouvelle variabilité chez la lentille. Les rayons gamma sont les plus utilisés chez la lentille.

La première étape dans un programme de sélection par radio-mutagenèse est la détermination de la dose létale, c'est pour éviter un taux de mortalité trop élevés, c'est la dose à laquelle 50% des individus meurent. Notre étude porte en premier lieu sur la détermination de la dose létale d'irradiation (DL_{50}) et en deuxième lieu sur l'étude de la variabilité induite et sélection de mutants à intérêt agronomique dans la deuxième génération (M_2). La dose de 100 Gy a été utilisée pour créer de la variabilité sur la variété Idlib-3.

Les résultats obtenus à la M_2 montrent qu'il y a une différence très hautement significative entre les familles. Une large variabilité a été enregistrée par plusieurs variables. Cette variabilité pourrait être exploitée pour développer de nouveaux génotypes.

Une h^2 élevée associée avec une valeur élevée de GA sont enregistrées pour le rendement en grain et le poids de 100 grains. Ces deux derniers aussi présentent une valeur élevée de CVG, ce qui indique l'effet de l'additivité des gènes.

Quant aux corrélations et l'analyse en « path », les résultats montrent que le rendement en grains est positivement corrélé avec la hauteur de la tige, la hauteur de la première gousse, le nombre de rameaux primaires, le nombre de gousses/pédoncule, le nombre total de gousses/plant, le nombre de graines/gousse et le poids de 100 grains. L'effet direct du nombre total de gousses/plant est le plus élevé. Ceci confirmerait l'intérêt du nombre total de gousses/plant dans l'amélioration du rendement en grains chez la lentille.

Les résultats du test de comparaisons multiples (test Dunnett) ont montré un total 13 familles supérieures par rapport au témoin. Pour les BLUPs, ils ont fait ressortir 24 familles qui sont meilleures que le témoin non irradié pour le rendement en grains. Neuf familles classées supérieures par test de Dunnett sont aussi classées comme meilleures par les BLUPs.

L'induction de mutation par la dose de 100 Gy a permis de créer une variabilité significative pour les caractères étudiés. Les résultats de la présente étude ont fait ressortir quelques mutants putatifs qui pourraient être utilisés dans un futur programme d'amélioration. Cependant, il est préférable d'augmenter le nombre d'individus à étudier en M₂ surtout si la DL₅₀ est efficace et de poursuivre la sélection jusqu'au M₃ et M₄.

Les mutants identifiés dans la présente étude pourraient faire l'objet d'un screening moléculaire en utilisant le TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes).

Mots clés : Dose létale, lentille (*Lens culinaris* Medik), mutants, radio-mutagenèse, rayons gamma, sélection

Summary

In Algeria, the lentil is a widely consumed. Its production is very low compared to national needs. This is due to several parameters such as the reduction of areas, climatic conditions and cultivated varieties. Narrow genetic base is a characteristic of this legume. New breeding programs were launched by ITGC in collaboration with ICARDA in order to create new varieties suitable for Algerian conditions.

Induced mutagenesis is widely used to create new variability in the lentil. Gamma rays are the most used mutagen.

To avoid an excessively high mortality rate, the first step in a radio-mutagenesis screening program is the determination of the lethal dose, it is the dose at which 50% of individuals die. Our study focused first on the determination of the lethal dose of irradiation (LD_{50}) and secondly the study of the induced variability and selection of mutants with agronomic interest in the second generation (M_2). The dose of 100 Gy was used to create variability on the Idlib-3 variety.

The results obtained in M_2 showed a very high significant difference between families. A wide variability was recorded by traits studied. This variability could be exploited to develop new genotypes.

High h^2 associated with a high GA value is recorded for seed yield and hundred-seed weight.

For correlations and the path analysis, the results showed that the seed yield is positively correlated with plant height, the height of the first pod, the number of primary branches, the number of pods/peduncle, the total number of pods / plant, the number of seeds / pods and the hundred-seed weight. The direct effect of the total number of pods / plant is the highest. This would confirm the value of the total number of pods / plant in improving seed yield in lentil.

The results of the multiple comparison test (Dunnett test) showed a total of 13 higher families compared to the control. For BLUPs, they showed 24 families that are better than the control for seed yield. Nine families ranked superior by Dunnett test are also rated as best by the BLUPs.

The induction of mutation by the dose of 100 Gy allowed creating a significant variability for the traits studied. The results of this study revealed some putative mutants that could be used in a future breeding program. However, it is preferable to increase the number

of individuals to study the variability especially when the LD₅₀ is effective and also to continue the selection until M₃ and M₄.

The TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes) could be used to screen the mutants identified in this study

Key words: gamma rays, Lethal dose, lentil (*Lens culinaris* Medik), mutants, radio-mutagenesis, selection

ملخص

يعتبر العدس من البقوليات الأكثر استهلاكاً في الجزائر، إنتاج العدس ضعيف جداً مقارنة مع الاحتياجات الوطنية و يرجع ذلك إلى عدة عوامل أهمها ضعف المساحات المسخرة للعدس و المناخ والأصناف المزروعة و هناك تنوع قليل جداً في أصناف العدس.

عدة برامج من أجل تحسين العدس أطلقت من طرف المعهد التقني للمحاصيل الكبرى بالتعاون مع المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة. و تحسين العدس عن طريق إحداث طفرات و باستخدام أشعة غاما تعتبر أهم الطرق.

المرحلة الأولى في أي برنامج تحسين النبات عن طريق إحداث الطفرات هي تحديد الجرعة المميّنة و هي الجرعة التي من خلالها 50% من الأفراد تموت. و تركز دراستنا ه ذه أولاً على تحديد الجرعة المميّنة من التشعيع غاما وثانياً على دراسة التقلبات والطفرات الناجمة على الإشعاع واختيار الطفرات التي لها مواصفات ذات أهمية زراعية في الجيل الثاني. ومن أجل ذلك، استخدمنا الجرعة Gy 100 على الفصيلة Idlib-3.

النتائج المحصول عليها في الجيل الثاني (M2) تظهر أن هناك فرق كبير بين أسر الطفرات. وسجلت تغيرات عديدة مقارنة بالشاهد غير المشع، ويمكن استغلال هذه التغيرات لتطوير أنماط وراثية جديدة.

تم تسجيل وراثية عالية (h²) بالنسبة لمحصول الحبوب ووزن 100 حبة. أما بالنسبة للارتباط و التحليل بالمسار، فقد بينت النتائج أن محصول الحبوب يرتبط إيجاباً مع طول الساق وارتفاع القرن الأول و عدد الفروع الأولية و عدد القرون/الساق و العدد الكلي للقرون/النبات و عدد البذور/القرن ووزن 100 حبة.

التأثير المباشر للعدد الكلي للقرون/النبات هو الأعلى، و هذا من شأنه أن يؤكد قيمة هذه الخاصية في تحسين محصول حبوب العدس.

و أظهرت نتائج اختيار المقارنة المتعددة (DUNNET) ظهور 13 عائلة مميزة بأعلى معدلات بالمقارنة مع الشاهد.

أما بالنسبة لاختبار BLUPs، تم إظهار 24 عائلة هي الأفضل في ما يخص محصول الحبوب. كما تم تصنيف 9 عائلات كأحسنها من طرف DUNNET و BLUPs.

إن تحريض الطفرة بجرعة Gy100 جعلت من الممكن خلق مميزات جديدة مقارنة بالشاهد Idlib-3.

كما كشفت النتائج عن بعض الطفرات الافتراضية التي يمكن استخدامها في برامج مستقبلية لتحسين العدس.

ومع ذلك فإنه من الأفضل زيادة عدد الأفراد في الدراسة في الجيل الثاني (M2) و خاصة إذا كانت الجرعة فعالة و مواصلة الاختيار إلى الـ الجيل الثالث أو الرابع.

الطفرات التي تم تحديدها في هذه الدراسة يمكن فحصها باستخدام TILLING.

الكلمات الدالة: الجرعة المميّنة، العدس (*Lens culinaris Medik*)، الطفرات، أشعة غاما، الاختيار