

Variabilité des facteurs antinutritionnels des composés phytochimiques bioactifs et de la composition minérale chez des lignées mutantes de soja (*Glycine max* L.) développées par mutagenèse induite en République Démocratique du Congo.

Variability in Antinutritional Factors of Bioactive Phytochemical Compounds, and Mineral Composition among Mutant Soybean (*Glycine max* L.) Lines Developed through Induced Mutagenesis in the Democratic Republic of the Congo.

Ornella VONZAYA MAKAYA², Freddy OTONO BULUBULU², Moïse ITUNGA MUYA², Emmanuel MOKE LENGBIYE¹, Bruno MUNZEMBA MBUKULA⁴, Georges BUNDU MBANA³, Calvin ILUNGA CIUMA², Willy KAZOLO NZONGOLA² Gisèle KAFUTI MAKENGO¹, Joseph BEKOMO ITEKU¹, Sébastien NDIKU LUYINDULA^{1,2}.

¹Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

²Commissariat Général à l'Energie Atomique (C.G.E.A), République Démocratique du Congo ;

³Comité National de Protection contre les Rayonnements Ionisants (CNPRI), République Démocratique du Congo ;

RESUME:

La malnutrition et les carences en micronutriments, notamment en fer et en zinc, demeurent des défis majeurs de santé publique en République Démocratique du Congo (RDC). Le soja (*Glycine max* L.) constitue une source importante de protéines végétales et de micronutriments, mais sa valeur nutritionnelle peut être affectée par la présence de facteurs antinutritionnels limitant la biodisponibilité minérale. La présente étude visait à évaluer la variabilité des facteurs antinutritionnels, des composés phytochimiques bioactifs et de la composition minérale de quatre lignées mutantes de soja (Diamuini 1, Diamuini 2, Lutamadio et Luyindula) comparativement à la variété parentale TGX1830-7F. Les teneurs en oxalates, saponines, flavonoïdes, phytates et tanins condensés ont été déterminées par des méthodes gravimétriques, titrimétriques et spectrophotométriques, tandis que les concentrations en fer (Fe), zinc (Zn), manganèse (Mn) et cuivre (Cu) ont été mesurées par fluorescence X (XRF). Les données ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA), suivie du test de Tukey HSD ($p < 0.05$), ainsi qu'à des analyses multivariées incluant l'analyse en composantes principales (ACP), la classification hiérarchique ascendante (CAH) et l'analyse des corrélations de Pearson. Les résultats ont révélé des différences hautement significatives ($p < 0.01$) entre les géotypes pour les oxalates, flavonoïdes, phytates et tanins condensés. La variété Diamuini 2 présentait les teneurs les plus élevées en oxalates (44,37 mg/100 g MS) et en tanins condensés (4,76 mg/100 g MS), tandis que Lutamadio se distinguait par la plus forte concentration en flavonoïdes (10,97 mg/100 g MS) et les plus faibles teneurs en phytates (76,03 mg/100 g MS). TGX1830-7F présentait les concentrations les plus élevées en fer (89,49 mg/kg) et en zinc (64,81 mg/kg). L'ACP a expliqué 77,2 % de la variabilité totale et a permis d'identifier trois groupes distincts de géotypes. La CAH a confirmé cette structuration en regroupant Lutamadio et Luyindula dans un cluster caractérisé par une meilleure qualité nutritionnelle. L'indice nutritionnel global a classé les variétés dans l'ordre suivant : Lutamadio > Luyindula > TGX1830-7F > Diamuini 1 > Diamuini 2. Ces résultats démontrent que la mutagenèse induite a généré une variabilité nutritionnelle importante chez le soja et identifient Lutamadio comme un géotype particulièrement prometteur pour les programmes de biofortification et d'amélioration de la sécurité alimentaire en RDC.

Mots clés : *Glycine max* L., mutagenèse induite, facteurs antinutritionnels, micronutriments, biofortification, ACP, CAH, sécurité alimentaire.

ABSTRACT :

Micronutrient deficiencies, particularly iron and zinc deficiencies, remain a major public health concern in the Democratic Republic of the Congo (DRC). Soybean (*Glycine max* L.) represents an important source of plant protein and essential micronutrients; however, its nutritional value may be affected by the presence of antinutritional compounds that reduce mineral bioavailability. This study aimed to evaluate the variability of antinutritional factors, bioactive phytochemicals and mineral composition among four mutant soybean lines (Diamuini 1, Diamuini 2, Lutamadio and Luyindula) compared with the parent variety TGX1830-7F. Oxalates, saponins, flavonoids, phytates and condensed tannins were quantified using gravimetric, titrimetric and spectrophotometric methods, while iron (Fe), zinc (Zn), manganese (Mn) and copper (Cu) concentrations were determined using X-ray fluorescence spectroscopy (XRF). Data were subjected to analysis of variance (ANOVA), Tukey's HSD test ($p < 0.05$), principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA) and Pearson correlation analysis. Highly significant differences ($p < 0.01$) were observed among genotypes for oxalates, flavonoids, phytates and condensed tannins. Diamuini 2 exhibited the highest oxalate (44.37 mg/100 g DM) and tannin contents (4.76 mg/100 g DM), whereas Lutamadio displayed the highest flavonoid concentration (10.97 mg/100 g DM) and the lowest phytate content (76.03 mg/100 g DM). TGX1830-7F recorded the highest iron (89.49 mg/kg) and zinc (64.81 mg/kg) concentrations. PCA explained more than 77.2% of the total variability and identified three major genotype groups. HCA confirmed this clustering pattern, grouping Lutamadio and Luyindula within a nutritionally favorable cluster. The global nutritional index ranked the varieties as follows: Lutamadio > Luyindula > TGX1830-7F > Diamuini 1 > Diamuini 2. The results demonstrate that induced mutagenesis generated substantial nutritional variability in soybean and identified Lutamadio as a promising genotype for biofortification programs and food security improvement in the DRC.

Keywords: *Glycine max* L., induced mutagenesis, antinutritional factors, micronutrients, biofortification, principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA), food security.

*Adresse des Auteur(s)

Ornella VONZAYA MAKAYA, Commissariat Général à l'Energie Atomique (C.G.E.A), République Démocratique du Congo ;

E-mail : orny6mak@gmail.com

Tél : +243 822589415

Freddy OTONO BULUBULU, Commissariat Général à l'Energie Atomique (C.G.E.A), République Démocratique du Congo ;

Moïse ITUNGA MUYA, Commissariat Général à l'Energie Atomique (C.G.E.A), République Démocratique du Congo ;

Emmanuel MOKE LENGBIYE, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

Bruno MUNZEMBA MBUKULA, Institut National pour l'Etudes et la Recherche Agronomiques, République Démocratique du Congo ;

Georges BUNDU MBANA, Comité National de Protection contre les Rayonnement Ionisants (CNPRI) République Démocratique du Congo ;

Calvin CIUMA ILUNGA, Commissariat Général à l'Energie Atomique (C.G.E.A), République Démocratique du Congo ;

Willy KAZOLO NZONGOLA, Commissariat Général à l'Energie Atomique (C.G.E.A), République Démocratique du Congo ;

Gisèle KAFUTI MAKENGO, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

Joseph BEKOMO ITEKU, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

Sébastien NDIKU LUYINDULA, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Kinshasa, & Commissariat Général à l'Energie Atomique (C.G.E.A), République Démocratique du Congo ;

I. INTRODUCTION

La malnutrition demeure l'un des principaux défis de santé publique dans les pays en développement, particulièrement en Afrique subsaharienne. Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), plus de deux milliards de personnes dans le monde souffrent de carences en micronutriments essentiels, notamment en fer, zinc, iode et vitamine A (FAO, 2017).

En République Démocratique du Congo (RDC), les enquêtes nationales de santé indiquent que l'anémie ferriprive affecte près de la moitié des enfants de moins de cinq ans et plus d'un tiers des femmes en âge de procréer, compromettant le développement cognitif, la croissance et la productivité économique (EDS-RDC II, 2014).

L'amélioration de la qualité nutritionnelle des cultures vivrières constitue une stratégie durable pour lutter contre ces carences. Parmi les cultures à fort potentiel nutritionnel, le soja (*Glycine max* L.) occupe une place particulière en raison de sa richesse en protéines de haute qualité, en lipides, en vitamines et en minéraux essentiels. Les graines de soja représentent également une source importante de composés bioactifs bénéfiques pour la santé humaine, notamment les flavonoïdes, les isoflavones et certains composés phénoliques dotés d'activités antioxydantes (Kumar *et al.*, 2010).

Toutefois, la valeur nutritionnelle du soja est influencée par la présence de facteurs antinutritionnels tels que les phytates, les oxalates, les tanins et les saponines. Ces composés peuvent interagir avec les micronutriments et réduire leur biodisponibilité au niveau intestinal. Les phytates, en particulier, sont reconnus pour leur forte capacité de chélation des cations divalents tels que le fer, le zinc et le calcium. De même, les tanins et certains polyphénols peuvent former des complexes insolubles avec les protéines et les minéraux, limitant leur absorption (Gibson *et al.*, 2010).

Face à ces contraintes, la biofortification et l'amélioration génétique des cultures apparaissent comme des approches prometteuses pour accroître simultanément les teneurs en micronutriments et réduire les concentrations des facteurs antinutritionnels. Parmi les techniques disponibles, la mutagenèse induite par irradiation gamma constitue un outil puissant pour générer une variabilité génétique exploitable dans les programmes d'amélioration variétale. Depuis plusieurs décennies, cette approche a permis le développement de nombreuses variétés améliorées présentant des caractéristiques agronomiques et nutritionnelles supérieures (Mayer *et al.*, 2008 ; Bouis & Saltzman, 2017).

En RDC, plusieurs lignées mutantes de soja ont été développées par le Commissariat Général à l'Énergie Atomique (CGEA/CREN-K) en collaboration avec l'Institut National pour l'Étude et la Recherche Agronomiques (INERA). Cependant, peu d'informations sont disponibles concernant leur qualité nutritionnelle, leur composition minérale et leur profil en composés antinutritionnels.

La présente étude a donc pour objectif d'évaluer la variabilité des facteurs antinutritionnels, des composés phytochimiques bioactifs et des micronutriments chez quatre lignées mutantes de soja comparativement à une variété parentale. Plus spécifiquement, il s'agit : (i) de quantifier les principaux facteurs antinutritionnels et micronutriments, (ii) d'analyser les relations entre ces composés à l'aide d'approches multivariées, et (iii) d'identifier les génotypes les plus prometteurs pour les programmes de biofortification et d'amélioration de la sécurité alimentaire en République Démocratique du Congo.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Site de l'étude

Les analyses ont été réalisées au Laboratoire Central d'Analyses, au Laboratoire de Biochimie et Technologie des aliments, et au Laboratoire de Biotechnologie du CGEA/CREN-K, République Démocratique du Congo. Les échantillons de graines provenaient des essais de sélection conduits à la station de recherche de l'INERA/Mvuazi, dans la province du Kongo Central.

II.2. Matériel biologique

Le matériel végétal était constitué de cinq génotypes de soja (*Glycine max* L.), dont quatre lignées mutantes issues de la mutagenèse induite par irradiation gamma (Diamuini 1, Diamuini 2, Lutaladio, Luyindula) et une variété parentale utilisée comme témoin (TGX1830-7F).

Les lignées mutantes ont été développées conjointement par le CGEA/CREN-K et l'INERA dans le cadre d'un programme d'amélioration variétale utilisant la mutagenèse induite pour accroître la variabilité génétique et améliorer les caractéristiques agronomiques et nutritionnelles du soja. Les graines analysées étaient conservées dans un congélateur à -20 °C.

II.3. Préparation des échantillons

500 graines par variété ont été soigneusement nettoyées afin d'éliminer les impuretés. Les échantillons ont ensuite été séchés dans une étuve ventilée à une température inférieure ou égale à 60 °C jusqu'à obtention d'une masse constante.

Après séchage, les graines ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique (Waring Instruments, USA) afin d'obtenir une poudre homogène. La poudre obtenue a été tamisée puis conservée dans des récipients hermétiques à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à la réalisation des analyses.

Les déterminations analytiques ont été réalisées en trois répétitions indépendantes.

II.4. Détermination des facteurs antinutritionnels

II.4.1. Dosage des saponines

Les saponines totales ont été déterminées selon la méthode gravimétrique décrite par Obadoni et Ochuko (2001).

Vingt grammes de poudre ont été extraits dans une solution d'éthanol à 20 % sous agitation et chauffage modéré. Après filtration, le filtrat a été concentré puis soumis à une extraction liquide-liquide au n-butanol. La phase organique a été purifiée à l'aide d'une solution de chlorure de sodium à 5 % puis évaporée à siccité. Le résidu obtenu a été pesé et les résultats exprimés en g/100 g de matière sèche.

II.4.2. Dosage des oxalates

Les oxalates ont été déterminés suivant la méthode décrite par Aina *et al.* (2012).

Les échantillons ont été soumis à une digestion acide, suivie d'une précipitation sous forme d'oxalate de calcium. Après dissolution du précipité dans l'acide sulfurique chaud, la solution obtenue a été titrée par une solution standardisée de permanganate de potassium (KMnO_4 0,05 M). Les résultats ont été exprimés en mg/100 g MS.

II.4.3. Dosage des phytates

La teneur en phytates a été déterminée selon la méthode colorimétrique au réactif de Wade décrite par Latta et Eskin (1980).

Après extraction en milieu acide chlorhydrique, les extraits ont été mis en présence du réactif de Wade (chlorure ferrique et acide sulfosalicylique). L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre UV-Visible Jenway et les concentrations calculées à partir d'une courbe d'étalonnage.

II.4.4. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés ont été quantifiés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu modifiée, utilisant l'acide gallique comme standard de référence.

Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalents acide gallique par 100 g de matière sèche (mg EAG/100 g MS).

II.4.5. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été déterminés selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par Chang *et al.* (2002).

La quercétine a été utilisée comme standard pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalents quercétine par 100 g de matière sèche (mg EQ/100 g MS).

II.5. Analyse des microéléments par fluorescence

II.5.1. Principe

Les concentrations en fer (Fe), zinc (Zn), manganèse (Mn) et cuivre (Cu) ont été déterminées par spectrométrie de fluorescence X (XRF) au Laboratoire Central d'Analyses du CGEA/CREN-K.

La technique repose sur l'émission de rayons X secondaires caractéristiques lorsque les atomes de l'échantillon sont excités par un rayonnement X primaire. L'énergie des photons émis permet l'identification des éléments chimiques tandis que l'intensité des raies spectrales est proportionnelle à leur concentration.

II.5.2. Préparation des pastilles

Les poudres végétales ont été homogénéisées puis comprimées sous forme de pastilles à l'aide d'une presse hydraulique. Les analyses ont été réalisées après calibration de l'instrument au moyen de matériaux de référence certifiés.

Les concentrations ont été exprimées en mg/kg de matière sèche.

II.6. Analyses statistiques

II.6.1. Analyse de variance

Les données ont été soumises à une analyse de variance à un facteur (ANOVA) afin d'évaluer l'effet du génotype sur les facteurs antinutritionnels et la composition minérale.

Lorsque l'effet variété était significatif, les moyennes ont été séparées à l'aide du test de comparaison multiple de Tukey HSD au seuil de probabilité de 5 %.

Variabilité des facteurs antinutritionnels, des composés...

Avant la réalisation de l'ANOVA, la normalité des résidus a été vérifiée à l'aide du test de Shapiro–Wilk et l'homogénéité des variances à l'aide du test de Levene. Lorsque ces conditions étaient satisfaites, les comparaisons des moyennes ont été effectuées par le test de Tukey HSD au seuil de 5 %.

II.6.2. Analyse en composantes principales

Une analyse en composantes principales a été réalisée sur la matrice de données centrée-réduite comprenant les variables suivantes : Oxalates, Saponines, Flavonoïdes, Phytates, Tanins condensés, Fer, Zinc, Manganèse et Cuivre.

Cette analyse a permis d'identifier les principales sources de variabilité et les relations entre les génotypes et les variables étudiées.

II.6.3. Corrélations de Pearson

Les relations entre les micronutriments et les facteurs antinutritionnels ont été évaluées à l'aide des coefficients de corrélation de Pearson.

II.6.4. Classification hiérarchique ascendante (CAH)

Une classification hiérarchique ascendante a été réalisée en utilisant la distance euclidienne comme mesure de dissimilarité et la méthode d'agrégation de Ward.

Le dendrogramme obtenu a permis d'identifier les groupes de génotypes présentant des profils nutritionnels similaires.

II.6.5. Indice nutritionnel global

Afin d'intégrer simultanément les caractéristiques nutritionnelles et antinutritionnelles des génotypes, un indice nutritionnel global (ING) a été calculé à partir de la normalisation Min-Max des variables favorables (Fe, Zn, Mn, Cu et flavonoïdes) et défavorables (oxalates, phytates, tanins et saponines), suivant l'approche de construction des indicateurs composites décrite par Nardo et al. (2005) et l'OCDE (2008). L'indice global a été obtenu à partir de la moyenne des scores normalisés et exprimé sur une échelle de 0 à 100, les valeurs les plus élevées indiquant une meilleure qualité nutritionnelle.

Les variables ont été pondérées selon leur importance nutritionnelle (après normalisation):

$$ING = \frac{2Fe + 2Zn + Mn + Cu + Flav + 2Ox + 2Phy + Tan + Sap}{13}$$

où :

ING = indice nutritionnel global

Fe et Zn reçoivent un poids de 2 car ce sont les micronutriments les plus limitants en Afrique subsaharienne ;

Oxalates et Phytates reçoivent également un poids de 2 car ce sont les principaux inhibiteurs de biodisponibilité minérale.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées sous l'environnement R (version 4.6.0), avec un seuil de significativité fixé à $p < 0.05$.

II.6.6. Evaluation de biodisponibilité minérale

Les rapports molaires : Phytate/Fe et Phytate/Zn, indicateurs reconnus de biodisponibilité minérale, ont été calculés en utilisant les formules standards (Gibson & Ferguson, 1998 ; Hurrell & Egli, 2010) :

$$\text{Rapport molaire Phytate/Fe} = \frac{\text{Phytate} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) / 660}{\text{Fe} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) / 55,85}$$

$$\text{Rapport molaire Phytate/Zn} = \frac{\text{Phytate} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) / 660}{\text{Zn} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) / 65,38}$$

Les auteurs indiquent qu'un rapport :

- **Phytate/Fe < 1** : biodisponibilité acceptable du fer ;
- **Phytate/Fe < 0,4** : biodisponibilité optimale du fer.
- **Phytate/Zn < 5** : biodisponibilité élevée ;
- **5 ≤ Phytate/Zn ≤ 15** : biodisponibilité modérée ;
- **Phytate/Zn > 15** : faible biodisponibilité.

III. RESULTATS

III.1. Variabilité des facteurs antinutritionnels

Les teneurs moyennes en facteurs antinutritionnels des cinq génotypes de soja sont présentées dans le Tableau 1. Une importante variabilité a été observée entre les génotypes pour l'ensemble des composés étudiés.

Tableau 1. Teneurs moyennes en facteurs antinutritionnels des génotypes de soja

Variété	Oxalates (mg/100g MS)	Saponines (mg/100g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/100g MS)	Phytates (mg/100g MS)	Tanins condensés (mgEAG /100g MS)
Diamuini 1	23,77 ± 0,65	1,11 ± 0,13	5,17 ± 0,18	1086,83 ± 14,55	4,33 ± 0,09
Diamuini 2	44,37 ± 2,50	1,03 ± 0,10	3,93 ± 0,18	1052,50 ± 14,10	4,76 ± 0,10
Luyindula	15,87 ± 0,35	0,99 ± 0,05	4,55 ± 0,11	588,20 ± 7,80	1,63 ± 0,04
Lutaladio	24,67 ± 3,84	1,05 ± 0,15	10,97 ± 0,12	76,03 ± 1,55	1,14 ± 0,02
TGX1830-7F	9,60 ± 1,52	1,40 ± 0,46	8,77 ± 0,19	1263,20 ± 16,80	1,89 ± 0,04

Les teneurs en oxalates variaient de 9,60 mg/100 g MS chez TGX1830-7F à 44,37 mg/100 g MS chez Diamuini 2. Cette dernière variété présentait également la concentration la plus élevée en tanins condensés (4,76 mg/100 g MS).

Les flavonoïdes ont montré une forte variabilité entre les génotypes, avec une valeur maximale observée chez Lutaladio (10,97 mg/100 g MS), suivie de TGX1830-7F (8,77 mg/100 g MS). Les teneurs les plus faibles ont été observées chez Diamuini 2.

Concernant les phytates, TGX1830-7F présentait la concentration la plus élevée (1263,20 mg/100 g MS), tandis que Lutaladio affichait la valeur la plus faible (76,03 mg/100 g MS).

III.2. Analyse de variance des facteurs antinutritionnels

L'analyse de variance a révélé des différences hautement significatives entre les génotypes pour les oxalates, les flavonoïdes, les phytates et les tanins condensés ($p < 0.01$), alors que les saponines n'ont présenté aucune différence significative ($p > 0.05$).

Tableau 2. Analyse de variance des facteurs antinutritionnels

Paramètre	F calculé	Niveau de signification
Oxalates	108,56	**
Saponines	1,59	Ns
Flavonoïdes	1122,62	**
Phytates	4606,56	**
Tanins condensés	2177,85	**

Ns : non significatif ; ** $p < 0.01$

Ces résultats indiquent que le génotype exerce une influence importante sur l'accumulation de la majorité des composés antinutritionnels.

III.3. Comparaison des moyennes par de test de Tukey HSD

Le test de Tukey HSD a permis d'identifier les groupes homogènes pour chaque paramètre étudié.

Tableau 3. Comparaison des moyennes des facteurs antinutritionnels selon le test de Tukey HSD

Variété	Oxalates	Groupe	Flavonoïdes	Groupe	Phytates	Groupe	Tanins	Groupe
Diamuini 2	44,37	a	3,93	E	1052,50	C	4,76	a
Lutaladio	24,67	b	10,97	a	76,03	E	1,14	e
Diamuini 1	23,77	b	5,17	c	1086,83	B	4,33	b
Luyindula	15,87	c	4,55	d	588,20	D	1,63	d
TGX1830-7F	9,60	d	8,77	b	1263,20	A	1,89	c

Les lettres différentes indiquent des différences significatives au seuil de 5 %.

Diamuini 2 présentait des concentrations significativement plus élevées en oxalates et tanins condensés, tandis que

Lutaladio se distinguait par sa forte teneur en flavonoïdes et sa très faible concentration en phytates.

III.4. Composition minérale des génotypes

L'analyse par fluorescence X a révélé une variabilité importante de la composition minérale entre les génotypes.

Tableau 4. Composition minérale des génotypes de soja (mg/kg MS)

Génotype	Mn	Fe	Cu	Zn
Diamuini 1	34,68±3,38 ^a	76,33±5,79 ^c	16,77±1,30 ^c	57,38±4,00 ^b
Diamuini 2	32,52±3,06 ^b	85,87±6,64 ^{ab}	18,59±1,56 ^b	53,13±4,56 ^c
Luyindula	30,53±2,64 ^c	77,94±6,79 ^{bc}	9,40±0,53 ^c	56,15±4,09 ^{bc}
Lutaladio	31,60±3,05 ^{bc}	86,96±7,27 ^{ab}	15,29±1,10 ^d	55,33±4,68 ^{bc}
TGX1830-7F	25,32±2,28 ^d	89,49±6,96 ^a	19,68±0,17 ^a	64,81±5,37 ^a
F	36,14*	18,06*	293,45*	22,01*

L'analyse de variance a révélé des différences hautement significatives entre les génotypes pour l'ensemble des micronutriments étudiés (Mn, Fe, Cu et Zn ; $p < 0.001$). Le parent TGX1830-7F a présenté les teneurs les plus élevées en Fe, Cu et Zn, tandis que Diamuini 1 a montré la concentration la plus élevée en Mn. Le mutant Luyindula s'est distingué par une faible teneur en Cu mais des niveaux intermédiaires de Fe et Zn. Ces résultats indiquent que la sélection mutagène a engendré une variabilité génétique importante pour l'accumulation des micronutriments, offrant des perspectives intéressantes pour la biofortification du soja.

III.5. Analyse en composantes principales (ACP)

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été réalisée afin d'étudier simultanément les relations entre les facteurs antinutritionnels (oxalates, saponines, flavonoïdes, phytates et tanins condensés) et les microéléments (Fe, Zn, Mn et Cu) chez les cinq génotypes de soja.

Les deux premiers axes factoriels expliquent 77,2 % de la variabilité totale, dont 48,0 % pour l'axe 1 (PC1) et 29,2 % pour l'axe 2 (PC2). Cette proportion élevée indique que le plan factoriel PC1–PC2 fournit une représentation fiable de la structure des données.

Variabilité des facteurs antinutritionnels, des composés...

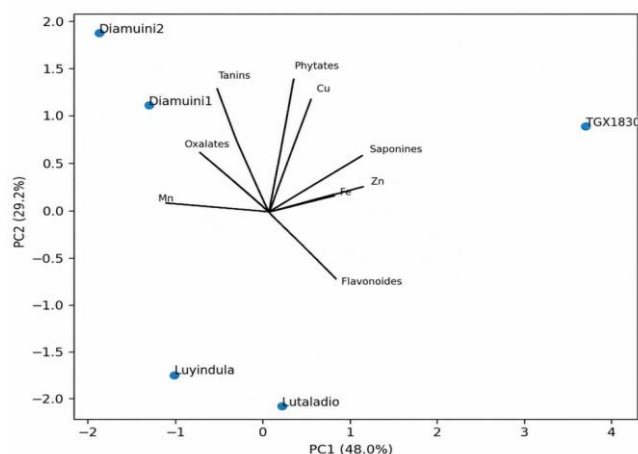


Figure 1. ACP intégrée des facteurs antinutritionnels et des microéléments

L'axe principal (**PC1**) oppose les génotypes associés aux fortes teneurs en **fer, zinc, saponines, cuivre et flavonoïdes** (partie positive de l'axe) à ceux caractérisés par des concentrations élevées en **oxalates, tanins condensés et manganèse** (partie négative de l'axe).

L'axe secondaire (**PC2**) est principalement influencé par les **phytates**, le **cuivre** et les **tanins condensés**, qui contribuent positivement à cet axe, tandis que les **flavonoïdes** contribuent négativement.

L'ACP confirme que les génotypes étudiés possèdent des profils nutritionnels nettement distincts. Les résultats mettent en évidence trois groupes :

- TGX1830-7F comme génotype riche en micronutriments (Fe, Zn et Cu) ;
- Diamuini 1 et Diamuini 2 comme génotypes caractérisés par une forte accumulation de facteurs antinutritionnels (oxalates et tanins condensés) et de Mn;
- Lutaladio et Luyindula comme génotypes présentant le meilleur équilibre entre richesse nutritionnelle et faible teneur en composés antinutritionnels.

III.6. Corrélations entre micronutriments et facteurs antinutritionnels

L'analyse des corrélations de Pearson a permis d'identifier plusieurs associations importantes entre les facteurs antinutritionnels et les microéléments.



Figure 2. Heatmap des corrélations entre micronutriments et facteurs antinutritionnels

Le zinc présente une très forte corrélation positive avec les saponines ($r = 0,95$) et une forte corrélation négative avec les oxalates ($r = -0,79$). Le fer est positivement corrélé aux flavonoïdes ($r = 0,61$). Le manganèse est positivement corrélé aux oxalates ($r = 0,63$), positivement corrélé aux tanins ($r = 0,57$) et négativement corrélé aux saponines ($r = -0,76$). Le cuivre présente une corrélation positive avec les phytates ($r = 0,58$) et une corrélation positive avec les tanins ($r = 0,44$).

Ces résultats indiquent que les mécanismes d'accumulation des micronutriments et des métabolites secondaires sont étroitement liés au sein du génome étudié.

III.7. Classification hiérarchique ascendante (CAH)

La classification hiérarchique ascendante (méthode de Ward, distance euclidienne) a permis de distinguer trois groupes principaux au seuil de coupure de 4,0. Le premier groupe est constitué des génotypes Diamuini 1 et Diamuini 2, caractérisés par une forte similarité de leur profil nutritionnel. Le deuxième groupe regroupe les génotypes Luyindula et Lutaladio, qui présentent également des caractéristiques proches. Le génotype parent TGX1830-7F forme un troisième groupe distinct, révélant une divergence importante vis-à-vis des mutants. Cette structuration met en évidence l'effet de la mutagenèse sur la variabilité des teneurs en micronutriments et en facteurs antinutritionnels, et confirme les tendances observées par l'analyse en composantes principales.

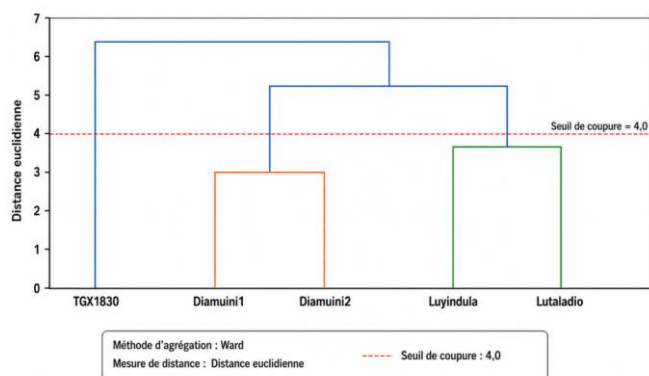


Figure 5. Dendrogramme de la classification hiérarchique : Regroupement des génotypes de soja selon leurs caractéristiques nutritionnelles et antinutritionnelles.

III.8. Indice nutritionnel global

Afin d'intégrer simultanément les effets des micronutriments et des facteurs antinutritionnels, un indice nutritionnel global a été calculé.

Les variables considérées comme favorables étaient : Fe, Zn, Mn, Cu, Flavonoïdes.

Les variables considérées comme défavorables étaient : Oxalates, Phytates, Tanins condensés, Saponines.

Lutaladio présentait le meilleur compromis entre richesse minérale, teneur élevée en flavonoïdes et faibles concentrations en facteurs antinutritionnels.

À l'inverse, Diamuini 2 occupait le dernier rang en raison de ses concentrations élevées en oxalates et en tanins condensés.

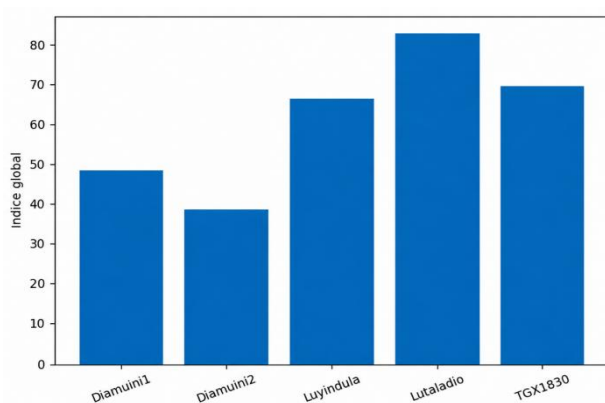


Figure 6. Indice nutritionnel global des génotypes de soja : Classement des génotypes selon leur qualité nutritionnelle globale intégrant les micronutriments et les facteurs antinutritionnels.

III.9. Biodisponibilité minérale des mutants de soja

Les Rapports molaires Phytate/Fe et Phytate/Zn sont donnés dans le tableau 5 ci-après.

Tableau 5. Teneurs en phytates et rapports molaires Phytate/Fe et Phytate/Zn des génotypes de soja étudiés

Variété	Phytates (mg/100 g MS)	Fe (mg/100 g MS)	Zn (mg/100 g MS)	Phytate/Fe	Phytate/Zn
Diamuini 1	1086,83	7,63	5,74	12,05	18,75
Diamuini 2	1052,50	8,59	5,31	10,37	19,62
Luyindula	588,20	7,79	5,62	6,39	10,37
Lutaladio	76,03	8,70	5,53	0,74	1,36
TGX1830-7F	1263,20	8,95	6,48	11,93	19,30

Un rapport molaire Phytate/Fe > 1 est associé à une faible biodisponibilité du fer (Hurrell & Egli, 2010), tandis qu'un rapport Phytate/Zn > 15 indique une faible biodisponibilité du zinc (Gibson & Ferguson, 1998).

IV. DISCUSSION

IV.1. Variabilité nutritionnelle induite par la mutagenèse gamma : une source de diversité exploitable pour la biofortification

Les différences hautement significatives observées entre les génotypes pour les facteurs antinutritionnels, les composés phytochimiques bioactifs et les micronutriments démontrent que la mutagenèse induite par irradiation gamma a généré une variabilité génétique importante chez le soja. Ces résultats confirment que les rayonnements ionisants constituent un outil efficace pour induire des modifications du métabolisme primaire et secondaire susceptibles d'être exploitées dans les programmes d'amélioration nutritionnelle.

Les concentrations en fer (76,33–89,49 mg kg⁻¹) et en zinc (53,13–64,81 mg kg⁻¹) obtenues dans cette étude sont comparables, voire supérieures, aux valeurs rapportées chez plusieurs cultivars de soja conventionnels et correspondent aux plages cibles proposées dans les programmes internationaux de biofortification (Bouis et al., 2011 ; Horn & Shimelis, 2024 ; Bouis et Saltzman, 2017). Les teneurs observées suggèrent ainsi que les génotypes étudiés constituent des ressources génétiques intéressantes pour améliorer la qualité nutritionnelle des régimes alimentaires à base de soja.

Les mutations induites peuvent affecter les gènes impliqués dans le transport membranaire des minéraux, l'homéostasie métallique, le métabolisme du phosphore ou encore la biosynthèse des composés phénoliques (IAEA, 2023 ; Horn et Shimelis, 2024). Des effets similaires ont été observés chez le blé, le riz, le niébé et le soja, où l'irradiation gamma a

permis d'augmenter la teneur en micronutriments et de modifier la composition biochimique des graines (Khattak et al., 2023).

Ainsi, la diversité observée entre les mutants Diamuini 1, Diamuini 2, Luyindula et Lutaladio témoigne du potentiel considérable de la mutagenèse pour créer de nouvelles combinaisons alléliques favorables aux objectifs de biofortification.

IV.2. La biodisponibilité minérale est plus importante que la concentration totale en micronutriments

La qualité nutritionnelle d'une culture ne dépend pas uniquement de la concentration totale des éléments minéraux, mais surtout de leur biodisponibilité. Les phytates sont reconnus comme les principaux inhibiteurs de l'absorption du fer et du zinc dans les aliments d'origine végétale en raison de leur forte capacité de chélation des cations divalents (Gibson et al., 2010 ; Kumar et al., 2010).

Dans la présente étude, TGX1830-7F présentait les teneurs les plus élevées en fer et en zinc. Cependant, ses concentrations élevées en phytates ont conduit à des rapports molaires Phytate/Fe et Phytate/Zn largement supérieurs aux seuils critiques, indiquant une biodisponibilité potentiellement faible. Ces résultats illustrent parfaitement que la concentration totale en micronutriments n'est pas un indicateur suffisant de la qualité nutritionnelle.

À l'inverse, le mutant Lutaladio, malgré une teneur légèrement inférieure en fer, présentait des rapports Phytate/Fe (0,74) et Phytate/Zn (1,36), compatibles avec une biodisponibilité élevée des deux éléments. Cette combinaison entre teneurs satisfaisantes en micronutriments et faibles concentrations en phytates constitue probablement le caractère le plus remarquable mis en évidence dans cette étude.

Les très faibles teneurs en phytates observées chez Lutaladio rappellent les phénotypes « low-phytate » décrits chez le maïs, l'orge et le soja. Ces mutants résultent généralement d'altérations des transporteurs du phosphore ou des enzymes impliquées dans la biosynthèse de l'acide phytique (Raboy, 2009). Il est donc possible que l'irradiation gamma ait affecté certaines voies métaboliques conduisant à une réduction importante de l'accumulation du phytate.

Par ailleurs, les teneurs élevées en oxalates et en tanins observées chez Diamuini 2 sont susceptibles de diminuer la biodisponibilité de plusieurs minéraux. Les oxalates forment des sels insolubles avec le calcium tandis que les tanins peuvent complexer les protéines et les ions métalliques,

réduisant ainsi leur digestibilité et leur absorption intestinale (Noonan et Savage, 1999 ; Kumar et al., 2010).

IV.3. Effets de la mutagenèse gamma sur le métabolisme secondaire et l'accumulation des flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent l'une des principales familles de métabolites secondaires du soja et sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cardioprotectrices (Panche et al., 2016 ; Dias et al., 2021). La teneur particulièrement élevée observée chez Lutaladio suggère que les mutations induites ont affecté positivement certaines voies du métabolisme phénolique.

L'irradiation gamma induit généralement une production transitoire d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), susceptibles d'activer la voie des phénylpropanoïdes via l'enzyme phénylalanine ammonia-lyase (PAL). Cette activation favorise l'accumulation de composés phénoliques et de flavonoïdes, qui participent à la protection cellulaire contre le stress oxydatif. Les brassinostéroïdes et l'acide salicylique interviennent également dans la modulation des réponses au stress et dans la régulation des voies métaboliques impliquées dans la biosynthèse des métabolites secondaires, contribuant ainsi à l'accumulation de composés antioxydants (Ashraf et al., 2018 ; Sharma et al., 2021 ; Jan et al., 2012).

La forte teneur en flavonoïdes observée chez Lutaladio pourrait ainsi refléter une réorganisation du métabolisme secondaire induite par les mutations gamma. Au-delà de leurs effets bénéfiques pour la santé humaine, ces composés jouent également un rôle important dans la stabilité oxydative des graines et pourraient améliorer leur conservation après récolte.

IV.4. Corrélation entre micronutriments et métabolites secondaires : indications sur les mécanismes physiologiques impliqués

Les corrélations observées mettent en évidence des interactions complexes entre les voies métaboliques impliquées dans l'accumulation des micronutriments et celle des composés antinutritionnels.

La forte corrélation négative entre le zinc et les oxalates ($r = -0,79$) suggère que les génotypes capables d'accumuler davantage de zinc tendent simultanément à limiter l'accumulation des oxalates. Cette relation est particulièrement favorable dans une perspective de biofortification, puisqu'elle pourrait améliorer la biodisponibilité du zinc.

La corrélation positive entre le fer et les flavonoïdes ($r = 0,61$) est cohérente avec les travaux récents montrant que les

composés phénoliques jouent un rôle important dans l'homéostasie du fer et la protection contre le stress oxydatif induit par les métaux de transition (Sharma et al., 2021). Les flavonoïdes peuvent intervenir dans les mécanismes de chélation, de transport et de stockage du fer au sein des tissus végétaux.

De même, la corrélation positive entre le manganèse et les oxalates pourrait traduire l'implication des acides organiques dans les processus de compartimentation intracellulaire des métaux. Des études de physiologie végétale ont montré que les oxalates participent à la régulation et au stockage de plusieurs éléments métalliques (Conn et Gilliam, 2010).

Ces résultats soulignent que l'amélioration nutritionnelle ne peut être envisagée indépendamment du métabolisme des composés secondaires et qu'une approche intégrative est nécessaire dans les programmes de sélection.

IV.5. Les analyses multivariées révèlent trois profils nutritionnels distincts

L'ACP et la classification hiérarchique ont permis de mettre en évidence trois groupes nutritionnels distincts, révélant que les différences entre génotypes ne se limitent pas à des variations quantitatives isolées mais correspondent à des profils métaboliques globaux.

Le groupe formé par Diamuini 1 et Diamuini 2 était associé à des teneurs élevées en oxalates, tanins condensés et manganèse, indiquant une forte accumulation de composés susceptibles de réduire la qualité nutritionnelle.

Le second groupe, composé de Luyindula et Lutaladio, présentait les caractéristiques les plus favorables, combinant faibles teneurs en phytates et tanins avec des concentrations satisfaisantes en micronutriments. Ce profil explique leur classement élevé selon l'indice nutritionnel global.

TGX1830-7F constituait un groupe isolé caractérisé par des concentrations élevées en Fe, Zn et Cu, mais également par des teneurs élevées en phytates.

La concordance remarquable entre l'ACP, la CAH et l'indice nutritionnel global renforce la robustesse des résultats obtenus. Ces approches multivariées apparaissent particulièrement adaptées aux programmes de biofortification puisqu'elles permettent d'identifier simultanément plusieurs caractères favorables (Pfeiffer et McClafferty, 2007 ; Bouis et Saltzman, 2017).

IV.6. Implications pour la biofortification et la sécurité alimentaire en République Démocratique du Congo

Les carences en fer et en zinc demeurent parmi les principales causes de malnutrition cachée en Afrique subsaharienne et affectent particulièrement les enfants et les femmes en âge de procréer (FAO et al., 2023). Dans ce contexte, la biofortification représente une approche durable, économiquement accessible et complémentaire aux programmes de supplémentation et d'enrichissement alimentaire.

Dans cette perspective, les techniques de mutagenèse induite constituent un complément efficace aux méthodes conventionnelles de sélection, car elles permettent d'élargir la diversité génétique disponible sans recourir aux technologies transgéniques. Cette approche est particulièrement adaptée aux programmes d'amélioration des légumineuses dans les pays en développement, où les besoins en variétés à haute valeur nutritionnelle sont importants (Mayer et al., 2008 ; Horn & Shimelis, 2024 ; IAEA, 2023).

Parmi les génotypes étudiés, Lutaladio apparaît comme le plus prometteur. Cette lignée combine des concentrations satisfaisantes en fer, une teneur élevée en flavonoïdes et surtout des concentrations exceptionnellement faibles en phytates et en tanins. Une telle combinaison est susceptible d'améliorer la biodisponibilité des micronutriments et d'accroître la valeur nutritionnelle des produits dérivés du soja.

Les génotypes Lutaladio et Luyindula pourraient ainsi constituer des ressources génétiques stratégiques pour les futurs programmes de sélection variétale du CGEA et de l'INERA. Leur utilisation comme parents dans des schémas d'hybridation pourrait permettre de combiner rendement, adaptation environnementale et qualité nutritionnelle.

Au-delà de l'amélioration de la qualité alimentaire, ces résultats démontrent que les techniques nucléaires appliquées à l'amélioration des plantes peuvent contribuer directement aux Objectifs de Développement Durable, notamment l'ODD 2 (Faim Zéro) et l'ODD 3 (Bonne santé et bien-être).

IV.7. Limites de l'étude et perspectives

Bien que cette étude mette en évidence le potentiel nutritionnel des lignées mutantes de soja développées en RDC, certaines limites doivent être soulignées. L'évaluation a porté sur un nombre restreint de génotypes et les échantillons provenaient d'un seul environnement, sans prise en compte des interactions génotype × environnement susceptibles d'influencer la composition des graines.

Variabilité des facteurs antinutritionnels, des composés...

Par ailleurs, la biodisponibilité des micronutriments a été estimée indirectement à partir des rapports molaire phytate/minéraux, sans validation expérimentale par des essais de digestibilité ou de bioaccessibilité *in vitro*. L'absence de données relatives au calcium, au phosphore, aux protéines, aux lipides et aux isoflavones constitue également une limite.

Des études futures devraient inclure des essais multi-environnements, la détermination des rapports Phytate/Ca et $[\text{Phytate} \times \text{Ca}]/\text{Zn}$, des analyses de bioaccessibilité *in vitro*, ainsi que des approches moléculaires visant à identifier les gènes responsables des faibles teneurs en phytates observées chez Lutamadio. Une caractérisation transcriptomique ou un séquençage ciblé permettraient de mieux comprendre les mécanismes génétiques sous-jacents à cette amélioration nutritionnelle.

V. CONCLUSION

La présente étude a permis d'évaluer la variabilité des facteurs antinutritionnels, des composés phytochimiques bioactifs et de la composition minérale de quatre lignées mutantes de soja développées par mutagenèse induite en République Démocratique du Congo, en comparaison avec leur variété parentale TGX1830-7F. Les résultats ont mis en évidence des différences hautement significatives entre les génotypes pour les oxalates, les flavonoïdes, les phytates, les tanins condensés ainsi que pour les micronutriments étudiés, révélant l'existence d'une importante diversité nutritionnelle générée par la mutagenèse gamma.

Les concentrations en fer et en zinc observées chez l'ensemble des génotypes se situent dans les plages rapportées pour les cultivars de soja à potentiel biofortifié. Toutefois, l'étude a montré que la qualité nutritionnelle des graines ne dépend pas uniquement des teneurs totales en micronutriments, mais également de leur biodisponibilité potentielle. En effet, malgré ses fortes concentrations en fer et en zinc, la variété parentale TGX1830-7F présentait également les teneurs les plus élevées en phytates, susceptibles de limiter l'absorption de ces éléments. À l'inverse, la lignée mutante Lutamadio se distinguait par une concentration exceptionnellement faible en phytates et en tanins condensés, associée à des teneurs satisfaisantes en fer et en zinc, ce qui se traduisait par les rapports molaire Phytate/Fe et Phytate/Zn les plus faibles et suggérait une meilleure biodisponibilité potentielle des micronutriments.

Les analyses de corrélation ont mis en évidence l'existence d'interactions complexes entre les micronutriments et les composés antinutritionnels, tandis que les analyses multivariées (ACP et CAH) ont permis d'identifier trois profils nutritionnels distincts. La concordance entre ces

approches statistiques et l'indice nutritionnel global a confirmé la supériorité nutritionnelle relative des lignées Lutamadio et Luyindula, caractérisées par un meilleur équilibre entre richesse minérale, teneur élevée en flavonoïdes et faibles concentrations en composés antinutritionnels.

Dans l'ensemble, les résultats démontrent que la mutagenèse induite constitue une approche efficace pour générer une variabilité exploitable dans les programmes d'amélioration nutritionnelle du soja. Parmi les génotypes étudiés, la lignée Lutamadio apparaît comme la plus prometteuse pour les programmes de biofortification en raison de sa combinaison favorable de teneurs satisfaisantes en micronutriments, de fortes concentrations en flavonoïdes et d'une faible teneur en phytates, susceptible d'améliorer la biodisponibilité du fer et du zinc.

Ces travaux mettent également en évidence l'intérêt d'intégrer simultanément les concentrations en micronutriments, les facteurs antinutritionnels et les composés bioactifs dans les programmes de sélection variétale, plutôt que de considérer ces paramètres de manière indépendante. Les lignées identifiées constituent ainsi des ressources génétiques stratégiques pour le développement de variétés de soja à haute valeur nutritionnelle adaptées aux conditions agroécologiques de la République Démocratique du Congo.

Cependant, la biodisponibilité des micronutriments a été estimée de manière indirecte à partir des rapports molaire phytate/minéraux. Des études complémentaires portant sur les essais multi-environnements, l'évaluation de la bioaccessibilité *in vitro*, l'analyse des rapports Phytate/Ca et $[\text{Phytate} \times \text{Ca}]/\text{Zn}$, ainsi que la caractérisation moléculaire des mécanismes impliqués dans la faible accumulation des phytates chez certaines lignées, permettront de consolider les résultats obtenus et de renforcer leur valorisation dans les futurs programmes de biofortification et de sécurité alimentaire.

Ainsi, les lignées mutantes de soja développées en République Démocratique du Congo constituent des ressources génétiques prometteuses susceptibles de contribuer à la lutte contre les carences en micronutriments et à l'atteinte des Objectifs de Développement Durable relatifs à la sécurité alimentaire, à la nutrition et à la santé des populations.

REFERENCES

1. Aina, V.O., Sambo, B., Zakari, A., Haruna, H. M. S., Umar, K., Akinboboye, R. et Mohammed, A. (2012). Determination of nutritional and

- antinutritional content of *Vitis vinifera* (Grapes) grown in Bomo (Area C) Zaira, Nigeria *Advances in Food Technology*, 4 (6): 225-228.
2. Ashraf, M. A., Akram, N. A., Arteca, R. N., & Foolad, M. R. (2018). The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 37(2–3), 162–190.
<https://doi.org/10.1080/07352689.2018.1443019>
 3. Bouis, H. E., & Saltzman, A. (2017). Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. *Global Food Security*, 12, 49–58.
<https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.01.009> (PMC)
 4. Bouis, H. E., Hotz, C., McClafferty, B., Meenakshi, J. V., & Pfeiffer, W. H. (2011). Biofortification: A new tool to reduce micronutrient malnutrition. *Food and Nutrition Bulletin*, 32(1 Suppl.), S31–S40.
<https://doi.org/10.1177/15648265110321S105>
 5. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3), 178–182
 6. Conn, S. J., & Gilliam, M. (2010). Comparative physiology of elemental distributions in plants. *Annals of Botany*, 105(7), 1081–1102.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcq027>
 7. Dias, R., Costa, M. C., & Oliveira, H. (2021). Flavonoids and their health-promoting effects: A review. *Food Bioscience*, 40, 100990.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100990>
 8. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2017) *The State of Food Security and Nutrition in the World 2017. Building Resilience for Peace and Food Security*.
 9. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), International Fund for Agricultural Development (IFAD), United Nations Children's Fund (UNICEF), World Food Programme (WFP), & World Health Organization (WHO). (2023). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2023*. FAO.
 10. Gibson, R. S., & Ferguson, E. L. (1998). An interactive 24-hour recall for assessing the adequacy of iron and zinc intakes in developing countries. *International Food Policy Research Institute (IFPRI)*, Washington, DC.
 11. Gibson, R. S., Bailey, K. B., Gibbs, M., & Ferguson, E. L. (2010). A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries. *Food and Nutrition Bulletin*, 31(2), S134–S146.
<https://doi.org/10.1177/15648265100312S206>
 12. Gupta, R. K., Gangoliya, S. S. & Singh, N. K. (2015). Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 676–684.
<https://doi.org/10.1007/s.13197-013-0978-y>
 13. Horn, L., & Shimelis, H. (2024). Mutation breeding for nutritional quality improvement in grain legumes: Recent advances and prospects. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1354210.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1354210>
 14. Hurrell, R., & Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1461S–1467S.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28674F>
 15. IAEA. (2023). *Manual on Mutation Breeding*. International Atomic Energy Agency, Vienna.
 16. Jan, S., Parween, T., Siddiqi, T. O., & Mahmooduzzafar. (2012). Effect of gamma radiation on morphological, biochemical and physiological aspects of plants and plant products. *Environmental Reviews*, 20(1), 17–39.
<https://doi.org/10.1139/a11-021>
 17. Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2010). Dietary roles of phytate and tannins in human nutrition. *Food Chemistry*, 120(4), 945–959.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.052>
 18. Latta, M. and Eskin, M. (1980). A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *Journal of agriculture and Food chemistry*, 28(6), 1313–1315.
<https://doi.org/10.1021/jf60232a049>
 19. Massey, L. K. (2007). *Food oxalate: Factors*

- affecting measurement, biological variation, and bioavailability. *Journal of the American Dietetic Association*, 107(7), 1191–1194. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2007.04.007>
20. Mayer, J.E, Pfeiffer, W.H and Beyer, P. (2008). Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. *Journal of current opinion in plant Biology*, 11 (2), 166 –170. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.01.007>
 21. Ministère du Plan et Suivi de la Mise en œuvre de la révolution de la modernité (MPSMRM) et Ministère de la Santé Publique (MSP), ICF International. (2014). Enquête Démographique et de Santé en République Démocratique du Congo 2013 – 2014 (EDS- RDC II). Kinshasa et Rockville
 22. Nardo, M., Saisana, M., Saltelli, A., Tarantola, S., Hoffman, A., & Giovannini, E. (2005). Handbook on constructing composite indicators :Methodology and User Guide. OECD Statistics Working Papers.
 23. Noonan, S. C., & Savage, G. P. (1999). Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 8(1), 64–74. <https://doi.org/10.1046/j.1440-6047.1999.00038.x>
 24. Obadoni, B. O., & Ochuko, P. O. (2001). Phytochemical studies and comparative efficacy of the crude extracts of some homeostatic plants in Edo and Delta states of Nigeria. *Global journal of pure and applied sciences*, 8(2), 203- 208
 25. OCDE.(2008). Handbook on constructing composite indicators:Methodology and User Guide.Paris :Organisation for Economic Co-operation and Development.
 26. Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
 27. Petry, N., Boy, E., Wirth, J. P., & Hurrell, R. F. (2023). The potential of food fortification and biofortification to reduce micronutrient deficiencies. *Nutrients*, 15, 2247. <https://doi.org/10.3390/nu15102247>
 28. Pfeiffer, W. H., & McClafferty, B. (2007). Biofortification: Breeding micronutrient-dense crops. *Plant Breeding Reviews*, 29, 93–171. <https://doi.org/10.1002/9780470168016.ch5>
 29. Raboy, V. (2009). Approaches and challenges to engineering seed phytate and total phosphorus. *Plant Science*, 177(4), 281–296. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.06.012>
 30. Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2021). Response of phenylpropanoid pathway and flavonoid biosynthesis under abiotic stress. *Molecules*, 26, 1355. <https://doi.org/10.3390/molecules26051355>
 31. Szerement, J., Szatanik-Kloc, A., Jarosz, Z., Bajda, T., & Mierzwa-Hersztek, M. (2022). Nutritional quality and antinutritional factors in legumes: A review. *Agronomy*, 12(10), 2335. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102335>