

Méthode d'analyse

d'évaluation de la qualité des semences

Référence : M-GEVES/SP/GER/MO/008

Version : 1

Juillet 2021

Analyse de la faculté germinative de *Lupinus albus* L., *Lupinus angustifolius* L., *Lupinus luteus* L. (Lupin blanc, Lupin bleu, Lupin jaune)

Groupe d'étude et de contrôle des variétés et des semences (GEVES) – Station Nationale d'Essais de Semences (SNES)

Laboratoire National de Référence dans le domaine de la certification des semences et plants

Le présent document est, sous sa forme électronique, mis à la disposition des utilisateurs en tant que méthode d'analyse. Ce document est la propriété du GEVES. Toute reproduction, qu'elle soit totale ou partielle, n'est autorisée qu'à la condition expresse que la source soit citée : GEVES, Méthode d'analyse d'évaluation de la qualité des semences, Analyse de la faculté germinative de *Lupinus albus* L., *Lupinus angustifolius* L., *Lupinus luteus* L. (Lupin blanc, Lupin bleu, Lupin jaune); M-GEVES/SP/GER/MO/008, 1 ; ©2021

Historique de la méthode

Modification majeure : une modification majeure est une modification qui porte sur le domaine d'application de la méthode, sur un point critique de la méthode et qui peut avoir une influence sur la qualité du résultat dans la mesure où elle modifie les critères de performance de la méthode. Avant de valider une modification majeure, une étape de validation partielle ou totale est nécessaire.

Modification mineure : une modification mineure est une modification qui n'influence pas les critères de performance de la méthode. Il s'agit de modification de type correction mineure, précision, reformulation. Une modification mineure ne nécessite pas de validation.

Tableau récapitulatif

Version	Date	Type de modification	Principales modifications
1	Juillet 2021		

Sommaire

1. Introduction	4
1.1. <i>Validation de la méthode</i>	4
1.2. <i>Caractéristiques de performance de la méthode</i>	4
2. Avertissements et précautions de sécurité	5
3. Objet et domaine d'application	6
4. Termes, sigles et définitions	6
5. Principe de la méthode	6
6. Réactifs et consommables	7
6.1. <i>Eau désionisée</i>	7
6.2. <i>Substrat sable</i>	7
7. Matériel	7
7.1. <i>Germoir</i>	7
7.2. <i>Chambre ou enceinte climatique avec lumière</i>	7
7.3. <i>Matériel de prélèvement et de comptage des semences</i>	7
8. Echantillons	7
8.1. <i>Taille, conditionnement</i>	7
8.2. <i>Conservation</i>	7
8.3. <i>Critères d'acceptation</i>	7
9. Mode opératoire	8
9.1. <i>Mise en place de l'essai dans un sable humidifié</i>	8
9.2. <i>Incubation de l'essai</i>	8
9.3. <i>Lecture des résultats</i>	8
10. Résultats	9
10.1. <i>Calcul des résultats :</i>	9
10.2. <i>Tolérances</i>	9
10.3. <i>Expression des résultats</i>	9
10.4. <i>Erreur de comptage</i>	10
10.5. <i>Conditions de reprise de l'essai de germination</i>	10
11. Devenir des reliquats d'échantillon après analyse	10
12. Annexes	11
12.1. <i>Bibliographie</i>	11
12.2. <i>Crédits (photos)</i>	11

1. Introduction

La faculté germinative est un des critères clés évalué dans le cadre de la certification des lots de semences. Elle a pour objet de donner une indication sur le potentiel de germination d'un lot de semences. La faculté germinative obtenue est comparée aux normes en vigueur pour déterminer si un lot peut être certifié ou non.

1.1. Validation de la méthode

Cette méthode a été mise au point et validée au niveau de l'ISTA (International Seed Testing Association).

1.2. Caractéristiques de performance de la méthode

NC

2. Avertissements et précautions de sécurité

S'agissant d'une méthode de laboratoire, il est du ressort de l'utilisateur de la présente méthode d'appliquer cette méthode dans le respect des bonnes pratiques de laboratoires. L'utilisateur est responsable de l'application des règles d'hygiène et de sécurité en conformité avec la réglementation en vigueur.

En particulier il est attiré l'attention sur le travail en condition d'exposition à des semences traitées. L'utilisateur de la présente méthode, conscient des risques associés, s'engage à s'assurer du port d'équipements de protection individuelle et/ou d'utilisation d'équipements de protection collective en fonction des risques associés aux produits de traitement appliqués sur les semences.

A l'issue des essais, il est de la responsabilité de l'utilisateur de la présente méthode de s'assurer de l'élimination des déchets dans le respect des obligations légales a minima et en visant à limiter au maximum l'impact de l'activité sur l'environnement.

Dans le cas où la méthode nécessite l'emploi de matériel, l'utilisation de tout matériel doit être faite dans le respect des prescriptions du fabricant.

3. Objet et domaine d'application

Cette méthode permet de déterminer le potentiel de germination d'un lot de semences de l'espèce considérée. Ce potentiel de germination est exprimé en pourcentage de plantules normales.

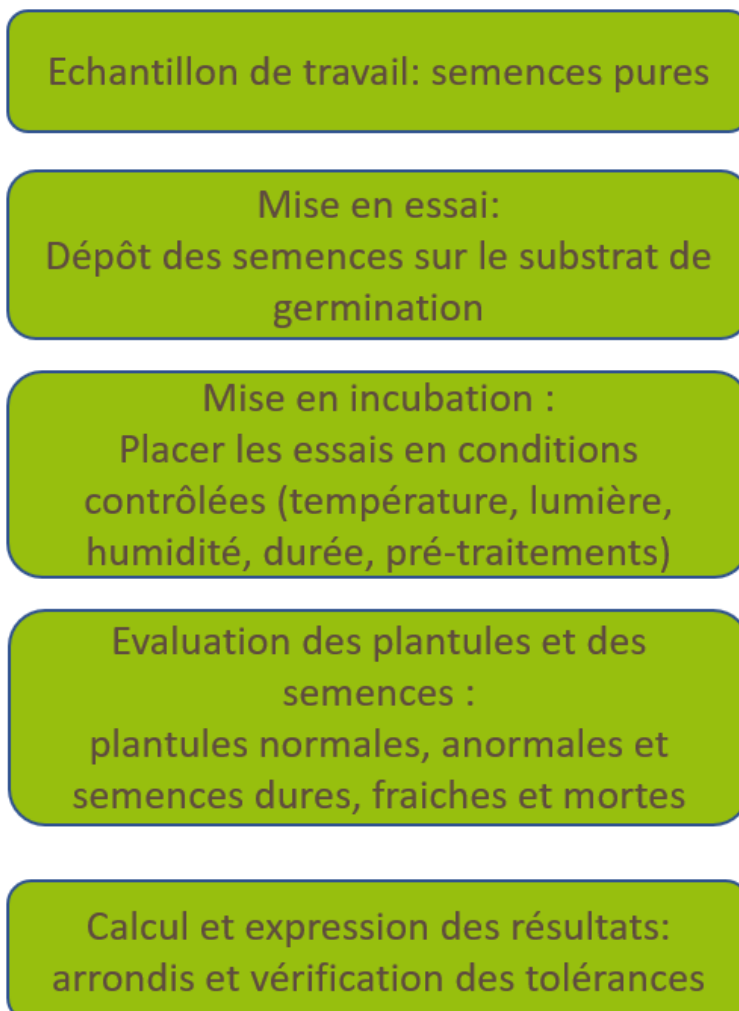
Cette méthode s'applique pour l'espèce *Lupinus albus L.*, *Lupinus angustifolius L.*, *Lupinus luteus L.* (Lupin blanc, lupin bleu et lupin jaune)

4. Termes, sigles et définitions

ISTA : International Seed Testing Association

5. Principe de la méthode

La méthode peut être décrite de la façon suivante :



6. Réactifs et consommables

6.1. Eau désionisée

Le pH est compris entre 6 et 7.5 (cf Règles ISTA, Chap. 5.4.4.1).

6.2. Substrat sable

La granulométrie attendue est : au moins 90 % des particules doivent passer au travers un tamis à trous ronds ou mailles de 2.0 mm de large). (cf Règles ISTA, Chap. 5.4.3.2)

7. Matériel

7.1. Germeoir

(fond + couvercle) permettant de contenir la quantité de substrat nécessaire

7.2. Chambre ou enceinte climatique avec lumière

Celle-ci est préalablement caractérisée pour l'homogénéité de sa température dans son espace, et possédant des sondes ou thermomètres permettant un suivi quotidien et régulier de la température (cf. ISTA Handbook on Seedling Evaluation A5.6).

7.3. Matériel de prélèvement et de comptage des semences

(par exemple tête de comptage par aspiration). Les semences ne doivent pas être sélectionnées lors de l'utilisation de la tête de comptage au risque d'avoir une influence sur le résultat de l'analyse (cf. règles ISTA chap. 5.5.2 et ISTA Handbook on Seedling Evaluation Chap.4.1.2.3).

8. Echantillons

8.1. Taille, conditionnement

L'échantillon de travail correspond à 1250 semences pures
Les échantillons sont conditionnés en sachet en papier.

8.2. Conservation

Les échantillons sont stockés dans un endroit frais et sec (soit autour de 10°C et 50% d'hygrométrie) (cf. Règles ISTA Chap. 2.5.3) avant leur mise en germination.

8.3. Critères d'acceptation

L'échantillon doit contenir un minimum de 400 semences pures

9. Mode opératoire

9.1. Mise en place de l'essai dans un sable humidifié

- Préparer les germinoirs pour les 4 répétitions de 100 semences ou 16 germinoirs pour les sous répétitions de 25 semences de la façon suivante :
- Humidifier le sable avec de l'eau (par exemple sable SIBELCO type NE 34, humidifié à 9% de la MS) (Point de contrôle : Contrôler le sable pour sa granulométrie, son absence de toxicité et sa rétention en eau (cf. règles ISTA Chap. 5.4.5, ISTA Handbook on Seedling Evaluation 4.2, A5.3, A5.6) ; puis déposer une couche de sable au fond du germinoir (soit par exemple 2.8 cm et 650 g pour un germinoir de dimension Longueur 18 x Largeur 12 x hauteur 5.5 cm).
- Réaliser le semis à l'aide de la tête de comptage
- Tasser légèrement pour maintenir les semences sur le substrat.
- Recouvrir les semences (soit par exemple une couche supérieure de 2.0 cm et 600 g pour un germinoir de dimension Longueur 18 x Largeur 12 x hauteur 5.5 cm) et couvrir la boîte par un couvercle (par exemple Longueur 18 x Largeur 12 x hauteur 10.5 cm)

9.2. Incubation de l'essai

- Placer les germinoirs dans une enceinte ou chambre climatisée
- La température doit être de 20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) constant (cf. Règles ISTA Chap. 5.6.2.3) au niveau des semences pendant toute la durée de l'essai.
- Une photopériode de 8h par 24 heures est appliquée pendant toute la durée de l'essai (cf. Règles ISTA Chap. 5.6.2.4)
- Lupin blanc et bleu : La durée de l'essai est de 10 jours.
- Lupin jaune : La durée de l'essai est de 21 jours.
- Si au bout de cette durée, les plantules ne sont pas assez développées pour permettre une évaluation correcte, l'essai peut être prolongé de 1 à 7 jours supplémentaires pour le lupin blanc et bleu, de la moitié de la durée de l'essai soit 10 ou 11 jours pour la lupin jaune (cf. Règles ISTA, Chap. 5.6.4)

9.3. Lecture des résultats

Au terme de l'essai, une évaluation des plantules et semences non germées est réalisée selon les règles ISTA et le ISTA Handbook on Seedling Evaluation – *section 18 : Type F – Groupe A .2.1.2.2* :

- Définition du groupe A.2.2.2
 - o A : Espèces agricoles ou horticoles
 - o 2 : Dicotylédone
 - o 1 : Germination épigée
 - o 2 : Elongation de l'épicotyle
 - o 2 : Les racines secondaires peuvent compenser un défaut de racine principale



Fig. 1. Plantule normale de Lupin

Pour chaque répétition indiquer : le nombre de plantules normales, de plantules anormales, de semences dures, de semences fraîches et de semences mortes.

10. Résultats

Les résultats obtenus à l'aide des 16 sous-répétitions de 25 semences doivent être rapportés en 4 répétitions de 100 semences

L'homogénéité des résultats par répétition est vérifiée à l'aide des tables de tolérance (cf. règles ISTA Chapitre 5, Tableau 5B).

Si les résultats des répétitions ne sont pas homogènes, l'essai de germination doit être repris.

10.1. Calcul des résultats :

Le calcul de la moyenne des 4 répétitions est réalisé pour exprimer en pourcentage (%) :

Le % de plantules normales, le % de plantules anormales, le % de semences dures, le % de semences fraîches et le % de semences mortes.

Les pourcentages de chaque catégorie de plantules et de semences sont arrondis en nombres entiers selon une procédure décrite dans les Règles ISTA Chap. 5.8.2.

10.2. Tolérances

La tolérance entre les essais doit être vérifiée selon les Règles ISTA Chap. 5.8.1. et en se référant aux tableaux suivants :

- Entre deux essais : Tableau 5C
- Entre trois essais : Tableau 5D
- Entre quatre essais : Tableau 5E

Si l'écart observé entre les résultats des répétitions est supérieur aux tolérances, l'essai de germination doit être repris.

10.3. Expression des résultats

Le résultat de l'essai est exprimé en % de plantules normales, en % de plantules anormales, en % de semences dures, en % de semences fraîches et en % de semences mortes.

10.4. Erreur de comptage

Au cas où le total des % n'est pas strictement égal à 400, si l'erreur est de plus de 5 semences (en plus ou en moins) au cours de l'essai de germination (c'est-à-dire $\pm 1.25\%$ sur un total de 400 semences) l'essai doit être repris (ne pas appliquer cette règle pour 200 semences).

10.5. Conditions de reprise de l'essai de germination

Plusieurs facteurs peuvent générer une reprise de l'essai de germination. Ces facteurs sont les suivants :

- Problème physiologique ou biologique
- Phytotoxicité
- Interaction avec l'état sanitaire
- Incident technique ou erreurs de comptage ± 5 semences
- Homogénéité entre répétitions de l'essai
- Incompatibilité entre essais

11. Devenir des reliquats d'échantillon après analyse

Les échantillons sont stockés au minimum 1 an après la date de l'analyse dans un endroit frais et sec (cf. Règles de l'ISTA Chap. 2.5.3).

12. Annexes

12.1. Bibliographie

- Règles de L'ISTA version 2020.
- ISTA Handbook on Seedling Evaluation (4^{ième} édition)

12.2. Crédits (photos)

Fig. 1. Plantules normales de Lupin © GEVES – Mars 2020 Tous droits réservés.