

Méthode d'analyse d'évaluation de la qualité des semences

Référence : M-GEVES/SP/PHY/MO/004

Version : 1

Juillet 2021

Détermination en nombre de semences d'Orobanches (dénombrement d'Orobanches)

**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, Détermination en nombre de semences d'Orobanches (dénombrement d'orobanches) ; M-GEVES/SP/PHY/MO/004, 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	7
7. Matériel	7
7.1. <i>Balance</i>	7
7.2. <i>Coupelle de lecture</i>	7
7.3. <i>Matériel de manipulation des semences</i>	7
7.4. <i>Tamisage</i>	7
7.5. <i>Matériel de grossissement</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
10. Résultats	9
10.1. <i>Expression et report des résultats (Règles ISTA, Chap. 4)</i>	9
10.2. <i>Conditions de réalisation du complément d'analyse (Cf. DIR UE 2002/57/CE et Règlements techniques)</i>	9
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

Certaines espèces d'Orobanche sont des parasites de la racine pouvant causer une diminution très significative du rendement des cultures des plantes hôtes. Ces semences ont généralement une longueur inférieure à 0,6 mm et une largeur de 0,1 à 0,5 mm. Elles ont tendance à adhérer aux semences des plantes cultivées et autres surfaces. L'identification des Orobanches nécessite une analyse sous microscope et la reconnaissance visuelle du genre Orobanche. L'identification jusqu'à l'espèce n'est pas possible visuellement.

Le résultat est indiqué en nombre de semences d'*Orobanche* spp. présentes dans le poids analysé.

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 s'assure 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 nombre de semences d'*Orobanche* spp. présentes dans un échantillon d'un poids défini.

Cette méthode s'applique pour les espèces suivantes :

- *Cannabis sativa* L./Chanvre (monoïque et dioïque)
- *Carthamus tinctorius* L./Carthame

La méthode décrite dans ce document n'est pas applicable sur semences traitées et/ou enrobées.

4. Termes, sigles et définitions

ISTA : International Seed Testing Association

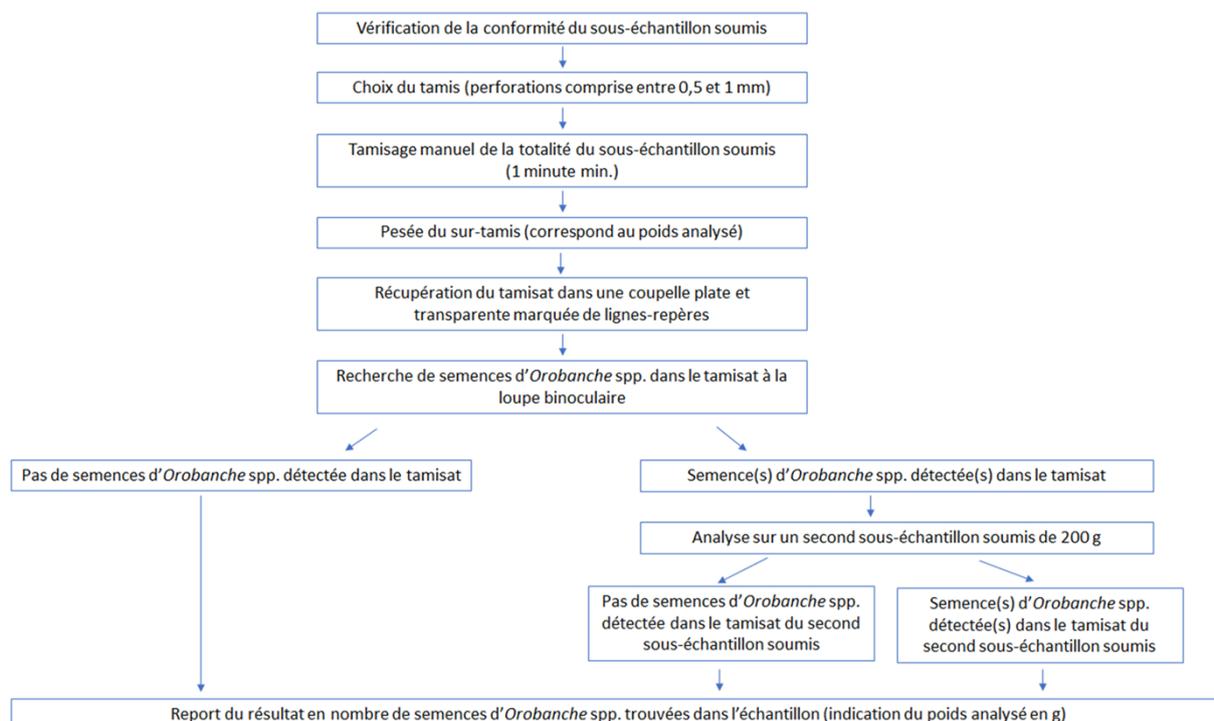
Echantillon soumis : échantillon devant être soumis au laboratoire d'essai et qui peut être constitué soit de la totalité de l'échantillon global soit d'un sous-échantillon de ce dernier (Règles ISTA).

Sous-échantillon soumis : l'échantillon soumis peut être divisé en sous-échantillons emballés séparément pour les essais spécifiques (Règles ISTA).

Complément d'analyse : 2nde analyse réalisée à partir d'un second sous-échantillon soumis en complément d'une 1^{ère} analyse afin de compléter le résultat.

5. Principe de la méthode

L'objectif de l'analyse de dénombrement d'*Orobanche* est la détermination en nombre de semences d'*Orobanche* spp. dans un sous-échantillon soumis. La détermination des espèces d'*Orobanche* spp. est décrite au chapitre 4 des Règles ISTA.



6. Réactifs

NC

7. Matériel

7.1. Balance

Précision de 0,001 g minimum

7.2. Coupelle de lecture

Coupelle plate (type boîte de pétri), en verre (pour limiter les phénomènes électrostatiques), d'environ 10 cm de diamètre et dont le fond est marqué de lignes repères fines, séparées d'environ 1cm.

7.3. Matériel de manipulation des semences

Pincés, scalpel, spatules

7.4. Tamisage

Tamis métalliques (perforation de 0,5 à 1 mm de diamètre) ou tamiseuse automatique

7.5. Matériel de grossissement

Loupe binoculaire avec au minimum un grossissement $\times 10$

8. Echantillons

L'analyse est réalisée sur un sous-échantillon soumis.

8.1. Taille, conditionnement

L'analyse est réalisée sur un sous-échantillon soumis de 100 g minimum. Celui-ci doit être pesé en grammes avec une décimale reportée.

La détermination d'Orobanche nécessite un sous-échantillon soumis séparé et scellé. L'analyse est réalisée sur la totalité du poids. Il est recommandé d'utiliser des sachets en papier car le plastique produit des phénomènes électrostatiques.

8.2. Conservation

Les échantillons sont stockés dans un endroit frais et sec.

8.3. Critères d'acceptation

Les échantillons de travail répondent aux exigences énoncées au point 8.1.

9. Mode opératoire

L'échantillon de travail pour l'analyse visuelle de la présence d'espèces d'Orobanche est obtenu par tamisage à sec de la totalité du poids du sous-échantillon soumis. Cette méthode est décrite dans le chapitre 4 des Règles ISTA.

1. Choisir un tamis de diamètre inférieur à celui de l'espèce analysée et ne laissant passer que les impuretés les plus fines (Cf. Matériel et Fig. 1). Le couvercle et le sous-tamis doivent être de la même taille que le tamis.



Fig. 1 : Exemple de tamis utilisé pour la recherche d'*Orobanche* spp. dans des échantillons de chanvre.

2. Vider les semences dans le tamis et mettre le couvercle.
3. Tamiser l'échantillon pendant 1 minute minimum (manuellement ou à l'aide d'une machine).
4. Peser le sur-tamis (partie restée dans le tamis) et reporter le poids avec 1 décimale. Le sous-tamis (fraction passée par les trous du tamis), appelé également tamisat, n'est pas pesé.
5. Collecter le tamisat au fond du plateau collecteur à l'aide d'un pinceau fin.
6. Examiner visuellement la fraction du tamisat .
 - Répartir le tamisat dans une coupelle plate transparente marquée de lignes-repères (Fig. 2) à l'aide d'un scalpel.



Fig. 2 : Exemple de coupelle présentant des lignes-repères pour aider à la recherche de semences d'*Orobanche* spp. dans le tamisat.

- Rechercher les semences d'*Orobanche* spp. dans le tamisat à la loupe binoculaire, en écartant si nécessaire les débris végétaux et en faisant défiler le champ d'observation d'un côté à l'autre de la coupelle entre deux lignes-repère (Fig. 3).



Fig. 3 : Loupe binoculaire utilisée pour la recherche et l'identification de semences d'*Orobanche* spp.

7. Si la présence d'une semence d'*Orobanche* spp. est suspectée, augmenter le grossissement autant que nécessaire pour vérifier l'identification. Afin de conserver la semence, il est conseillé de la coller sur un ruban adhésif transparent.
8. Faire confirmer l'identification de semences d'*Orobanche* spp. par un second analyste qualifié.
9. Compter le nombre de semences d'*Orobanche* spp. dénombré dans l'échantillon
10. Reporter le résultat (même si égal à 0)
11. Si une ou plusieurs semence(s) d'*Orobanche* spp. ont été trouvées dans l'échantillon, effectuer un complément d'analyse sur un second échantillon de 200 g minimum.

10. Résultats

10.1. Expression et report des résultats (Règles ISTA, Chap. 4)

Le résultat obtenu est exprimé en nombre de semences d'*Orobanche* spp. trouvé dans la quantité examinée.

Les résultats de la détermination en nombre des semences d'*Orobanche* spp. doivent être reportés selon les indications suivantes :

- Le poids de l'échantillon analysé reporté avec 1 décimale.
- L'identification jusqu'à l'espèce étant impossible visuellement, il est reporté *Orobanche* spp..
- Le nombre de semences d'*Orobanche* spp. trouvé dans le poids analysé (même si égal à 0).

10.2. Conditions de réalisation du complément d'analyse (Cf. DIR UE 2002/57/CE et Règlements techniques)

En cas de détection d'une semence d'*Orobanche* spp. dans un échantillon de 100 g, un complément d'analyse sur un second échantillon de 200 g est effectué. En effet, selon la directive européenne (DIR UE 2002/57/CE), une semence d'*Orobanche* spp. n'est pas considérée comme une impureté si un second échantillon de 200 g en est exempt.

11. Devenir des reliquats d'échantillon après analyse

Les reliquats d'analyses sont conservés 1 an minimum dans un endroit frais et sec.

12. Annexes

12.1. Bibliographie

- Règles de l'ISTA version 2020
- Directives européennes de commercialisation des semences (DIR UE 2002/57/CE) version en vigueur au 1^{er} juillet 2020.
- Règlements techniques de la production, du contrôle et de la certification des semences version en vigueur au 1^{er} juillet 2020.

12.2. Crédits (photos)

Fig. 1 : Exemple de tamis utilisé pour la recherche d'*Orobanche* spp. dans des échantillons de chanvre. © GEVES – Juillet 2020 Tous droits réservés.

Fig. 2 : Exemple de coupelle présentant des lignes-repères pour aider à la recherche de semences d'*Orobanche* spp. dans le tamisat © GEVES – Juillet 2020 Tous droits réservés

Fig. 3 : Loupe binoculaire utilisée pour la recherche et l'identification de semences d'*Orobanche* spp. © GEVES – Juillet 2020 Tous droits réservés