

ÉTUDE COMPARATIVE DE LA CARYO-MORPHOLOGIE CHEZ SIX GÉNOTYPES DU *LENS CULINARIS* MEDIK

Dounia Hammouda, Dr.

Nadra Khalfallah, Pr.

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales.
Département de Biologie Ecologie Végétale. Faculté des Sciences.
Université Constantine1, Ain El bay, Algérie

Abstract

Ce travail entre dans le cadre d'une étude cytogénétique de la lentille (*Lens culinaris* Medik, $2n=2x=14$). Nous nous sommes intéressées à l'analyse caryo-morphologique des chromosomes de six génotypes (Idlep1, Flip 90-31, Idlep3, Metropole, Syrie 229 et Dahra), dévoilé par la technique de coloration classique, et la comparaison des caryotypes étudiés. Les caryogrammes comparés aux idiogrammes montrent une variation importante dans la taille des chromosomes, la localisation et le nombre de satellites. La plus grande taille de chromosome est observée chez le génotype Idlep1 (7,44 μ m) et la plus petite taille de chromosome est détectée chez le génotype Dahra (1,59 μ m). Les génotypes Idlep3, Flip 90-31 et Metropole présentent une paire de satellites localisée sur le chromosome 4, alors que, le génotype Syrie229 révèle deux paires de satellites localisés sur les chromosomes 4 et 6. Par opposition, les génotypes Idlep1 et Dahra en sont dépourvus. Tous les caryotypes sont constitués de quatre paires chromosomiques de type métacentriques et trois paires submétacentriques à l'exception celui du génotype Metropole qui se singularise par la présence de cinq paires métacentriques et deux paires sumétacentriques. Les caryotypes sont symétriques (60,51 %, 63 ,11%, 62,30%, 60 ,13%, 61,45%, 64,32 %), et ceci signifie qu'ils sont primitifs. Nos résultats révèlent, aussi, l'existence de chromosomes B en nombre de 1 à 2 chez tous les génotypes sauf Metropole. Nos génotypes sont introduits mais sélectionnés et cultivés en Algérie, dans des conditions climatiques arides. La présence des chromosomes B dans ce cas-là pourrait s'expliquer comme une manifestation de leur adaptation.

Keywords: Caryotype, chromosome B, *Lens culinaris* Medik, satellite

Introduction

L'espèce *Lens culinaris* Medik ($2n=2x=14$) est une légumineuse de domaine traditionnel en Asie à l'ouest, l'Ethiopie et l'Afrique du Nord (Alghamdi et al. 2014 ; Brink and Belay 2006 ; Staginnus et al. 1999). Cette légumineuse a également, été introduite au sud et Amérique du Nord. La lentille fait partie de l'alimentation humaine, la paille peut également être utilisée comme aliment de qualité supérieure pour le bétail ou en tant que source de matières organiques pour l'amélioration des sols (Saskatchewan Pulse Growers 2000). on estime que la consommation mondiale de lentilles a augmenté d'environ 3% par année. (Saskatchewan 2000). Cette espèce est classée en deux sous espèces selon la taille de la graine : s.s.p *macrosperma* est prédominant principalement en Afrique du Nord, en Europe et en Amérique (diamètre supérieur à 6 mm), tandis que Le s.sp *microsperma* (diamètre inférieur à 6 mm) domine en Asie, en Egypte, et en Ethiopie (Brink et Belay, 2006).

En Algérie, beaucoup de variétés de lentilles cultivées ont disparu. De nos jours la lentille cultivée est soit locale de mélanges variables ou d'origine européenne. Plusieurs variétés ont été introduites, et plusieurs nouvelles d'entre elles ont été sélectionnées en fonction de leur capacité d'adaptation aux différentes conditions agroclimatiques rencontrées dans le pays (FAO 2006).

De nombreux travaux cytogénétiques sont réalisés sur le nombre de chromosomes, les caryotypes et les idiogrammes du *Lens culinaris* (Ladizinsky 1979; Mehra et al. 1986; Ahmad et al. 1992; Ramesh and Salimuddin 1992; Kumar and Gupta 1997; Kumar et al. 2001, Galasso et al. 2001).

Ce travail entre dans le cadre d'une étude cytogénétique de la lentille cultivée. Nous nous sommes intéressés à l'étude comparative caryomorphologique de six génotypes appartenant à l'espèce *Lens culinaris* Medik ($2n=2x=14$), dévoilée par la technique de coloration classique. Il s'agit de mettre en évidence :

- Identification des chromosomes de chaque variété.
- Etablissement et Caractérisation des différents caryotypes.
- Analyse comparative entre les chromosomes des variétés étudiées.

Materiel et methode

Le materiel d'étude est constitué de six génotypes du *Lens culinaris* Medik ($2x=2n=14$). Les origines et les caractéristiques des génotypes (variétés et populations) sont représentés dans le tableau 1. Nous avons choisis deux sous espèces *microsperma* et *macrosperma* comme modèle experimental (fig1).



Figure1. Les graines des génotypes étudiées.

Tableau1. Liste des variétés introduites dans l'étude cytogénétique.

espèce	Génotypes	Nombre de chromosomes	G	origine	source	Caractéristiques
<i>Lens culinaris</i> Medik	Idlep 1	2n=2x=14	F5	ICARDA	ITGC (Sétif)	- Bon rendement
	Flip 90-31		F6	ICARDA	I.T.G.C El Khroub	-Excellent rendement -Bonne qualité culinaire.
	Idlep 3		F6	ICARDA	ITGC (Sétif)	- Bon rendement
	Metropole		F5	Isolé en 1942, France	France	- Demi-Précoce - Vigoureuse -Très bonne qualité culinaire
	Syrie 229		F5	Introduite de Syrie.	I.T.G.C El Khroub	- Précocité - Vigoureuse - Très bonne qualité culinaire
	Dahra		F5	Sélection locale (Tiert)	ITGC (Sétif)	- adaptation aux conditions climatiques défavorables.

G: generation;

I.T.G.C: institute de techniques des grandes cultures.

I.C.A.R.D.A: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas

Technique de coloration

Nous avons appliqué la méthode de Galasso et al. 2001. Nous avons par conséquent, suivi leurs recommandations, avec quelques modifications introduites dans les étapes prétraitement et hydrolyse

Les graines du *Lens culinaris* sont scarifiées et ensemencées après la désinfection, puis mises à germer dans des boîtes de pétri à température ambiante. Les graines sont prétraitées à la 8-hydroxyquinoléine pendant 3h15mn, puis fixées dans la solution (3V-1V) et conservées dans la solution 'éthanol à 70%. Les pointes racinaires sont soumises aux étapes suivantes :

- Hydrolyse à l'acide chlorhydrique l'HCL1 1N à 60°C.
- Coloration dans la solution du réactif de Schiff pendant 20 minutes à l'obscurité.
- Ecrasement entre lame et lamelle dans une goutte de l'océto orceine.
- Observation et la prise des photos de meilleures plaques métaphasiques s'effectuent sous l'objectif 63 d'un photomicroscope de type Leica DM 4000.

Analyses caryologiques : Les données morpho-métriques, concernant les garnitures chromosomiques des génotypes étudiés sont effectuées selon les formules établies par Levan et al. (1964). Ces données sont décrites comme suivant : la longueur totale des chromosomes (LT), la taille relative des chromosomes (LR), et le rapport de la plus longue paire chromosomique et celle de la plus courte (R) qui donnent une idée sur la forme du caryotype. L'indice d'asymétrie de caryotype (I.a.s) selon Arno et Saito (1980) et Cerbahlm (1997).

Les idiogrammes sont établis à partir de la valeur moyenne des longueurs totales de chaque chromosome pour cinq plaques métaphasiques (répétitions). Les analyses statistiques sont réalisées par X-stat 2014.

Résultats

Nous avons pu identifier les chromosomes mitotiques de six génotypes (lignées F5 et variétés F6) (Idlep 3, Flip 90-31, Idlep 1, Metropole, Syrie 229 et Dahra) (fig 2, plaques métaphasiques).

Rappelons que, les variations dans la forme des chromosomes (plaques métaphasiques) sont dû au fait que le degré de spiralisation ou de condensation n'est pas le même pour les chromosomes métaphasiques (fig 2).

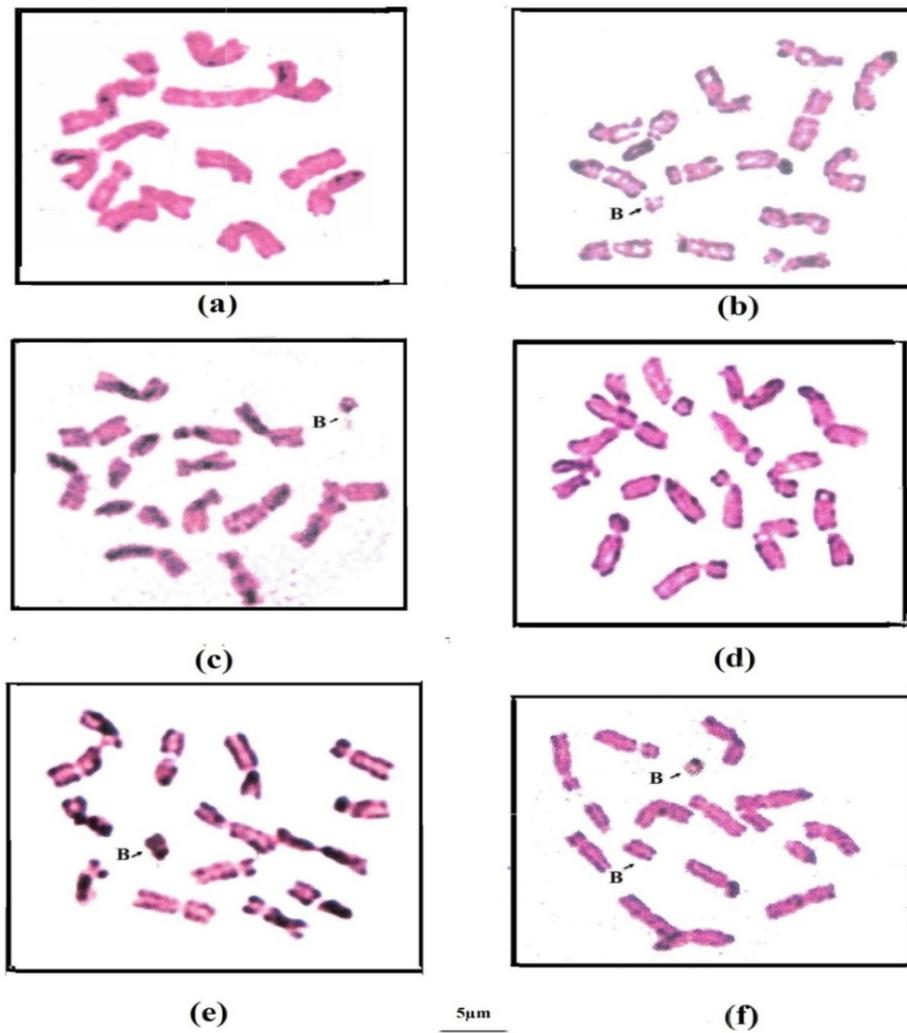


Figure 2. plaques métaphasiques du *Lens culinaris* : (a) Idlep 1, (b) Flip 90-31, (c) Idlep 3, (d) Metropole, (e) Syrie et (f) Dahra. Les chromosomes B sont indiqués par des flèches noires.

Tous les caryotypes, constituent, chacun, un génome qui regroupe 7 paires chromosomiques. Donc le nombre total des paires chromosomiques est de 7 (fig 3A, fig 3B).

Les caryogrammes des génotypes (Idlep 1, Flip90-31, Idlep3, Syrie et Dahra) sont caractérisés par la présence de 7 paires chromosomique, dont quatre paires sont métacentriques et trois paires sub-métacentriques (en absence des acrocentriques et les télocentriques), à l'exception celui du génotype Metropole qui se différencie par la présence de cinq paires métacentriques et deux paires sub-métacentriques (fig 3A).

Notons que, les calculs de l'indice centromérique (I.C) et le rapport des bras longs sur les bras courts (r) (tableau 2) nous ont permis de déterminer les chromosomes homologues et de classer les différents types chromosomiques.

-La plus longue paire chromosomique (LT) est de 7,44 observée chez le génotype Idlep 1 et la plus petite paire est de 1.59 μ m détectée chez le génotype Dahra.

--La longueur totale relative (LR) est comprise entre 18.42 μ m et 5.59 μ m.

L'indice centromérique varie entre 34,05% et 43,52 %.

--Le rapport entre la paire la plus longue et celle la plus courte est compris entre 1,38 et 3,38 (Tableau 2).

Nous avons pu mettre en évidence une paire de satellites localisée sur le chromosome 4 des génotypes Flip90-31 (proche au centromère du bras long), Idlep3 et Metropole (bras court). Deux paires de satellites sont situées sur les chromosomes 4 et 6 (bras court) du génotype Syrie 229(fig3A, fig3B). Alors que, les paires de chromosomes des génotypes Idlep1 et Dahra en sont dépourvus (fig3A, fig3B).

Egalement des chromosomes surnuméraires B sont détectés chez tous les génotypes à l'exception du Metropole (fig1).

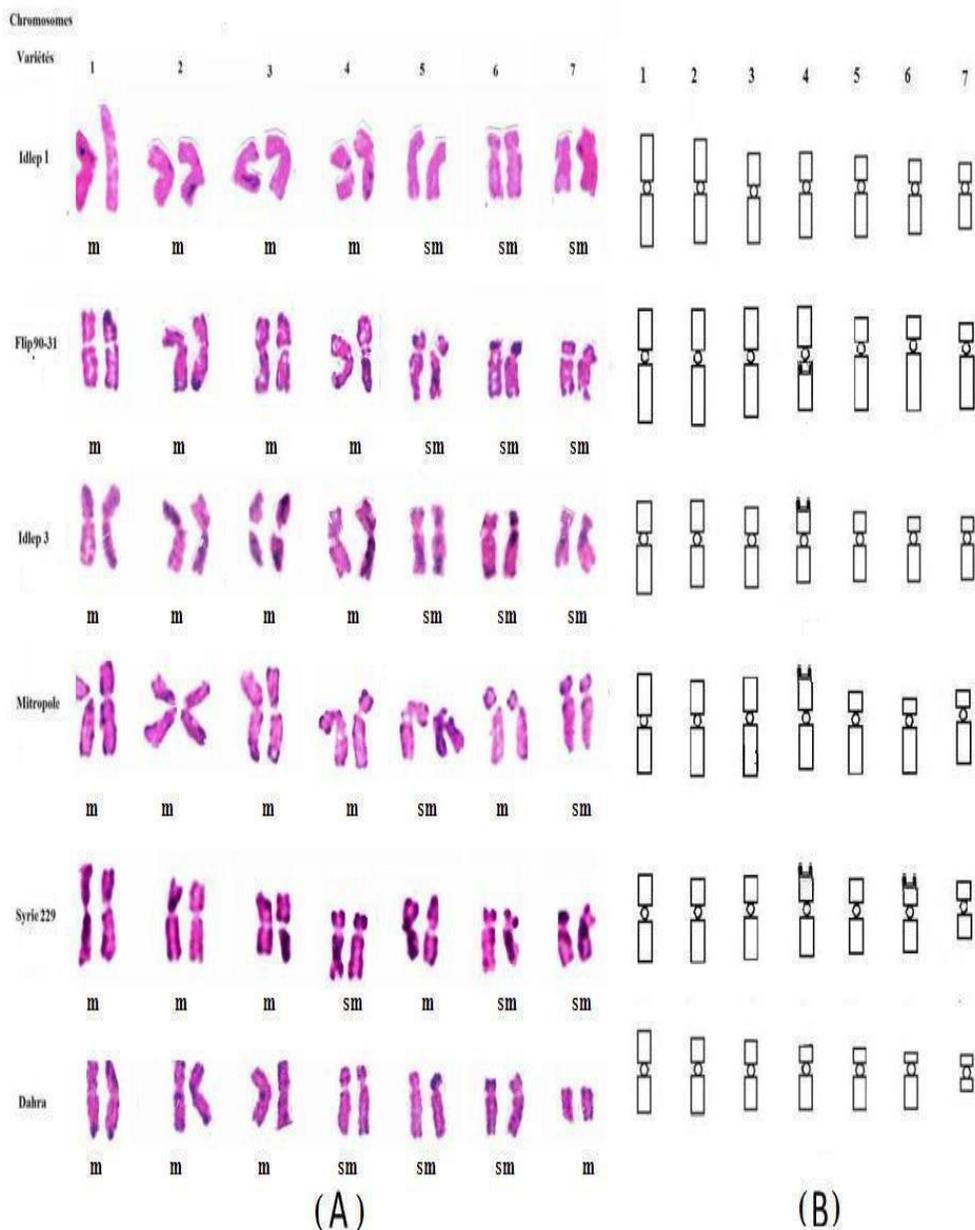


Figure 3. (A) Caryogrammes de six variétés du *Lens culinaris*: chromosomes métacentriques (m) et submétacentriques (sm). (B) Idiogrammes: une paire de satellite (représentés par deux points noirs) sur le chromosome 4 des génotypes Flip 90-31, Idlep 3 et Metropole. Deux paires de satellites sur les chromosomes 4 et 6 du génotype Syrie. Absence de satellites chez les chromosomes des génotypes Idlep1 et Dahra.

Tableau2. Les caractères caryomorphologiques de sept paires chromosomiques mitotiques chez six génotypes du *Lens culinaris*.

Chr	Cc	Génotypes de la lentille					
		Idlep1	Flip 90-31	Idlep3	Metropole	Syrie229	Dahra
1	LT	7.44±0.55	6,96±0,28	6.20±0.89	6,06 ±0,09	5,11 ±0,07	5.39±0.65
	LR	18.42±0.33	15,39±0,16	18.19±1.04	15,47±0,08	15,56±0,007	19.43±0.65
	L	4.11±0.11	4,27±0,19	3.79±0.55	3,49±0,31	2,88± 0,15	3.09±0.53
	S	3.26±0.16	2,91±0,22	2.41±0.34	2,57±0,23	2,22± 0,22	2.30±0.4
	L/S	1.26±0.02	1,46±0,01	1.62±0.02	1,35±0,08	1,29±0,16	1.34±0.15
2	LT	6.76±0.74	6,94±0,28	5.59±0.93	5,81±0,21	4,85 ±0,13	5.01±0.41
	LR	17.10±0.36	15,22±0,02	16.31±0.39	15,23±0,06	15,29 ±0,09	18.07±0.25
	L	3.89±0.62	4,14±0,14	3.19±0.21	3,31±0,14	3,02 ±0,14	3.06±0.29
	S	2.97±0.61	2,79±0,23	2.46±0.56	2,49±0,21	1,83 ±0,19	1.95±0.15
	L/S	1.30±0.18	1,48±0,04	1.30±0.06	1,32±0,04	1,65 ±0,08	1.57±0.03
3	LT	6.23±0.39	6,66±0,29	5.24±0.88	5,53 ±0,15	4,69 ±0,2	4.42±0.13
	LR	15.79±0.34	15.0 ±0,02	15.27±0.32	14,98	14,11 ± 0,18	15.93±0.15
	L	3.46±0.79	3,71±0,12	3.18±0.64	±0,04	3,06 ±0,25	2.72±0.24
	S	2.77±0.63	2,94±0,16	2.05±0.24	3,29 ±0,07	1,83 ±0,19	1.83±0.14
	L/S	1.24±0.18	1,26±0,06	1.61±0.17	2,27 ±0,22	1,67 ±0,08	1.48±0.07
4*	LT	5.59±0.63	6,30±0,18	4.84±0.77	5,39±0,10	4,44 ±0,04	4.08 ±0.42
	LR	14.17±0.47	14,74±0,16	14.11±0.25	15,80±,11	14,82 ±0,08	14.71±0.34
	L	3.46±0.43	3,45±0,04	2.83±0.12	2,99±0,14	2,81 ±0,12	2.72± 0.19
	S	2.13±0.19	2,84±0,15	2.01±0.70	2,33±0,10	1,63 ±0,12	1.83±0.14
	L/S	1.62±0.01	1,21±0,01	1.47±0.14	1,28±0,03	1,72 ±0,06	1.35± 0.24
5	LT	5.25±0.08	5,61±0,22	4.58±0.36	5,29 0,24	4,29 ±0,11	3.84± 0.28
	LR	13.3±0.32	14,22±0,14	13.35±0.36	4,41±0,07	14,67 ±0,14	13.85±0.18
	L	3.38±0.35	3,86±0,08	2.98±0.72	3,40±0,16	2,58 ±0,21	2.85± 0.58
	S	1.86±0.30	1,74±0,31	1.60±0.17	1,49±0,11	1,70 ±0,24	1.1± 0.06
	L/S	1.81±0.20	2,21±0,13	1.86±0.10	2,28±0,07	1,51 ± 0,11	2.59± 0.22
6*	LT	4.56±0.9	5,7 ±0,24	4.09±0.69	4,41±0,28	3,67 ±0,2	3.39± 0.15
	LR	11.53±0.57	14,29±0,09	11.94±0.64	3,96±0,12	4,00 ±0,18	12.21 ±0.3
	L	3.05±0.71	4,09±0,05	2.87±0.59	2,60±0,23	2,42 ±0,29	2.51± 0.07
	S	1.5±0.46	1,62±0,18	1.22±0.39	1,80±0,40	1,25 ±0,17	0.87± 0.08
	L/S	2.03±0.23	2,52±0,07	2.38±0.28	1,44±0,17	1,93 ±0,14	2.88± 0.06
7	LT	3.81±0.92	5,02±0,26	3.71±0.32	4,21± 0,22	3,47± 0,3	1.59± 0.51
	LR	9.64±0.56	3,75±0,09	10.84±0.53	13,79±0,09	13,4 ±0,29	5.75± 0.65
	L	2.64±0.55	3,74±0,21	2.50±0.44	2,99±0,21	2,19 ±0,16	0.88± 0.25
	S	1.16±0.58	1,27±0,04	1.20±0.12	1,22±0,02	1,28±0,14	0.71± 0.28
	L/S	2.27±0.32	2,94±0,01	2.08±0.19	2,45±0,04	1,71 ±0,01	1.23± 0.08
I.a.s.		60,51 %	63 ,11%	62,30%	60 ,13%	61,45%	64,32 %
R		1,95	1,38	1,67	1,43	2 ,44	3,38

Chr : chromosomes. Cc : caractères caryo-morphologiques.

I.a.s. : indice d'asymétrie.

R : rapport entre le bras le plus long et le bras le plus court.

* : présence de satellites

Discussion

Les caryogrammes comparés aux idiogrammes montrent des variations importantes dans la taille des chromosomes, la localisation et le nombre de satellites (fig3A, fig3B, tableau2) :

-La plus grande taille de chromosome est observée chez le génotype Idlep1 (7,44 μ m) et la plus petite taille de chromosome est détectée chez le génotype Dahra (1,59 μ m). Les caryogrammes montrent quatre paires métacentriques et trois paires submétacentriques pour tous les génotypes à l'exception celui du Metropole qui se caractérise par la présence de cinq paires métacentriques et deux paires su métacentriques (fig 3A).

-Les génotypes Idlep3, Metropole et Flip 90-31 présentent une paire de satellites localisée sur le chromosome 4 (bras court ou proche au centromère). Alors que, le génotype Syrie229 révèle deux paires de satellites situées sur les chromosomes 4 et 6 (bras courts).Par opposition, les génotypes Idlep1 et Dahra en sont dépourvus.

Les résultats obtenus l'ors de l'étude des six génotypes de la lentille cultivée, en confrontation à ceux d'autres auteurs (Galasso et al. 2001, Gaffarzadeh et al. 2007) sont conformes pour les types chromosomiques, mais avec quelques différences dans la localisation et le nombre de satellites. D'après Galasso et al. 2001, Gaffarzadeh et al. 2007, chez la lentille cultivée, quatre paires chromosomiques de types métacentriques et trois submétacentriques sont détectées, ce qui est notre cas, sauf Metropole (fig 3, Tableau 2). Par contre, la localisation et le nombre de satellites observés sont différents. Ces auteurs ont pu mettre en évidence une paire de satellites sur le chromosome 4 (bras long proche au centromère).Dans notre cas, la présence de deux satellites situés sur les chromosomes 4 et 6 (bras courts) du génotype Syrie229, une autre paire de satellites dans le chromosome 4 des génotypes Idlep3, Métropole (bras court) et Flip19-31 (proche au centromère).

D'autres travaux cytogénétiques (Abbo et al. 1994 ; Kummar et al. 1997,2001 ; Galasso et al. 2001), ont confirmé l'existence d'une région organisatrice nucléolaire (N.O.R) sur le chromosome 4 par hybridation *in situ*, en utilisant la sonde (pTa71). Rappelons que, les satellites sont associés aux régions organisatrices nucléolaires (N.O.R) qui codent pour les gènes ribosomiques (Appels 1982 ; Schlllegel and Gill 1984 ; Gill et al. 1991, Hammouda and Khalfallah 2008).

Par ailleurs, d'autres auteurs (Shafique et al. 1994), ont signalé l'absence de satellites chez le caryotype du *Lens culinaris* Medik.

L'hypothèse qu'un caryotype symétrique est considéré comme un caryotype primitif, en comparaison à un caryotype asymétrique, d'abord formulée par Stebbins (1971) est celle généralement admise dans la littérature concernant l'évolution de la morphologie des chromosomes chez

les plantes. Les caryotypes des géotypes étudiés sont symétriques tant pour la forme que pour la taille des chromosomes. L'indice d'asymétrie ayant sensiblement les mêmes valeurs (Tableau 2). Ceci est conforme avec les travaux des auteurs cités-ci dessus.

Siljak-Yakovlev (1986) estime que plus les caryotypes sont symétriques, plus ils sont primitifs. Dans ce sens, nous pouvons dire que, le caryotype du *Lens culinaris* est considéré comme primitif.

Nos résultats révèlent, aussi, la présence des chromosomes B, détectés chez tous les géotypes (sauf Metropole), en nombre de 1 à 2 alors qu'ils sont absents dans les travaux de références cités ci-dessus.

D'après la littérature, la présence des chromosomes B (Stebinn 1971 ; Khalfallah 1990 ; Amirouche 2007, Hammouda et Khalfallah 2008 ; Houben et al. 2011, Hammouda 2013) jouent un rôle important dans l'adaptation du végétal aux conditions difficiles du milieu.

Ostashevsky (1996) montre que, l'addition des chromosomes "B" peut améliorer les régions organisatrices nucléolaires (N.O.R) du végétal.

Nos géotypes (variétés et populations) sont introduits mais sélectionnés et cultivés en Algérie à l'exception du géotype Dahra qui est locale, et celui-ci présente un nombre élevé de chromosomes B par rapport aux autres. La présence des chromosomes B dans ce cas-là pourrait s'expliquer comme une manifestation de leur adaptation aux conditions climatiques défavorables et particulièrement Dahra.

Conclusion

Le travail que nous avons entrepris a permis d'élargir nos connaissances sur les aspects caryo-morphologiques de l'espèce légumineuse *Lens culinaris* Medik ($2n=2x=14$).

L'analyse caryo-morphologique des géotypes montre des variations importantes dans la taille des chromosomes, la localisation et le nombre de satellite:

-les caryotypes sont symétriques tant pour la forme que pour la taille des chromosomes. L'indice d'asymétrie ayant sensiblement les mêmes valeurs (60,51 % Idlep1, 63,11% Flip 90-31, 62,30% Idlep 3, 60,13% Metropole, 61,45% Syrie 229 ; 64,32 % Dahra).

- La présence d'une paire de satellites localisé sur le chromosome 4 des géotypes Idlep3, Metropole et Flip 90-3, alors que, chez le géotype Syrie 229, deux paires de satellites sont situés sur les chromosomes 4 et 6.

Par opposition, absence de satellites chez Idlep1 et Dahra. Ces satellites sont associés aux régions organisatrices nucléolaires (N.O.R) qui codent pour les gènes ribosomiques.

- L'existence des chromosomes B chez tous les génotypes à l'exception du génotype Metropole. Ces chromosomes B jouent un rôle important dans l'adaptation du végétal aux conditions difficiles du milieu.

Remerciement

Les auteurs remercient infiniment le directeur de l'I.N.R.A (Alger) Dr.Benbelkacem A.K. pour ces collaborations.

References:

- Abbo, S., Miller, T.E., Reader, S.M., Dunford R.P., King I.P. Detection of ribosomal DNA sites in lentil and chickpea by fluorescent *in situ* hybridization. *Genome*, 1994,37, 713-716.
- Alghamdi, Salem S., Altaf, M. Khan., Megahed, H., Ammar, Ehab H. El-Harty., Migdadi, Hussein M. Phenological, Nutritional and Molecular Diversity Assessment among 35 Introduced Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Genotypes Grown in Saudi Arabia. *Int J Mol Sci*. 2014,15(1),277–295.
- Appels, R. The molecular cytology of wheat-rye hybrids . *Int. Rev.Cytol*, 1982, 14, 93- 132.
- Arano, H., Saito, H. Cytological studies in family Umbelliferae5. Karyotypes of seven species in subtribe Seselinae. *Kromo-somo* 1980,II 17, 471–480.
- Brink, M., Belay, G. K. P. *Vigna subterranea* (L.) Verdc. Record from Protabase (Plant Ressources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), 2006, Wageningen, Netherlands.
- FAO. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques, INRAA.FAO 2006 (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture).
- Galasso, I., Schmidt, T.,Pignone, D. Identification of *Lens culinaris* sp. *culinaris* chromosomes by physical mapping of repetitive DNA sequences. *Chromosome Res.*, 2001, 9, 199-209.
- Gaffarzadeh-Namazi, L. Asghari-Zakaria, R.N., K. Babaeian Kazemi-Tabar. Comparative study of chromosome morphology C-banding Patterns in several genotypes of *Lens culinaris*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2007, 10,1811 -1816.
- Gill, B.S., Friebe,B., Endo, T.R. Standard karyotype and nomenclature systeme for description of chromosomes bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). *Genome*,1991, 34, 830-839.
- Hammouda, D., Khalfallah, N. Comparative analysis of D and R genomes in two lignes (x-*Triticosecale* Wittmack) and their genitors (*Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L.) by N-banding. *Caryologia*, 2008, 61(3), 245-252.
- Hammouda,D. Evolution et organisation du génome chez x-*Triticosecale* Wittmak. Thèse de Doctorat en Sciences, Génétique et Amélioration des Plantes, Université de Constantine1, Algérie, 2013, p114.

- Houben, A., Nasuda, S., Takasaki, R. Plant B Chromosomes. Chapter 5, 2011, p 97-111.
- Khalfallah, N. Genetic relationships among wild and cultivated forms belonging to the primary gene pool of 13 *Pennisetum* 251 pearl millet *Pennisetum typhoides* Stapf et Hubb: Assessment of variability using combine cytogenetic and biometrical approaches. Doctor of Science Thesis. Constantine, Algeria, 1990, p 75.
- Kumar, S., Gupta, P.K. Pachytene chromosomes in lentil. LENS News Lett, 1997, 2, 4, 30-34.
- Kumar, S., Balyan, H.S., Ramesh, B., Singh, S.P. Gupta, P.K. A study of nucleolar organizers in lentil using Fish and spore quartet analysis. Cytologia, 2001, 66, 247-252.
- Ladizinsky, G. The origin of lentil and its wild gene pool. Euphytica, 1979, 28, 179-187.
- Levan, A., Fredga, K. Sandberg, A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 1964 52, 201-220.
- Mehra, R.C., Butler, M.G., Beckman, T. N-banding and karyotype analysis of *Lens culinaris*. Hereditas, 1986, 77, 473- 474.
- Ramesh, B., Salimuddin Inter-varietals variation for chromatin content in lentil. LENS News Lett, 1992, 19, 3-8.
- Saskatchewan Agriculture and Food, and University of Saskatchewan 2000.
- Shafique, U.R., Ch. Muhammad, Altaf. .Karyotype studies in *Lens culinaris* Medik ssp *Macrosperma* cv. Laird x precox. Pak-j.Bot, 1994, 26 (2), 347-352.
- Schlegel, R., Gill, B.S. N-banding analysis of Rye chromosomes and the relation between N-banded and C-banded heterochromatin . Can. J. Genet. Cytol, 1984, 26, 765-769.
- Siljak yakovlov, S., Cartier, D. Hétero chromatin patterns in some taxa of *crepis praemorsa* complex. Caryologia, 1986, 39, 27-32.
- Staginnus, C., Winter, P., Desel, C., Schmidt, T., Kahl. Molecular structure and chromosomal localization of major repetitive DNA families in the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome. Plant molecular Biology 1999, 39, 1037-1050.
- Stebbin, G. L., Chromosomal Evolution in Higher Plants. Addison Wesley Publishing 1971, Co, CA, USA.