

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

Référence : M-GEVES/SP/PHY/MO/005

Version : 1

Décembre 2022

Méthode de détermination de l'amertume sur Lupin (*Lupinus* spp.)

**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, Méthode de détermination de l'amertume sur Lupin (*Lupinus* spp.); M-GEVES/SP/PHY/MO/005, 1 ; ©2022

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	Décembre 2022		Création

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 (Règles ISTA, Chap.8.).....	7
6. Matériel.....	8
7. Echantillon soumis	9
7.1. <i>Taille de l'échantillon soumis</i>	9
7.2. <i>Conservation de l'échantillon soumis avant analyse</i>	9
8. Mode opératoire (Règles ISTA, Chap.8.).....	9
9. Résultats	10
10. Devenir des reliquats d'échantillon après analyse	10
11. Annexes.....	11
11.1. <i>Bibliographie</i>	11
11.2. <i>Crédits (photos)</i>	11

1. Introduction

A l'état naturel spontané, le lupin est une fabacée très amère, ce caractère lui permet de se protéger efficacement contre les prédateurs. Depuis 1930, des variétés de lupins blancs doux ont été créés et dès 1976, seules les variétés douces seront cultivées. La détermination de l'amertume est devenue un caractère obligatoire lors d'une inscription variétale ainsi que pour la certification d'un lot de semences.

Ce critère peut être évalué en libérant les alcaloïdes potentiellement présents dans les semences, en générant sur ces dernières une « blessure » avant de les laisser tremper individuellement dans l'eau osmosée. L'objectif est de faire réagir les alcaloïdes (si présents) avec une solution de Lugol afin d'observer ou non la formation d'un précipité brun (présence d'amertume).

Le résultat est indiqué en pourcentage de semences amères dans l'échantillon.

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 pourcentage de semences amères de Lupin (*Lupinus* spp.) dans un échantillon de 200 semences minimum.

Cette méthode s'applique pour toutes les espèces de Lupin (*Lupinus* spp.)

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

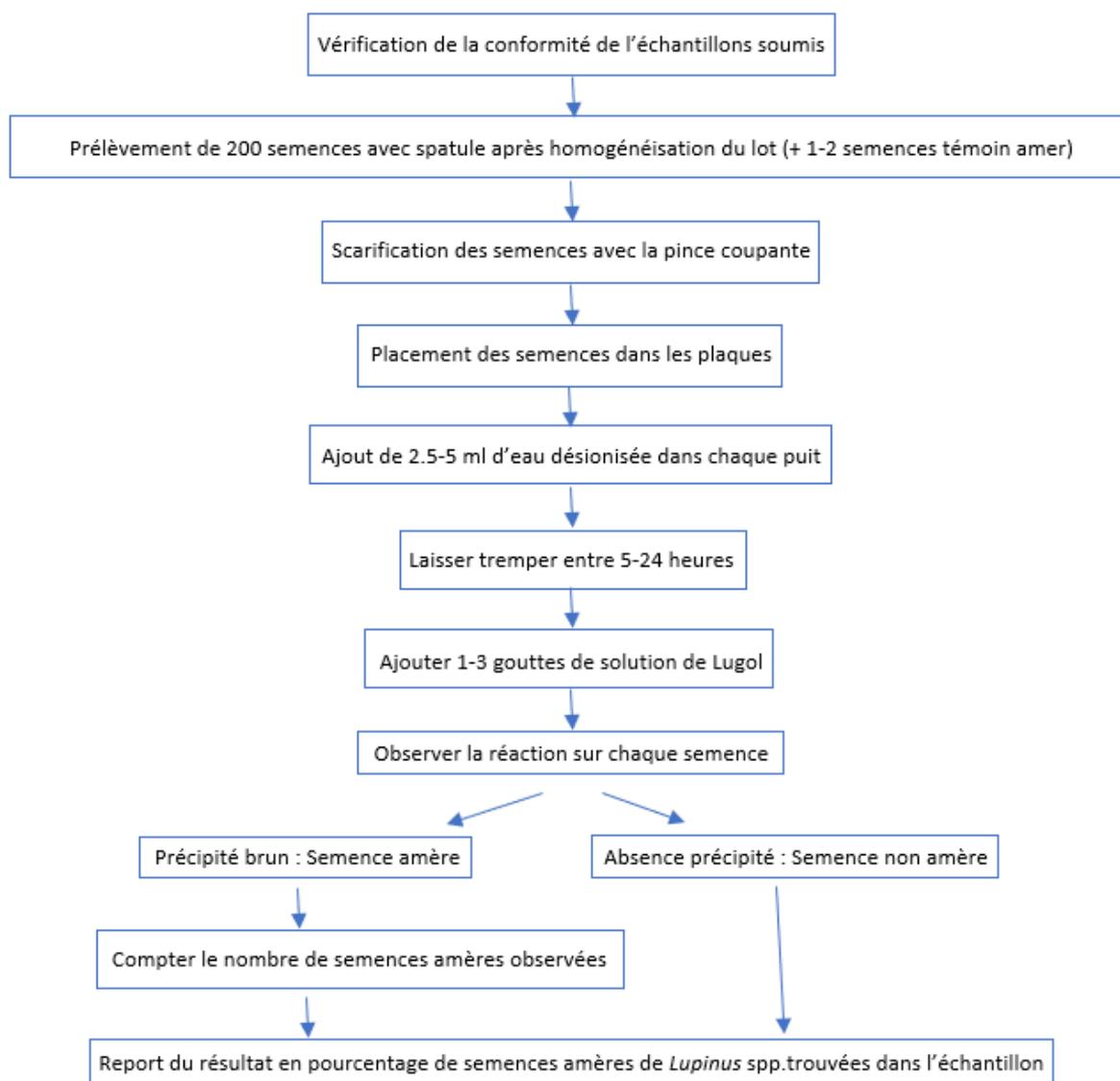
4. Termes, sigles et définitions

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).

5. Principe de la méthode (Règles ISTA, Chap.8.)

L'objectif du test d'amertume du Lupin est de déterminer le pourcentage de semences amères observées dans un échantillon soumis de *Lupinus* spp. La détermination de l'amertume de *Lupinus* spp. est décrite au chapitre 8.8.2 des Règles ISTA.



6. Matériel

- Récipients pour individualiser 200 semences (ici plaques alvéolées)
- Spatule triangulaire (homogénéisation du lot avant prélèvement des semences)
- Pince coupante (scarification des semences)
- Micropipette 5000 μ l
- Eau désionisée
- Gants
- Compte-gouttes contenant une Solution de Lugol à 1 % (1g iode + 2g iodure de potassium dans 100ml d'eau désionisée)



Fig. 1 : Plaques alvéolées 100 trous, pipette 5000 μ l, pince coupante et eau osmosée



Fig. 2 : Gants et spatule 1%)



Fig. 3 : Iode et Iodure de potassium (Solution de Lugol 1%)

7. Echantillon soumis

7.1. Taille de l'échantillon soumis

L'analyse est réalisée sur un échantillon soumis de 1000g minimum (Règles ISTA, Chap. 8), l'échantillon de travail doit comporter 200 semences minimum.

7.2. Conservation de l'échantillon soumis avant analyse

Les échantillons sont stockés dans un endroit frais et sec.

8. Mode opératoire (Règles ISTA, Chap.8.)

L'échantillon de travail pour l'analyse visuelle de la présence de l'amertume du Lupin est obtenu par homogénéisation à la spatule de l'ensemble de l'échantillon soumis puis par prélèvement-comptage des semences nécessaires à l'essai.

- Compter et prélever avec la spatule les 200 semences au hasard après homogénéisation du lot
- Scarifier chaque semence avec la pince coupante, placer les semences individuellement dans les plaques alvéolées
- Préparer à part dans un bécher le témoin Amer : 1-2 semences provenant d'un échantillon Amer stocké à 4°C.
- Ajouter 2.5 - 5.0 ml d'eau désionisée à l'aide d'une micropipette pour chaque semence
- Laisser imbiber 5 à 24 heures à température ambiante (couvrir le test si préparé la veille au soir)
- Ajouter 1 à 3 gouttes d'une solution de Lugol à 1 %, observer le résultat obtenu par semence :
 - Absence de précipité : Semence non amère
 - Présence de précipité brun-rouge : Semence amère

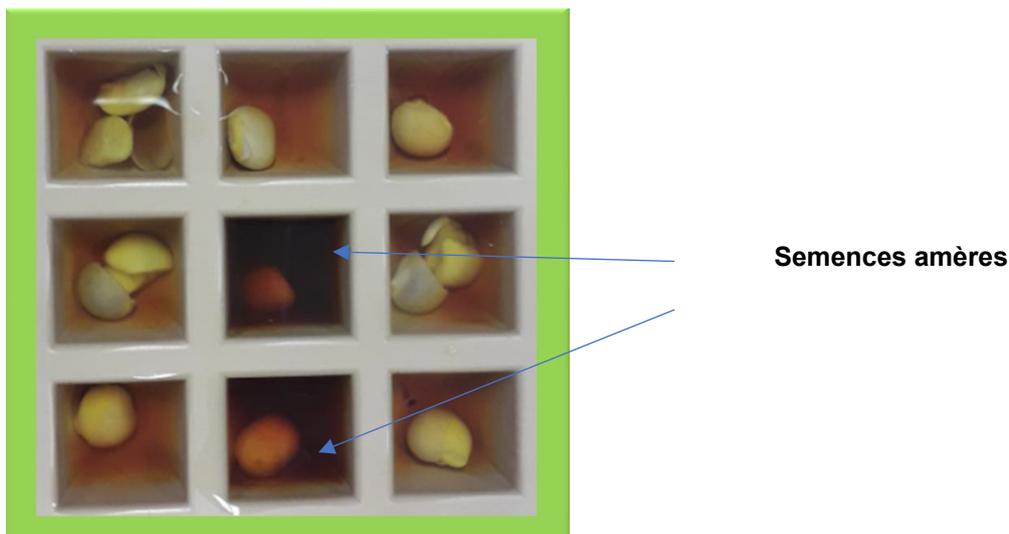


Fig. 4 : Extrait d'une plaque avec un échantillon de Lupin présentant de l'amertume

- Pour chaque semence étudiée : noter la présence ou l'absence de précipité.

- Reporter le résultat final exprimé en % de semences amères dans l'échantillon.

9. Résultats

Expression et report des résultats

Le nombre de semences amères observé sur l'ensemble de l'échantillon (même si égal à 0) permet alors le calcul du pourcentage de semences amères observé dans l'échantillon.

Le résultat final est exprimé en pourcentage de semences amères de *Lupinus* spp. observées dans la quantité examinée.

10. Devenir des reliquats d'échantillon après analyse

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

11. Annexes

11.1. Bibliographie

- Règles de l'ISTA version 2022
- Directives européennes de commercialisation des semences (DIR UE 2002/57/CE)
- Règlement technique de la production et du contrôle des semences et plants des variétés de conservation de plantes agricoles homologué par arrêté du 16/12/2008 paru au JO du 06/01/2009 (pris en application de la directive 2008/62/CE du 20 juin 2008)

11.2. Crédits (photos)

Fig. 1. Plaques alvéolées 100 trous, pipette 5000 µl, pince coupante et eau osmosée © GEVES – Décembre 2022 Tous droits réservés.

Fig. 2. Gants et spatule © GEVES – Décembre 2022 Tous droits réservés.

Fig. 3. Iode et Iodure de potassium (Solution de Lugol 1%) © GEVES – Décembre 2022 Tous droits réservés.

Fig. 4. Extrait d'une plaque avec un échantillon de Lupin présentant de l'amertume © GEVES – Décembre 2022 Tous droits réservés.