

1. Objet et domaine d'application

L'objet de l'essai de germination est de déterminer le potentiel de germination d'un lot de semences, qui peut être utilisé pour comparer la qualité des différents lots et pour estimer leur valeur en vue du semis au champ.

Pour plus de détails, se référer aux règles ISTA chapitre 5 « essai de germination » et au « cahier des charges destiné aux laboratoires pour la vérification de la conformité des lots de semences de céréales présentes à la certification ».

Cette instruction est applicable aux céréales et aux graines de légumineuses.

2. Définitions

2.1 Germination

On entend par germination d'une semence, l'apparition d'une plantule puis son développement jusqu'à un stade où l'aspect de ses organes essentiels indique si elle aurait été ou non capable de donner ultérieurement une plante satisfaisante dans des conditions favorables au champ.

2.2 Pourcentage de germination

Le pourcentage de germination reporté sur le bulletin indique la proportion en nombre de semences qui ont produit des plantules classées comme normales dans les conditions et dans les délais spécifiés dans le tableau 1, à savoir le pourcentage de plantules normales.

2.3 Organes essentiels des plantules

Une plantule est constituée par une combinaison particulière, variable selon l'espèce analysée, de certains organes suivants qui sont essentiels pour son développement ultérieur en une plante satisfaisante :

- système racinaire (racine principale ; dans certains cas racines séminales)
- partie aérienne (hypocotyle, épicotyle ; chez certaines Poaceae mésocotyle ; bourgeon terminal)
- cotylédons (un ou plusieurs)
- coléoptile (chez tous les Poaceae)

2.4 La règle des 50%

La règle des 50% est utilisée lors de l'évaluation des cotylédons et des préfeuilles.

Cotylédons :

- une plantule est considérée comme normale dès lors que plus de la moitié de la totalité du tissu cotylédonnaire est fonctionnelle
- une plantule est anormale lorsque plus de la moitié du tissu cotylédonnaire est manquant, nécrosé, pourri ou décoloré

Préfeuilles

- les préfeuilles doivent être évaluées chez certaines espèces comme Phaseolus
- une plantule est considérée comme normale dès lors que plus de la moitié du tissu des préfeuilles est fonctionnel
- une plantule est anormale lorsque plus de la moitié du tissu des préfeuilles est manquant, nécrosé, pourri ou décoloré

La règle des 50% ne s'applique pas si les deux points d'attache des cotylédons sur l'axe de la plantule ou le bourgeon terminal lui-même est nécrosé ou pourri ; dans ce cas la plantule est anormale quelque soit l'état des cotylédons ou des préfeuilles. Elle ne s'applique pas non plus si le point d'attache d'un cotylédon est nécrosé ou pourri et si l'autre cotylédon n'est pas intact ; dans ce cas la plantule est aussi anormale.

2.5 Plantules normales

Sont normales les plantules qui présentent une aptitude à évoluer régulièrement en une plante satisfaisante si on les élève dans un sol de bonne qualité et dans des conditions favorables d'humidité, de température et de lumière. Pour être classée comme normale, une plantule doit être conforme à l'une des catégories suivantes :

Plantules intactes : plantules dont tous les organes essentiels sont bien développés, complets, bien proportionnés et sains

Plantules avec de légers défauts : plantules présentant certains défauts légers au niveau de leurs organes essentiels, moyennant qu'elles présentent par ailleurs un développement satisfaisant et équilibré comparable à celui des plantes intactes du même essai.

Plantules atteintes d'une infection secondaire : plantules qui, de toute évidence, auraient pu être conformes aux catégories ci-dessus, mais qui ont été infectées par des champignons ou des bactéries provenant de sources autres que les semences mères.

2.6 Plantules anormales

Sont anormales les plantules qui ne montrent pas d'aptitude à évoluer en une plante normale si on les élève dans un sol de bonne qualité et sous des conditions favorables d'humidité, de température et de lumière. Les plantules suivantes sont classées comme anormales :

- plantules endommagées : plantules ayant un des organes essentiels manquant, ou endommagé si fortement et d'une manière si irréparable que l'on ne peut en escompter un développement équilibré
- plantules déformées ou déséquilibrées : plantules ayant un développement faible ou des troubles physiologiques ou dont les organes essentiels sont déformés ou disproportionnés
- plantules nécrosés : plantules dont l'un des organes essentiels est tellement malade ou tellement pourri par suite d'une infection primaire qu'elles ne peuvent se développer normalement

2.7 Semences multigermes

Plusieurs types de semences peuvent produire plusieurs plantules :

- semences contenant plus d'une graine
- graines contenant plusieurs embryons
- embryons soudés. Parfois, une même semence produit deux plantules qui sont soudées l'une à l'autre

Lorsqu'une semence produit plus d'une plantule, alors les plantules doivent être évaluées séparément. Une plantule normale suffit pour classer la semence comme normale.

Si une semence produit plus d'une plantule normale, une plantule seulement doit être comptée pour déterminer le pourcentage de germination.

2.8 Semences non germées

Les semences qui n'ont pas germé au terme d'un essai mené dans les conditions données au tableau 1, sont classées de la façon suivante :

- semences dures : semences qui restent dures à la fin de la période d'essai parce qu'elles n'ont pas absorbé l'eau
- semences fraîches : semences, autres que les semences dures, qui n'ont pas germé dans les conditions de l'essai de germination car dormantes, mais qui restent propres et fermes et qui conservent le potentiel de se développer en une plantule normale
- semences mortes : semences qui, à la fin de la période d'essai, ne sont ni dures ni fraîches et n'ont produit aucun élément de plantule
- autres catégories

2.9 Plantule

Embryon de la graine puis jeune plante issue de son développement

2.10 Cotylédon

Première(s) feuille(s) d'un embryon ou d'une plantule

3.Appareillage – supports de culture

3.1 Support de culture papier

Le papier doit répondre aux exigences suivantes

- les racines des plantules devront pousser à la surface du papier sans y pénétrer
- il doit être suffisamment résistant pour lui permettre de ne pas se déchirer lors des manipulations en cours d'essai

3.2 Support de culture sable

Au moins 90% des particules doit passer à travers un tamis à trous ronds ou à mailles de 2.0 mm de large. Si les caractéristiques de taille des particules données par le fournisseur sont conformes à ces spécifications, alors le laboratoire n'a pas besoin de réaliser un contrôle de taille des particules de sable. En l'absence de spécifications fournies par le fournisseur, le laboratoire doit contrôler la taille des particules de chaque livraison de sable reçue.

3.3 Eau

De l'eau déminéralisée ou désionisée, de l'eau du robinet ou de l'eau de source sont le plus souvent utilisées et permises.

Propreté : l'eau utilisée pour humidifier les substrats doit être raisonnablement exempte d'impuretés, organiques ou inorganiques

pH : le pH de l'eau doit être compris entre 6.0 et 7.5 lorsque le contrôle est réalisé dans le substrat, à moins de montrer qu'un pH en dehors de cette plage n'a pas d'incidence négative sur les résultats d'essais de germination

3.4 Contenants

Tous types de contenants en plastique, en verre, en métal ou des pots peuvent être utilisés moyennant qu'ils ne présentent pas d'effets toxiques et qu'ils soient propres et indemnes de micro-organisme.

3.5 Chambre de germination

La chambre de germination est utilisée pour la germination des semences à l'obscurité ou à la lumière, ou pour apporter aux semences les prétraitements de levée de dormance, comme la pré-réfrigération.

La chambre de germination est une variante de l'armoire de germination dont la taille est telle qu'elle permet aux employés d'y entrer et d'y disposer les essais à l'intérieur.

Elles sont bien isolées et équipées à la fois pour le chauffage et pour le refroidissement de manière à maintenir les températures requises. La température doit être uniformément répartie pour permettre à l'ensemble des échantillons placés dans l'armoire/chambre d'être à une température comprise dans les limites prescrites pour l'essai (+/- 2°C) ou le pré-traitement.

Si la chambre ne dispose pas d'un système capable de générer des températures alternées, les échantillons devront être transférés entre 2 chambres réglées à des températures différentes permettant d'obtenir le cycle d'alternance souhaité.

Une chambre est destinée à la pré-réfrigération et l'autre à la germination.

Les essais doivent recevoir une quantité d'eau suffisante pour la germination et ne doivent pas subir de dessèchement. Ceci peut être obtenu en maintenant un niveau d'humidité élevé grâce à l'utilisation d'incubateurs « humides » ou à celle d'humidificateurs dans les chambres de germination.

Les essais peuvent également être placés dans des contenants étanches.

4. Mode opératoire

4.1 Echantillon de travail

Les semences sont prélevées au hasard parmi les semences pures bien mélangées puis disposées uniformément sur le substrat humide avec un espacement adéquat. Le nombre de graines et de répétitions est précisé ci-dessous.

On devra prendre soin de garantir l'absence de sélection parmi ces semences ce qui menerait à des résultats biaisés.

On utilise normalement des répétitions de 100 semences, suffisamment éloignées les unes des autres sur le lit de germination pour minimiser l'effet de proximité sur le développement des plantules.

Afin d'assurer un espacement adéquat, l'éclatement des répétitions en fractions de 50 ou même de 25 semences peut être nécessaire, particulièrement lorsqu'il y a présence de pathogènes transmis par les semences ou de saprophytes.

Quand les semences mises à germer sur un substrat papier sont fortement infectées, il peut être nécessaire de transférer les semences et plantules saines restantes sur un nouveau buvard.

	Nbre de graines	Répétitions
Blé dur	400	4 x 100
Autres céréales	200	2 x 100
Pois	400	8 x 50
Féveroles	400	16 x 25

4.2 Conditions de l'essai

4.2.1 Humidité et aération

On devra s'assurer que le support de culture ne puisse s'assécher et qu'il contienne suffisamment d'eau pour la totalité de la durée de l'essai. Les arrosages ultérieurs doivent être évités dans la mesure du possible car ils peuvent accroître la variabilité au sein des répétitions et au sein des essais.

4.2.2 Température

Les températures indiquées dans le tableau 1 pour la germination d'une espèce donnée sont celles auxquelles les semences sont exposées sur ou dans le substrat. Elles doivent être aussi uniformes que possible en n'importe quel point de l'appareil, de l'incubateur ou de la chambre de germination. Pour tous les essais menés soit à l'obscurité soit sous la lumière artificielle ou sous la lumière du jour indirecte les variations ne doivent pas dépasser +/- 2°C par rapport à la température prescrite.

Lorsque des températures alternées sont indiquées, la température la plus basse doit être maintenue pendant 16h et la plus élevée pendant 8h. Un changement graduel d'une durée maximale de 3h peut être satisfaisant mais un changement brusque d'une durée d'une heure ou moins, peut être nécessaire pour lever la dormance.

Lorsqu'une plage de températures est indiquée, les tolérances n'ont pas à être appliquées aux températures basses et hautes. Par exemple, lorsqu'une température de pré réfrigération de 5 à 10°C est prescrite, cela signifie que la plage de températures autorisées va de 5 à 10°C et non de 5 +/- 2°C à 10 +/- 2°C.

4.2.2 Lumière

L'éclairage des germinoirs par une source artificielle ou par la lumière du jour indirecte est généralement recommandée parce que des plantules mieux développées, plus faciles à apprécier sont produites.

Les plantules élevées à l'obscurité complète sont étioilées et blanches et par là plus sensibles à l'attaque des micro organismes. En outre, certains défauts comme la déficience en chlorophylle ne peuvent être détectés.

4.2.3 Durée de l'essai

La durée de l'essai pour chacune des espèces est indiquée dans le tableau 1. La durée du traitement nécessité par la levée de dormance, avant ou pendant l'essai n'est pas à prendre en compte dans la durée de l'essai de germination.

Si cela semble opportun lorsque quelques semences ont juste commencé à germer, la durée d'essai prescrite peut être prolongée de 7 jours, ou de la moitié de la durée prescrite pour les essais les plus longs.

Si par ailleurs, l'échantillon a atteint le maximum de germination avant la fin de la durée prescrite, l'essai peut être arrêté.

Méthodes détaillées de germination (Tableau 1)

nom latin	nom commun	substrat	température (°C)	1 ^{er} comptage (j)	dernier comptage (j)	recommandations pour lever la dormance
<i>Avena nuda</i>	Avoine nue	BP ; S	20	5	10	préchauffer (30-35°C) ; pré réfrigérer
<i>Avena sativa</i>	Avoine	BP ; S	20	5	10	préchauffer (30-35°C) ; pré réfrigérer
<i>Fagopyrum esculentum</i>	Sarrasin	TP ; BP	20 ⇄ 30 ; 20	4	7	-
<i>Hordeum vulgare</i>	Orge	BP ; S	20	4	7	préchauffer (30-35°C) ; GA ₃ ; KNO ₃ ; pré réfrigérer
<i>Pisum sativum</i>	Pois	BP ; TPS ; S	20	5	8	-
<i>Secale cereale</i>	Seigle	TS ; BP ; S	20	4	7	GA ₃ ; pré réfrigérer
<i>Triticosecale</i>	Triticale	TP ; BP ; S	20	4	8	préchauffer (30-35°C) ; GA ₃ ; pré réfrigérer
<i>Triticum aestivum</i>	Blé tendre	TP ; BP ; S	20	4	8	préchauffer (30-35°C) ; GA ₃ ; pré réfrigérer
<i>Triticum durum</i>	Blé dur	TP ; BP ; S	20	4	8	préchauffer (30-35°C) ; GA ₃ ; pré réfrigérer

Vicia faba	Féverole	BS ; S ; O	20	4	14	Pré réfrigérer
------------	----------	------------	----	---	----	----------------

Abréviations

BP entre feuilles de papier PP papier plissé TP sur papier TPS sur papier recouvert de sable
 S sable TS sur sable O substrat de culture organique TO sur substrat de culture organique
 EET test de l'embryon excisé GA₃ utiliser une solution d'acide gibbérellique au lieu d'eau
 HNO₃ tremper les semences dans l'acide nitrique 1N avant l'essai de germination
 H₂SO₄ tremper les semences dans l'acide sulfurique concentré avant l'essai de germination
 KNO₃ utiliser une solution à 0.2% de nitrate de potassium au lieu d'eau TTZ test topographique au tétrazolium

5. Reprise d'un essai

5.1 Conditions de reprises spécifiques aux céréales à paille

Dans le cas d'un essai de germination réalisé sur un effectif de 200 graines, la validation ou non de l'essai est réalisée à partir du tableau ci-dessous.

POURCENTAGE DE GERMES NORMAUX CONSTATE

Blé tendre, Orge, Avoine, Seigle, Epeautre	90% et plus	entre 89% et 80%	moins de 80%
Triticale, Riz	85% et plus	entre 84% et 75%	moins de 75%
Avoine nue	80% et plus	entre 79% et 70%	moins de 70%
Décision	résultat conforme	reprise de l'essai	résultat non-conforme

Dans le cas d'un essai de germination réalisé sur un effectif de 400 graines, la validation ou non de l'essai est réalisée à partir du tableau ci-dessous.

POURCENTAGE DE GERMES NORMAUX CONSTATE

Blé dur	85% et plus	84% et moins
Décision	Lot conforme	Lot non-conforme

5.2 Autres conditions de reprises

Le résultat d'un essai doit être jugé insatisfaisant et ne pas être reporté et un nouvel essai doit être réalisé avec la même ou une autre méthode dans les cas suivants :

- lorsqu'une dormance est suspectée (semences fraîches non germées), toute méthode de levée de dormance indiquée dans le tableau 1 peut être appliquée au moyen d'un ou plusieurs essais additionnels. Le meilleur résultat obtenu doit être reporté et la méthode utilisée indiquée sur le bulletin.
- lorsque le résultat n'est pas fiable pour cause de phytotoxicité ou de dissémination de champignons ou de bactéries, de nouveaux essais doivent être réalisés en utilisant une ou plusieurs autres méthodes comme indiqué dans le tableau 1, ou en sable, en support de culture organique ou en terre. Si cela est nécessaire, la distance de semis entre chaque semence doit être augmentée. Le meilleur résultat obtenu doit être reporté et la méthode utilisée indiquée sur le bulletin.
- lorsqu'il est difficile de statuer sur l'appréciation correcte d'un certain nombre de plantules, un nouvel essai doit être réalisé en utilisant une ou plusieurs autres méthodes comme indiqué dans le tableau 1, ou en sable, en support de culture organique ou en terre. Le meilleur résultat obtenu doit être reporté et la méthode utilisée indiquée sur le bulletin.
- lorsqu'il est évident que des erreurs se sont produites dans les conditions de l'essai, l'appréciation des plantules ou les comptages, un nouvel essai doit être effectué en utilisant la même méthode ou une autre méthode prescrite dans le tableau 1, et le résultat de ce nouvel essai doit être indiqué sur le bulletin.
- lorsqu'un échantillon ne répond pas de façon satisfaisante à la méthode choisie, il sera nécessaire de le re-analyser à l'aide d'une ou plusieurs autres méthodes. Lorsque des plantules sont difficiles à évaluer ou montrent des symptômes de phytotoxicité, un nouvel essai doit être réalisé en sable, support de culture organique ou terre, à la température prescrite dans le tableau 1
Le semis en parallèle d'un autre échantillon de la même variété, connu pour germer de façon satisfaisante, peut apporter des informations utiles pour évaluer cette reprise d'essai. Le meilleur résultat obtenu devra être reporté et la méthode utilisée devra être indiquée sur le bulletin.
- lorsque l'écart entre répétitions dépasse l'écart maximum toléré dans le tableau 2, un nouvel essai doit être réalisé en utilisant la même méthode d'essai. Si les résultats de la reprise sont compatibles avec ceux du 1^{er} essai (c'est-à-dire si la différence n'excède pas la tolérance indiquée dans l'un des tableaux 3, 4 ou 5) la moyenne des résultats d'essais doit être indiquée sur le bulletin.

6. Calcul et expression des résultats

Le résultat d'un essai de germination est exprimé par des pourcentages en nombre de plantules normales et anormales et de semences dures, fraîches et mortes.

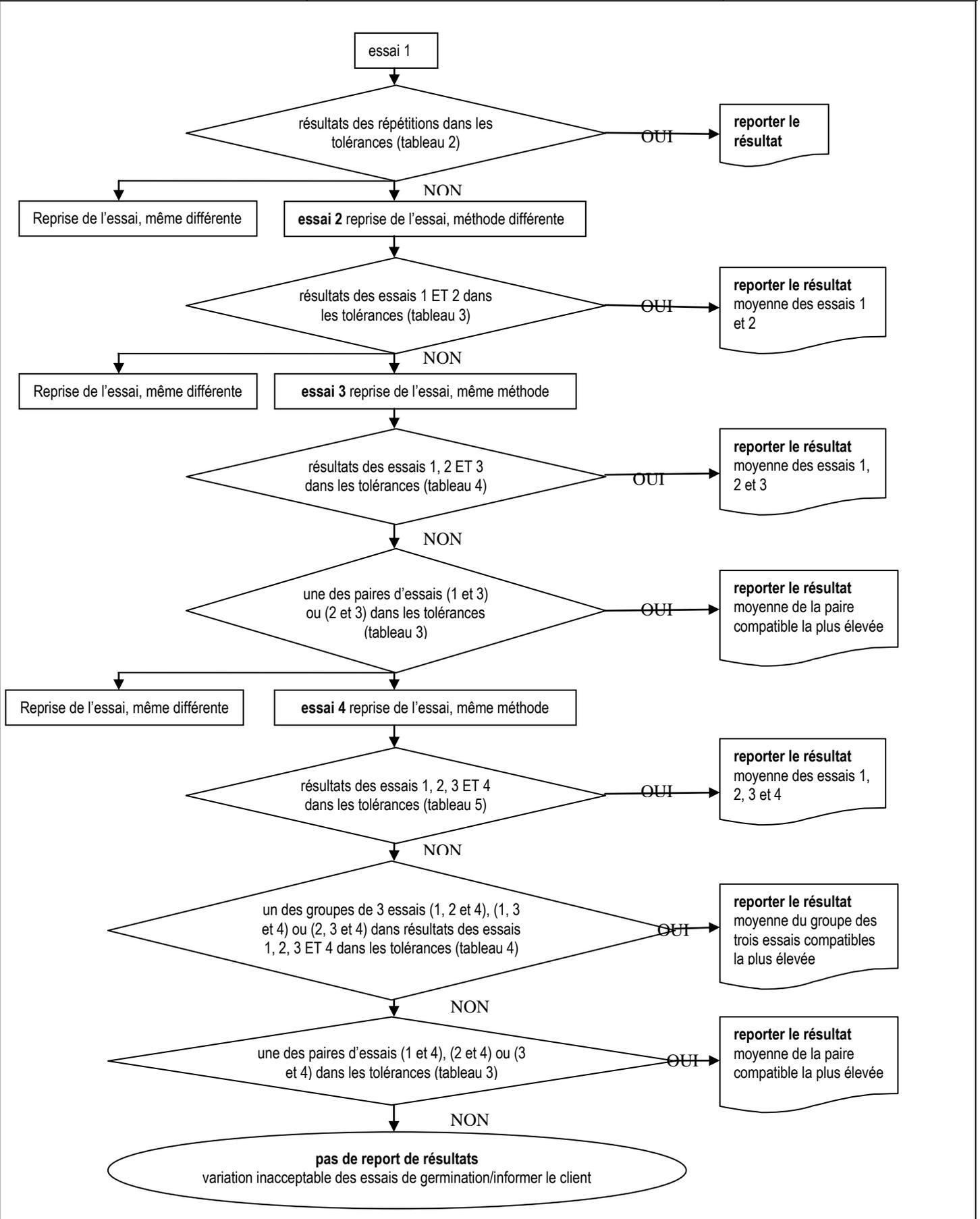
Les pourcentages sont arrondis au nombre entier le plus proche.

La somme des pourcentages de plantules normales et anormales ainsi que de semences dures, fraîches et mortes doit être égale à 100

6.1 Tolérances

Le résultat d'un essai de germination n'est fiable que si l'écart entre le résultat le plus élevé et le plus bas des répétitions se situe dans les limites des tolérances admises.

Le diagramme en page suivante illustre la procédure de reprise lorsque les répétitions et les reprises d'essais sont hors tolérance.



Tolérances entre le pourcentage de germination le plus faible et le plus élevé des répétitions de l'essai de germination (test bilatéral au niveau de signification de 2.5%) (Tableau 2 Partie 1) 4 répétitions de 100 semences : blé dur

pourcentage moyen de germination de l'essai		tolérance
51-100%	0-50%	
99	2	5
98	3	6
97	4	7
96	5	8
95	6	9
93-94	7-8	10
91-92	9-10	11
89-90	11-12	12
87-88	13-14	13
84-86	15-17	14
81-83	18-20	15
78-80	21-23	16
73-77	24-28	17
67-72	29-34	18
56-66	35-45	19
51-55	46-50	20

(Tableau 2 Partie 2) 2 répétitions de 100 semences : blé tendre, avoine, triticale et seigle

pourcentage moyen de germination de l'essai		tolérance
51-100%	0-50%	
99	2	4
98	3	5
96-97	4-5	6
95	6	7
93-94	7-8	8
90-92	9-11	9
88-89	12-13	10
84-87	14-17	11
81-83	18-20	12
76-80	21-25	13
69-75	26-32	14
55-68	33-46	15
51-54	47-50	16

Tolérances entre les résultats de 2 essais réalisés sur un échantillon soumis identique ou différent lorsque les essais sont réalisés dans le même laboratoire (test bilatéral au niveau de signification de 2.5%) (Tableau 3 Partie 1) 2 essais sur 200 semences

pourcentage de germination moyen de 2 essais		tolérance
51-100%	0-50%	
99	2	2
98	3	3
96-97	4-5	4
94-95	6-7	5
91-93	8-10	6
87-90	11-14	7
82-86	15-19	8
75-81	20-26	9
64-74	27-37	10
51-63	38-50	11

*Tolérances entre les résultats de 3 essais sur un échantillon identique ou différent lorsque les essais sont réalisés dans un même laboratoire (test bilatéral au niveau de signification de 2.5%)
(Tableau 4 Partie 1) 3 essais sur 200 semences*

pourcentage de germination moyen de 3 essais		tolérance
51-100%	0-50%	
99	2	3
97-98	3-4	4
96	5	5
94-95	6-7	6
91-93	8-10	7
88-90	11-13	8
84-87	14-17	9
79-83	18-22	10
72-78	23-29	11
60-71	30-41	12
51-59	42-50	13

*Tolérances entre les résultats de 2 essais réalisés sur un échantillon soumis identique ou différent lorsque les essais sont réalisés dans un même laboratoire (test bilatéral au niveau de signification de 2.5%)
(Tableau 5 Partie 1) 2 essais sur 400 semences*

pourcentage moyen de germination moyen de 2 essais		tolérance
51-100%	0-50%	
98-99	2-3	2
95-97	4-6	3
91-94	7-10	4
85-90	11-16	5
77-84	17-24	6
60-76	25-41	7
51-59	42-50	8

*Tolérances entre les résultats de 3 essais réalisés sur un échantillon soumis identique ou différent lorsque les essais sont réalisés dans un même laboratoire (test bilatéral au niveau de signification de 2.5%)
(Tableau 5 Partie 1) 3 essais sur 400 semences*

pourcentage moyen de germination moyen de 3 essais		tolérance
51-100%	0-50%	
99	2	2
97-98	3-4	3
94-96	5-7	4
90-93	8-11	5
85-89	12-16	6
78-84	17-23	7
66-77	24-35	8
51-65	36-50	9

6.2 Arrondi des résultats

Le pourcentage de plantules normales est arrondi en premier, au nombre entier supérieur ou inférieur le plus proche (xx, 0 et xx, 25 sont arrondis au chiffre inférieur xx et xx, 50 et xx, 75 sont arrondis au chiffre supérieur xx+1).

Additionner les parties entières des pourcentages restants.

Si la somme est égale à 100, la procédure est terminée sinon passer aux étapes suivantes :

1. prendre la valeur dont la partie décimale est la plus grande parmi les pourcentages restants (plantules anormales, semences dures, semences fraîches et semences mortes) et arrondir ce pourcentage au nombre entier supérieur, garder cette valeur comme résultat final
2. additionner les parties entières des pourcentages restants
3. si la somme est égale à 100, la procédure est terminée ; sinon réitérer les étapes 1 et 2

Dans le cas de parties décimales égales, l'ordre de priorité est plantules anormales- semences dures-semences fraîches-semences mortes.

7. Indication des résultats

Les résultats des essais de germination doivent être reportés dans les espaces prévus à cet effet, selon les indications suivantes :

- la durée réelle de l'essai de germination (en jours), à l'exclusion de la durée correspondant à un traitement spécial ou à la méthode utilisée pour favoriser la germination
- pourcentages arrondis au nombre entier le plus proche de plantules normales, de semences dures, de semences fraîches, de plantules anormales et de semences mortes. Si le résultat trouvé pour l'une de ces catégories est nul, il doit être reporté « 0 ».

8. Normes

espèce	catégorie	faculté germinative minimale (% de grains)
blé tendre, blé dur, orge, avoines	semences de base et semences certifiées	85
triticale	semences de base et semences certifiées	80

espèce	catégorie	faculté germinative minimale (% des semences pures)
hybrides de céréales autres que triticale	semences certifiées	85
hybrides de triticale	semences certifiées	80
pois et féveroles	semences de base et semences certifiées	80

Nom :	S. MAUPOU
Visa :	SM

RÉDACTION

Nom :	M. BISSON
Visa :	MB

VALIDATION

Nom :	G. RIVET
Visa :	GR

APPROBATION