

2016-2017

Mention Biologie et Technologie du
Végétal

Comparaison de différentes méthodes pour la détermination de la vigueur germinative de semences de maïs

Bosché Romain |

Sous la direction de Mme |
Boinot Nelly

Membres du jury
Simier Philippe | Président du jury
Boinot Nelly | Maître de stage
Montiel Grégory | Tuteur
Fontaine Kevin | Auditeur



Soutenu publiquement le :
28/06/2017



L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

Consulter la licence creative commons complète en français :
<http://creativecommons.org/licences/by-nc-nd/2.0/fr/>

Ces conditions d'utilisation (attribution, pas d'utilisation commerciale, pas de modification) sont symbolisées par les icônes positionnées en pied de page.



ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné(e) **Romain Bosché**
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **22/06/2017**



REMERCIEMENTS

Je tiens premièrement à remercier Nelly Boinot pour m'avoir accueilli à l'occasion de ce stage. Elle a su me guider dans la préparation du protocole, dans la conduite de mes essais et le traitement des résultats.

Je la remercie également du temps qu'elle a consacré à répondre à mes questions ainsi que de m'avoir laissé beaucoup d'autonomie. Ce stage a été très instructif pour moi, il a confirmé mon affection pour le milieu des semences et m'a permis de confirmer mes choix d'orientation future.

Je souhaite ensuite remercier toute l'équipe du laboratoire pour leurs nombreux conseils pratiques mais aussi pour leur bonne humeur. Ils m'ont apporté de nombreuses connaissances et m'ont permis de passer mon stage dans une ambiance agréable.

Je tiens également à remercier mon tuteur Grégory Montiel pour son encadrement.

GLOSSAIRE

Albumen : tissu de réserves des angiospermes, entourant l'embryon, généralement triploïde et provenant de la fusion du noyau d'un spermatozoïde embryonnaire avec les noyaux polaires du sac embryonnaire des angiospermes.

Cotylédon : feuilles primordiales constitutives de la graine.

Phytotoxique : se dit des substances toxiques pour les plantes.

Radicule : forme embryonnaire de la racine principale d'une plante. C'est la première partie de la plantule à émerger de la graine lors de la germination.

LISTE DES ABREVIATIONS

SOC : Service Officiel de Contrôle et de Certification

ISTA : International Seed Testing Association

FNPSMS : Fédération Nationale de la Production des Semences de Maïs et de Sorgho

Table des matières

COMPARAISON DE DIFFERENTES METHODES POUR LA DETERMINATION DE LA VIGUEUR GERMINATIVE DE SEMENCES DE MAÏS. 1

1.	Introduction.....	1
1.1.	L'entreprise	1
1.1.1.	Le groupe TERRENA	1
1.1.2.	TERRENA SEMENCES.....	1
1.2.	Synthèse bibliographique.....	2
1.2.1.	Le maïs.....	2
1.2.2.	La qualité des semences	2
1.2.3.	Notion de Vigueur	3
1.2.4.	Le cold test	4
1.3.	Objectifs du stage	5
1.3.1.	Changement de substrat dans la méthode Terrena	5
1.3.2.	Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion	5
1.3.3.	Contraintes de l'étude	6
2.	Matériel et Méthodes	6
2.1.	Matériel	6
2.1.1.	Choix des échantillons	6
2.1.2.	Les substrats.....	7
2.2.	Méthodes employées.....	7
2.2.1.	Changement de substrat dans la méthode TERRENA.....	7
2.2.2.	Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion	8
2.3.	Lecture des résultats	8
2.3.1.	Méthodes sur sable	8
2.3.2.	Méthodes sur papier.....	9
2.4.	Analyses statistiques	9
3.	Résultats.....	10
3.1.	Changement de substrat dans la méthode TERRENA.....	10
3.2.	Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion	11
3.2.1.	Tendances générales.....	11
3.2.2.	Comparaison des méthodes du client A	11
3.2.3.	Comparaison des méthodes sur papier	11
3.2.4.	Comparaison des méthodes sur sable	12
3.2.5.	Impact du SONIDO	12
4.	Discussion.....	12
4.1.	Changement de substrat dans la méthode TERRENA.....	12
4.2.	Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion	13
5.	Conclusions et perspectives	15
5.1.	Changement de substrat dans la méthode TERRENA.....	15
5.2.	Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion	15
6.	Bibliographie.....	16
6.1.	Articles	16
6.2.	Livres	16
6.3.	Sites web	16

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Photo d'une graine de maïs en coupe longitudinale.	2
Figure 2 : Relation entre la germination et la vigueur des semences durant le processus de détérioration	3
Figure 3 : Circuit 2017 de la FNPSMS sur les cold tests de 21 laboratoires sur 3 lots de semences.	4
Figure 4 : Photographie d'une larve de Taupin.	6
Figure 5 : Grille d'attribution des choix de qualité appliqués chez TERRENA SEMENCES	6
Figure 6 : Profil granulométrique du sable des landes.	6
Figure 7 : Profil granulométrique du sable de carrière.	6
Figure 8 : Photographie d'une boîte de la méthode TS1 au jour de lecture.	7
Figure 9 : Photographie d'une boîte de la méthode TS2 (sur sable des landes) au jour de lecture.	7
Figure 10 : Photographie d'une caisse SNES au jour de lecture.	8
Figure 11 : Photographie d'une caisse germination maïs au jour de lecture.	8
Figure 12 : Courbe de gauss représentative de la loi normale avec m la moyenne et σ l'écart type.	9
Figure 13 : Graphique représentant les résultats de la mise en place de la méthode TS2 pour les saturations 75, 85 et 95% ainsi que pour le témoin sable de carrière.	9
Figure 14 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes TS1 et TS2 pour chaque lot.	10
Figure 15 : Graphique représentant l'ensemble des résultats de cold test pour les 8 méthodes employées.	10
Figure 16 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes AS1 et AP pour chaque lot.	10
Figure 17 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes TS1 et TP pour chaque lot.	11
Figure 18 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes AT et AS1 pour chaque lot.	11
Figure 19 : Moyenne des écarts entre la méthode TS1 et les autres méthodes avec et sans les lots traités au SONIDO.	12
Figure 20 : Moyenne des résultats des lots traités au SONIDO pour chaque méthode.	12
Figure 21 : Photographies de boîtes des méthodes TS1 et TS2 pour le lot témoin	12
Figure 22 : Grille d'attribution des choix de qualité appliqués chez le client A.	13

TABLE DES TABLEAUX

Tableau I : Descriptif des différentes méthodes de cold test appliquées lors des essais	5
Tableau II : Tableau récapitulatif de l'écart entre la méthode TS1 et les autres méthodes.	11
Tableau III : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de cold test.	14

Comparaison de différentes méthodes pour la détermination de la vigueur germinative de semences de maïs.

1. Introduction

1.1. L'entreprise

1.1.1. Le groupe TERRENA

TERRENA SEMENCES est une entreprise du groupe TERRENA, l'un des plus importants groupes coopératifs agroalimentaires français qui emploie en 2017 environ 15800 personnes réparties dans différents secteurs d'activité regroupés sous trois pôles : Le pôle amont, le pôle produits carnés et le pôle végétal spécialisé. Terrena est né de la fusion de trois anciennes coopératives agricoles de l'ouest de la France, la CANA (Coopérative Agricole de la Noëlle Ancenis), la CAVAL (Coopérative Agricole de Val Anjou et Loire) et GCA (Groupe Centre Atlantique).

Le siège social de TERRENA est basé à Ancenis (44). Son activité s'étend principalement sur cinq départements que sont la Loire Atlantique (44), le Maine et Loire (49), la Mayenne (53), les Deux-Sèvres (76) et la Vienne (86).

1.1.2. TERRENA SEMENCES

Terrena semences, acteur du pôle végétal spécialisé du groupe TERRENA, est l'un des leaders français de la multiplication de semences. L'entreprise transforme cinq familles de semences : potagères et fleurs, fourragères, céréales et protéagineux, et enfin le maïs, qui représente environ 40% de son activité. Elle est répartie sur trois sites. Le plus important en termes d'employés et de volume traité est le site de Beaufort En Vallée où il est possible de trier tous type de semences. Les deux autres sites sont plus petits et spécialisés; dans les céréales et protéagineux à Vern d'Anjou et dans les céréales et le maïs à Lusignan.

Cette entreprise à un rôle de prestation de services au près d'obteneurs variétaux. Ces derniers produisent de nouvelles variétés de plantes à intérêt agronomique et TERRENA SEMENCES a pour rôle de multiplier les semences de ses clients. Les services proposés par Terrena semences vont de la certification à la distribution des semences pour leurs clients, en passant par la réception et le triage des semences multipliées par des agriculteurs adhérents.

Depuis 1981, TERRENA SEMENCES dispose d'un laboratoire situé à Beaufort-en-Vallée. Ce laboratoire a pour rôle de contrôler la qualité des semences multipliées par les agriculteurs et transformées dans les usines. Le laboratoire est accrédité par le SOC (Service Officiel de Contrôle et certification) ce qui lui permet de délivrer des certifications pour les lots de semences. Les analyses effectuées sur les semences au laboratoire (humidité, poids de mille grains, pureté spécifique, faculté germinative..) sont décrites et uniformisées par les normes ISTA (International Seed Testing Association), consignées dans l'ouvrage « Règles Internationales pour les Essais de Semences ».

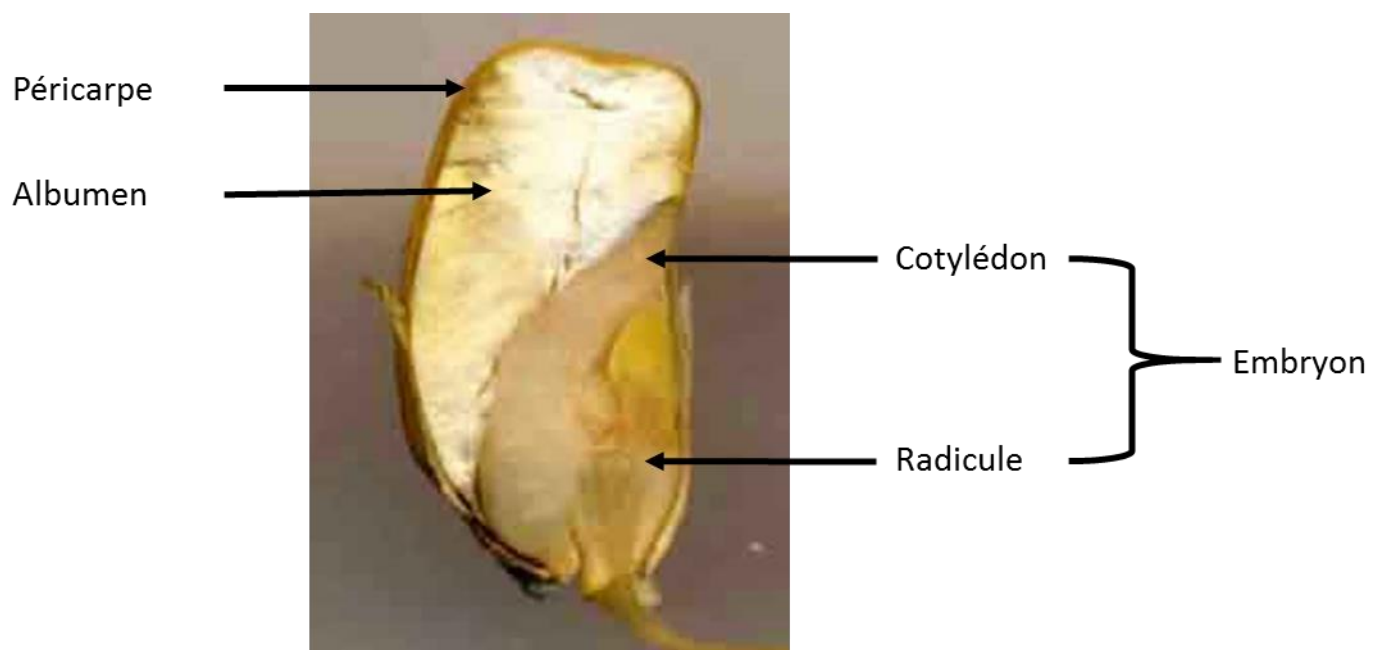


Figure 1 : Photo d'une graine de maïs en coupe longitudinale.

1.2. Synthèse bibliographique

1.2.1. Le maïs

a) généralités

Le maïs est une plante tropicale annuelle de la famille des graminées. Elle est la première céréale cultivée dans le monde devant le riz et le blé (GNIS, 2017a). En 2015, en France, la production de maïs grain dépasse les 13.7 millions de tonnes dont environ 250 000 tonnes de maïs semences (AGREST, 2017).

La production de semences de maïs est très encadrée. Les parcelles sont visitées régulièrement par des techniciens notateurs afin d'assurer le bon déroulement de la culture et le respect des normes imposées par le SOC (GNIS, 2017b).

La France est le premier fournisseur de semences de maïs de l'union européenne. La production de ces semences occupe une surface de 97 000ha en 2014 avec 4 429 agriculteurs multiplicateurs. Plus de 2 000 variétés de maïs sont multipliées en France pour produire des semences (GNIS, 2017c).

b) Physiologie et germination

La graine de maïs est un organe composé de tissus de réserves et d'un embryon (figure 1). La radicule est à l'origine de la racine principale et le cotylédon est une ébauche de feuilles embryonnaires. L'albumen contient la majorité des réserves qui sont principalement constituées d'amidon (Anzala.F, 2007).

La germination est un processus qui commence par l'absorption d'eau par la graine et se termine par l'émergence de la radicule. Ce processus nécessite des conditions de température et de disponibilité en eau et en oxygène favorables (Taiz et al., 2015).

La germination peut être divisée en trois phases :

- La phase I correspond à l'absorption rapide de l'eau par la graine par le processus d'imbibition. La réhydratation de la graine active des processus métaboliques tels que la respiration ou la transcription.
- La phase II correspond au déclin de l'imbibition et à l'expansion de l'embryon. La radicule émerge du tégument de la graine.
- La phase III correspond à la reprise de l'absorption de l'eau en raison de la diminution du potentiel hydrique due à la croissance de la plantule. Les réserves de la graine sont alors totalement mobilisées.

La température idéale pour la germination du maïs se situe entre 25 et 28°C. Des températures basses pendant la phase de germination peuvent être néfastes à l'établissement de la culture et à sa productivité. De plus, la température limite pour la germination du maïs se situe entre 8 et 12°C.

1.2.2. La qualité des semences

La qualité des semences englobe l'ensemble des propriétés qui déterminent le niveau de performance potentiel d'un lot de semences. Ces propriétés incluent les aspects génétiques, physiques, physiologiques et sanitaires (Marcos-Filho, 1998).

Bosché Romain | Comparaison des différentes méthodes pour la détermination de la vigueur germinative de semences de maïs.

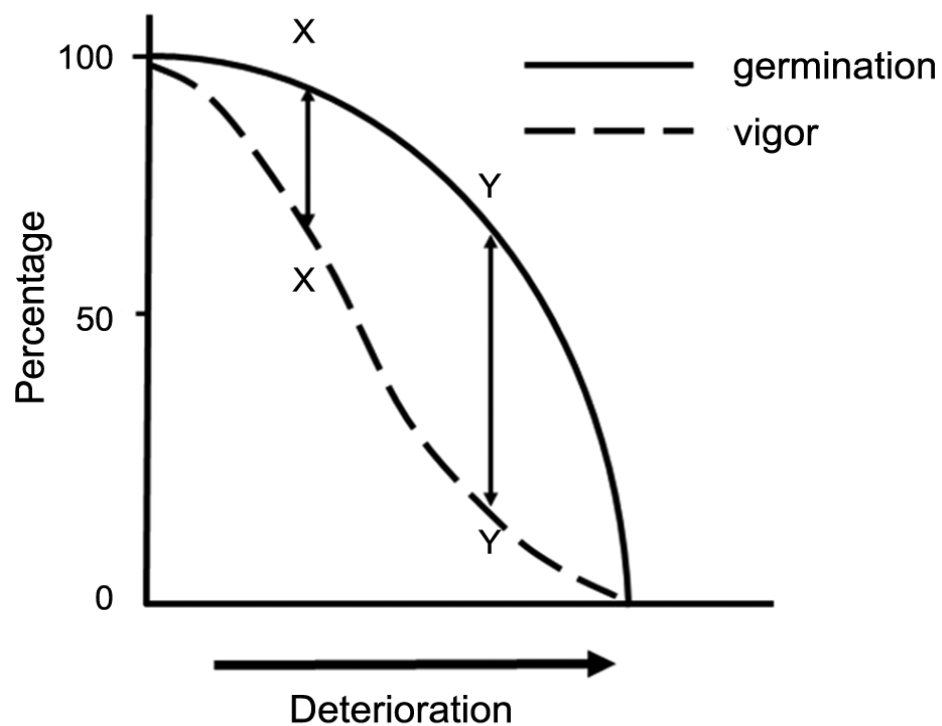


Figure 2 : Relation entre la germination et la vigueur des semences durant le processus de détérioration. X et Y correspondent à deux lots de semences de niveau de détérioration différents.

Au laboratoire, le contrôle de la qualité d'un lot comprend différentes analyses comme l'humidité qui renseigne sur la capacité de conservation de la graine, la pureté spécifique qui permet de déterminer le taux de bonnes graines dans un lot, ainsi que la faculté germinative (GNIS, 2017b).

Les tests de faculté germinative n'ont pas pour seul but de discriminer les graines mortes des graines vivantes. En effet, dans un essai ISTA, la germination est considérée comme l'apparition d'une plantule, puis son développement jusqu'à un stade où l'aspect de ses organes essentiels indiquent si elle aurait été ou non capable de donner une plante satisfaisante dans des conditions favorables au champ. Ainsi, une plantule considérée normale devra remplir un certains nombres de conditions telles que la fonctionnalité d'au moins 50% de son tissu cotylédonaire, ou encore un système racinaire suffisamment développé (ISTA, 2015).

Cependant, le test de faculté germinative est réalisé dans les conditions optimales de développement de la culture, il ne reflète donc pas forcément le potentiel du lot dans les conditions du champ (Fawad, 2002).

Entre alors en jeu la notion de vigueur. La vigueur est l'ensemble des caractéristiques qui déterminent l'activité et la performance des lots de semences de faculté germinative acceptable dans une large gamme de conditions environnementales (ISTA, 2015).

1.2.3. Notion de Vigueur

La faculté germinative et la vigueur n'évoluent pas de la même manière au cours de la conservation d'une graine. On peut voir sur la figure 2 que l'écart entre la vigueur et la faculté germinative est d'autant plus grand que la détérioration est avancée, il n'y a donc pas de relation proportionnelle entre vigueur et faculté germinative au cours de la vie de la graine. Il est donc très important de pouvoir évaluer la vigueur des lots de semences (Marcos-Filho, 2015).

Il existe un grand nombre de tests pour évaluer la vigueur d'un lot de semences tels que :

- Le test d'intensité de croissance

Dans ce test, on compare la rapidité de croissance des plantules. Il nécessite donc des mesures régulières de la taille de ces dernières. Un lot ayant une croissance rapide est considéré comme plus vigoureux qu'un lot ayant une croissance plus lente (Milosevic et al., 2010). Ce test peut donner une bonne idée de la vigueur d'un lot de semences mais il demande beaucoup de moyens humains, il est donc difficilement applicable sur de grandes séries en laboratoire.

- Le test de vieillissement accéléré

Les semences sont exposées pendant un court moment à une forte température et une forte humidité qui sont les deux facteurs de vieillissement les plus importants pour les graines. Ce test permet de simuler le vieillissement naturel des graines et ainsi d'estimer leur vigueur. Les lots les plus vigoureux sont ceux qui se détériorent le plus lentement (Milosevic et al., 2010). Ce test peut se révéler utile pour déterminer si un lot de semence conservera sa capacité germinative pendant un long moment, il est moins approprié pour des semences destinées à être rapidement mises au champ.

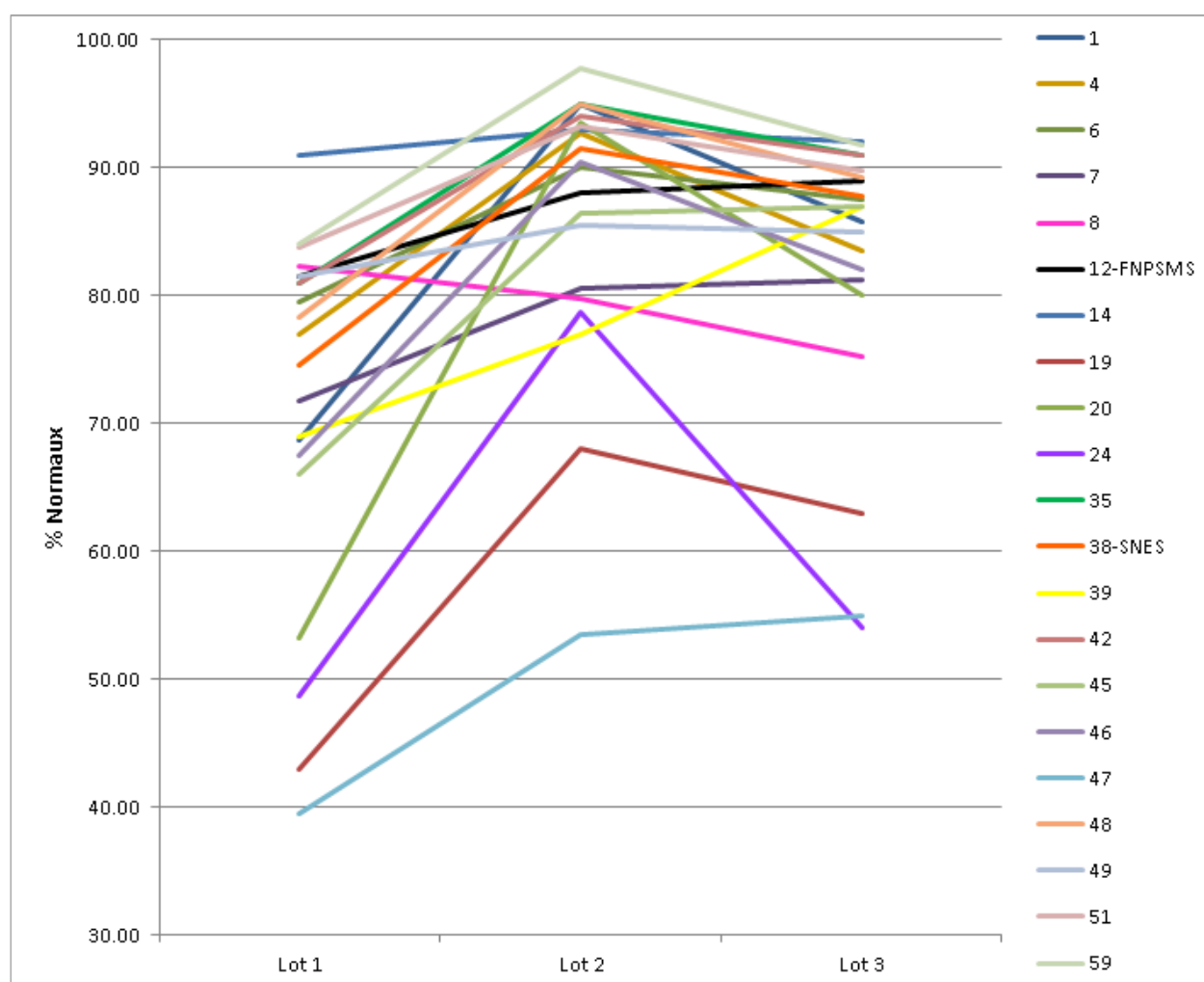


Figure 3 : Circuit 2017 de la FNPSMS sur les cold tests de 21 laboratoires sur 3 lots de semences.

- Le « Hiltner test »

Dans ce test, on utilise une couche de petits morceaux de pierre ou de briques pour imposer une contrainte physique. Ainsi, seuls les plants les plus vigoureux pourront surmonter la contrainte et germer (Milosevic et al., 2010). Ce test n'impose qu'une contrainte physique et ne donne pas réellement d'indication sur le comportement des semences en cas de stress autre que la structure du sol où elles sont implantées.

- Le cold test

Ce test consiste à simuler des conditions peu favorables à la germination qui peuvent être rencontrées au champ. Il s'agit d'un test de germination dans lequel les semences sont soumises à une période de froid. Le pourcentage de germination après cette exposition au froid indique alors la vigueur d'un lot.

La vigueur d'une semence englobe de nombreuses caractéristiques, ce qui explique qu'il existe un très grand nombre de tests pour la déterminer. Cependant, il a été montré que les résultats de germination issus d'un cold test représentent l'indicateur le plus précis pour la germination du maïs au champ (Aliloo et Shokati, 2011).

1.2.4. Le cold test

Comme son nom l'indique, le cold test est un test de germination où les semences sont soumises à un stress au froid. Certains cold tests sont conduits sur de la terre ce qui ajoute un facteur de stress, la présence de pathogènes. Ces tests ont également été utilisés pour déterminer la résistance d'un lot à des pathogènes (Milosevic, 2010). Cependant l'utilisation de substrats contenant des microorganismes pathogènes est très difficile à standardiser en raison de la variabilité de la microflore. De plus, bon nombre de semences testées à l'heure actuelle sont traitées contre les pathogènes, il apparaît alors que l'utilisation du sable soit plus appropriée. (Noli et al 2008)

A la différence d'autres méthodes comme la faculté germinative, le cold test n'est pas standardisé et n'est donc pas régi par des normes ISTA. De ce fait, chaque laboratoire applique son propre test. La plupart du temps, ils comprennent une période d'exposition au froid à 10 degrés et une période plus courte de germination à 25 degrés (Bewley et al., 2006).

Cependant ce n'est pas toujours le cas et les protocoles peuvent être très différents d'une méthode à une autre.

Ces différences de méthodes entraînent logiquement des différences de résultats. Pour un même échantillon, les résultats de cold test peuvent varier énormément. La FNPSMS organise des circuits de cold test entre les différents laboratoires de semences. Elle leur fait parvenir des échantillons de maïs et les laboratoires doivent communiquer leurs résultats. Tous les laboratoires reçoivent des échantillons identiques pour pouvoir comparer leurs résultats.

On peut voir sur la figure 3 les résultats du circuit de l'année 2017 sur 3 lots de semences. On constate que les résultats sont très hétérogènes.

Tableau I : Descriptif des différentes méthodes de cold test appliquées lors des essais

Méthode	Code méthode	Substrat	CR substrat	Humidité substrat	Saturation substrat	Nb semences	T°C	Durée total test
Terrena classique	TS1	Sable de carrière	24%	20.2%	85%	2*100	5°C pdt 12h à l'obscurité – 25°C pendant 12h à la lumière	8jrs
Terrena sable des landes	TS2	Sable des landes	24	A déterminer	A déterminer	2*100	5°C pdt 12h à l'obscurité – 25°C pendant 12h à la lumière	8jrs
Client A sable	AS1	Sable des landes	24	10%	42%	2*100	10°C pendant 7 jours à l'obscurité – 25°C et 12h de lumière pendant 4 jours	11 jrs
Client A sable SONIDO	AS2	Mélange Terreau/sable des landes	27%	11.6%	41.5%	2*100	10°C pendant 7 jours à l'obscurité – 25°C et 12h de lumière pendant 4 jours	11jrs
Client A /Terrena	AT	Sable des landes	24%	Identique à TS2	Identique à TS2	2*100	10°C pendant 3 jours à l'obscurité – 25°C et 12h de lumière pendant 4 jours	7 jrs
Client A papier	AP	Papier Macherey-Nagel		2 fois le poids des buvards en eau : la veille, conservation hermétique à 10°C pendant la nuit		4*50	10°C pendant 7 jours à l'obscurité – 25°C et 12h de lumière pendant 4 jours	11 jrs
Maisadour papier	MP	Papier Macherey-Nagel		2 fois le poids des buvards en eau : la veille, conservation hermétique à 10°C pendant la nuit		4*50	10°C pendant 7 jours à l'obscurité – 25°C 3 jours à l'obscurité	10 jrs
Terrena papier	TP	Papier Macherey-Nagel		2 fois le poids des buvards en eau : la veille, conservation hermétique à 10°C pendant la nuit		4*50	5°C pdt 12h à l'obscurité – 25°C pendant 12h à la lumière	8 jrs

Même en ne considérant pas les valeurs extrêmes, on a des écarts de plus de 15%. Chaque laboratoire utilise ses résultats de cold test à sa manière ainsi, un lot avec une FG de 99 et un cold test de 93 pourra être considéré comme très bon dans un laboratoire X et comme bon dans un laboratoire Y.

1.3. Objectifs du stage

Au laboratoire de Terrena semences, il est employé 3 méthodes différentes de Cold test décrites dans le tableau I, lignes grisées. La méthode Terrena (TS1) a été développée au sein même du laboratoire, c'est la méthode la plus courte (8 jours) ce qui lui donne un intérêt particulier. La méthode client A (AS1) est un protocole imposé par un client pour mener les cold test sur ses semences. La méthode client A SONIDO (AS2) est une autre méthode développée par le client A réservée aux semences qui sont traitées au SONIDO, un produit phytosanitaire qui a un effet phytotoxique et donc un négatif sur la germination avec un substrat 100% sable. Le client A a également un protocole de cold test sur papier roulé qui n'est actuellement pas utilisé au laboratoire. Ces trois méthodes sont beaucoup plus longues que la méthode Terrena (11 jours).

1.3.1. Changement de substrat dans la méthode Terrena

Comme on peut le voir sur le tableau I, la méthode TS1 est appliquée sur du sable de carrière. Or, c'est la seule méthode du laboratoire qui est conduite sur ce substrat et le sable de carrière est très encombrant puisqu'il est recyclé au sein du laboratoire. Il nécessite donc de disposer d'une étuve ainsi que d'un bac de stockage qui demande beaucoup de place. De plus, l'utilisation de ce sable implique de disposer d'une bétonnière à son unique usage. Le premier objectif de ce stage sera donc de remplacer le sable de carrière par un autre substrat tout en obtenant des résultats similaires à la méthode initiale. Pour ce faire, nous essayerons d'adapter la méthode TS1 en remplaçant le sable de carrière par du sable des landes. L'atout majeur de cette méthode étant sa courte durée, nous ferons uniquement varier l'humidité du sable afin de déterminer la saturation adéquate avant de valider la méthode.

1.3.2. Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion

Dans un deuxième temps, Terrena semences se trouve au cœur d'un projet de fusion avec l'activité semences de Maisadour, l'objectif étant d'accroître la taille et la compétitivité du nouveau groupe en devenant leader européen de la production de semences (Terrena et Maisadour, 2015).

En vue de ce rapprochement et devant le nombre important de méthodes de cold test existantes pour le maïs, le deuxième objectif de ce stage sera de comparer différentes méthodes de cold test afin de déterminer la meilleure méthode à utiliser en routine pour la future entreprise. A l'heure actuelle, l'entreprise Maisadour effectue son cold test (MP) sur papier roulé pour une durée totale de 10 jours. Nous comparerons donc cette méthode avec la méthode Terrena actuelle (TS1) ainsi que les méthodes client A sur sable (AS1) et papier (AP), la méthode Terrena sur sable des landes (TS2) ainsi que la méthode TERRENA réalisée sur papier roulé (TP). Cette dernière pourra constituer une alternative au remplacement du sable de carrière par le sable des landes dans le cas où les résultats ne seraient pas satisfaisants.



Figure 4 : Photographie d'une larve de Taupin. Source : Bayer-agri

		Faculté germinative											
		<90	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
Cold-test	<88	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17
	88	17	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	89	17	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
	90	17	13	13	13	13	12	12	12	12	12	12	12
	91	17	13	13	13	13	12	12	12	12	12	12	12
	92	17	13	13	13	13	12	12	12	12	12	12	12
	93	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11
	94	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11
	95	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11
	96	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11
	97	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11
	98	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11
	99	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11
	100	17	13	13	13	13	12	12	11	11	11	11	11

Figure 5 : Grille d'attribution des choix de qualité appliqués chez TERRENA SEMENCES

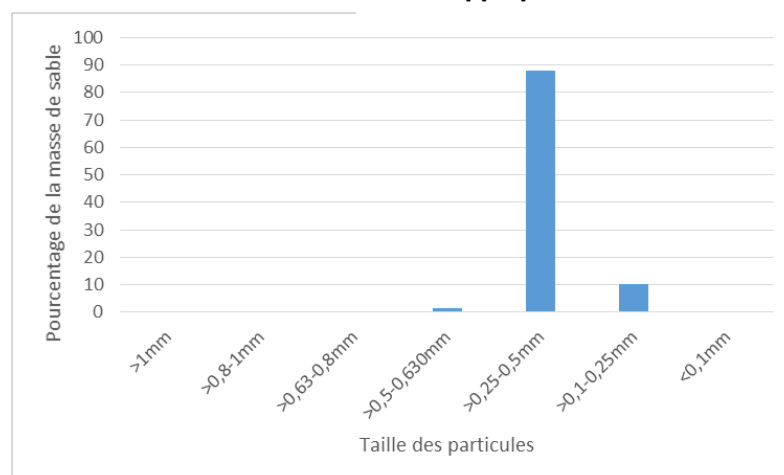


Figure 6 : Profil granulométrique du sable des landes. En pourcentage de de la masse de sable par classe de taille de particule

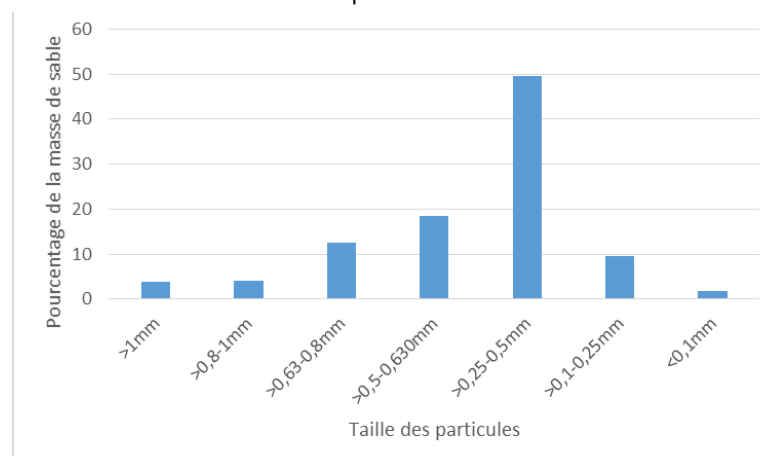


Figure 7 : Profil granulométrique du sable de carrière. En pourcentage de de la masse de sable par classe de taille de particule

De plus, la méthode Terrena étant mise en place sur les 3 types de substrats, nous pourrons observer l'influence de ces derniers sur les résultats de Cold test. Nous testerons également la méthode AS2, uniquement sur les lots traités avec du SONIDO afin d'observer l'impact de ce traitement sur la germination. Enfin nous testerons une dernière méthode reprenant des principes communs aux méthodes client A et Terrena sur sable des landes (AT) afin de voir s'il est possible de raccourcir la méthode SS1. En effet, la sensibilité au froid des semences de maïs apparaît après deux jours d'imbibition et est maximale à trois jours après le début de l'imbibition (Bewey et al., 2006). Nous réduirons donc le temps au froid à 3 jours tout en augmentant le taux de saturation du sable pour créer un stress supplémentaire. Le taux de saturation utilisé sera le même que pour la méthode TS2.

1.3.3. Contraintes de l'étude

Cette étude devra être conduite dans un laps de temps court étant donné que ce stage ne dure que 8 semaines. Les différentes méthodes ont des durées inégales entre le semis et la lecture et certaines d'entre elles nécessitent de passer les boîtes de la chambre froide à la chambre de germination après quelques jours. Ces contraintes de temps impliquent que les méthodes ne peuvent pas être lancées tous les jours. Les méthodes les plus longues sont particulièrement impactées, de ce fait seulement quelques dates seront disponibles pour les lancer. Cela nécessite de réaliser le protocole expérimental le plus rapidement possible et de prévoir un planning précis et rigoureux pour réussir à obtenir des résultats pour chacune des méthodes. De plus, le laboratoire sera en travaux au cours de la dernière semaine, les chambres de germination ne seront pas en marche, tous les résultats devront donc être collectés avant.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Choix des échantillons

Les échantillons sont choisis de manière à être le plus représentatifs de l'hétérogénéité de qualité des lots de semences analysés sur une saison. Il s'agit de lots de maïs récoltés et analysés en 2016. L'étude portera sur 21 lots. 8 lots de semences non traités, 8 lots de semences traités avec divers produits phytosanitaires ainsi que 4 lots traités avec du SONIDO, un produit qui protège les semences des attaques de taupins (figure 4) et qui a une activité phytotoxique. Le dernier lot est un échantillon témoin qui subit des analyses régulières au laboratoire pour s'assurer du bon déroulement des méthodes.

Au laboratoire, les lots de semences sont classés par choix de qualité qui reposent sur la faculté germinative ainsi que sur le Cold test. Il existe 4 choix de qualité. 11, 12, 13 et 17 ; 11 étant la classe regroupant les lots de meilleure qualité. Un lot de semence est affecté à un choix de qualité en suivant la grille d'attribution des choix de qualité (figure 5). Nous choisirons donc 2 lots de chaque classe pour les semences traitées et non traitées ainsi qu'un lot de chaque classe pour les semences traitées au SONIDO, plus le lot témoin. environ 40% des grains de sable de carrière sont de taille supérieure aux grains de sable des landes.



Figure 8 : Photographie d'une boîte de la méthode TS1 au jour de lecture.

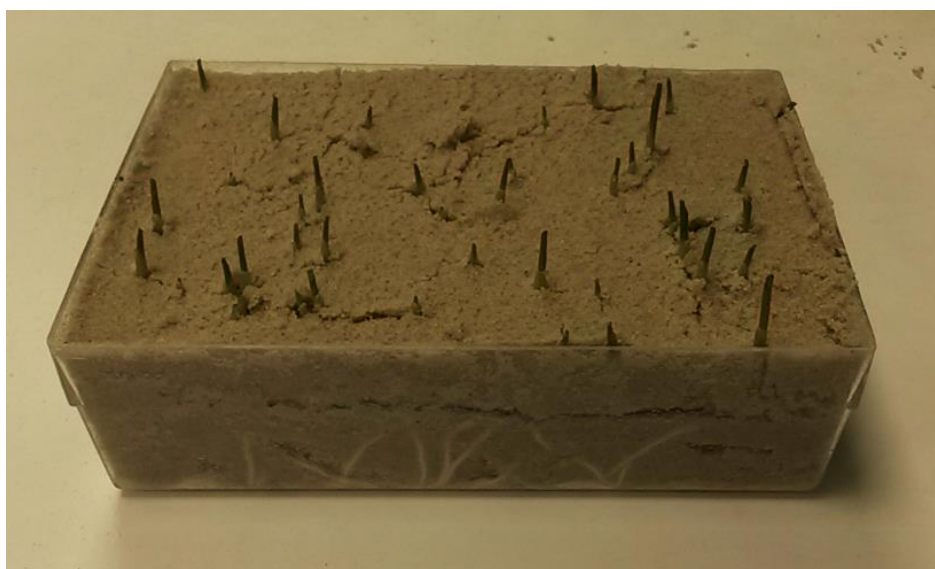


Figure 9 : Photographie d'une boîte de la méthode TS2 (sur sable des landes) au jour de lecture.

2.1.2. Les substrats

Le sable des landes et le sable de carrière sont très différents. On peut voir sur les figures 6 et 7 leur profil granulométrique. Le sable des landes à une granulométrie très fine et très régulière, en effet, on peut constater sur la figure 6 qu'environ 90% des particules qui le composent ont une taille comprise entre 0.25 et 0.5mm. Le sable de carrière quant à lui est plus grossier et moins régulier. La figure 7 nous montre que seulement 50% des particules qui le composent ont une taille similaire à celles du sable des landes. De plus, Les deux sables ont la même capacité de rétention de l'eau.

Ces différences impactent la mise en œuvre des méthodes. En effet, le sable de carrière est plus délicat à manipuler, le remplissage des boîtes est donc plus long. La lecture des résultats est également plus fastidieuse avec le sable de carrière en raison de sa texture.

Le papier de marque Macherey-Nagel se présente sous forme de grandes feuilles rectangulaires, assez épaisses pour retenir l'eau nécessaire à la germination et ne pas se déchirer.

2.2. Méthodes employées

2.2.1. Changement de substrat dans la méthode TERRENA

Afin de pouvoir remplacer le sable de carrière par le sable des landes dans la méthode employée en routine au laboratoire (TS1), nous avons lancé une série d'essais avec le lot de maïs témoin du laboratoire. Il s'agit d'un lot qui est analysé régulièrement afin de s'assurer du bon déroulement des analyses effectuées.

3 essais ont été lancés pour mettre au point la nouvelle méthode (TS2). Ces trois essais ont été lancés dans les mêmes conditions que la méthode TS1 en utilisant du sable des landes, à 3 saturations en eau différentes, 75,85 et 95%. 3 répétitions du témoin ont été lancées pour les 3 saturations. Une répétition de la méthode classique a également été réalisée afin de pouvoir déterminer la saturation en eau du sable des landes qui donne les résultats les plus proches de la méthode de référence.

Une fois la saturation optimale déterminée pour la nouvelle méthode (TS2), nous avons lancé les essais en suivant les méthodes TS1 et TS2 sur les échantillons des 21 lots de maïs afin de pouvoir les comparer. Les résultats permettront de valider ou non le nouveau protocole de Cold test.

La méthode TS1 est mise en place dans des boîtes rectangulaires (figure 8) contenant environ 1 kg de sable. Les méthodes sur sable des landes sont conduites dans des boîtes SNES (figure 9), elles contiennent environ 1.3 kg de sable. Le sable est mélangé à la quantité d'eau nécessaire à l'aide d'une bétonnière afin d'obtenir un substrat bien homogène et ne pas induire de biais. On dépose une première couche de sable (15 mm pour TS1, 26 mm pour TS2) au fond de la boîte puis on place les graines à l'aide d'une tête de comptage. On enfonce légèrement les graines avec un tasseur avant de les recouvrir d'une autre couche de sable (15 mm pour TS1, 21 mm pour TS2).

Pour ces deux méthodes, les boîtes sont placées pendant 8 jours dans une chambre de germination qui est programmée pour fournir une température de 5°C à l'obscurité pendant 12h puis de 25°C à la lumière pendant 12h.



Figure 10 : Photographie d'une caisse SNES au jour de lecture.



Figure 11 : Photographie d'une caisse germination maïs au jour de lecture.

A l'issue de ces 8 jours, les boîtes sont retirées de la chambre de germination et on procède à la lecture des résultats.

2.2.2. Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion

Les 21 échantillons seront analysés par 7 méthodes différentes, y compris les 2 méthodes décrites dans la partie précédente. La 8^{ème} méthode (AS2) ne sera conduite que sur les lots traités au SONIDO et sur le témoin.

4 méthodes sont conduites dans des boîtes sur du sable, 1 méthode dans des boîtes sur un mélange terreau et sable et 3 sur papier roulé. Les caractéristiques de chaque méthode sont résumées dans le tableau I.

La méthode AS1 est réalisée dans les mêmes boîtes et avec le même substrat que la méthode TS2. Cependant les boîtes ne sont pas placées dans la même chambre de germination. Elles sont premièrement placées dans une chambre froide à 10°C à l'obscurité pendant 7 jours puis dans une chambre de germination à 25°C avec 12h de lumière pendant 4 jours.

La méthode AS2 est conduite de la même manière que la méthode AS1 à l'exception du substrat qui est un mélange de terreau et de sable.

La méthode AT est conduite dans les mêmes boîtes que pour les méthodes AS1 et AS2, sur sable des landes à la même saturation que la méthode TS2. Les boîtes sont placées 3 jours dans la chambre froide puis 4 jours dans la chambre de germination.

En ce qui concerne les méthodes sur papier roulé, les buvards de marque Macherey-Nagel sont humidifiés la veille du semi en versant sur ces derniers, le double de leur poids en eau. Ils doivent être conservés au frais et de manière hermétique afin de ne pas se dessécher.

On utilise deux feuilles de papier que l'on superpose, sur lesquelles on vient déposer 50 graines à l'aide d'une tête de comptage. On roule ensuite les buvards en prenant soin de plier l'extrémité du rouleau avant de l'avoir totalement roulé afin d'éviter que certaines graines ne tombent. Les rouleaux sont ensuite déposés dans des caisses SNES (figure 10) pour les méthodes TP et AP et, pour la méthode MP, dans des caisses germination maïs (figure 11) que l'on recouvre d'une poche plastique opaque afin de laisser les rouleaux constamment à l'obscurité.

Pour toutes les méthodes, un essai est réalisé sur 200 graines. Pour les méthodes sur sable, un essai est composé de 2 boîtes contenant 100 graines chacune. Pour les méthodes sur papier, un essai est composé de 4 rouleaux contenant 50 graines chacun.

2.3. Lecture des résultats

2.3.1. Méthodes sur sable

Au jour de lecture, on sort les boîtes des chambres de germination puis l'on enlève délicatement un maximum de sable des plantules. On observe ensuite les plantules une par une à l'œil nu afin de juger si elles sont viables ou non.

Les résultats sont obtenus en déterminant le pourcentage de plantules pouvant potentiellement donner une plante satisfaisante. La plantule doit être en possession de tous ses organes essentiels et ne doit pas présenter de défauts majeurs. On moyenne ensuite les deux résultats (2*100 graines) en s'assurant de leur

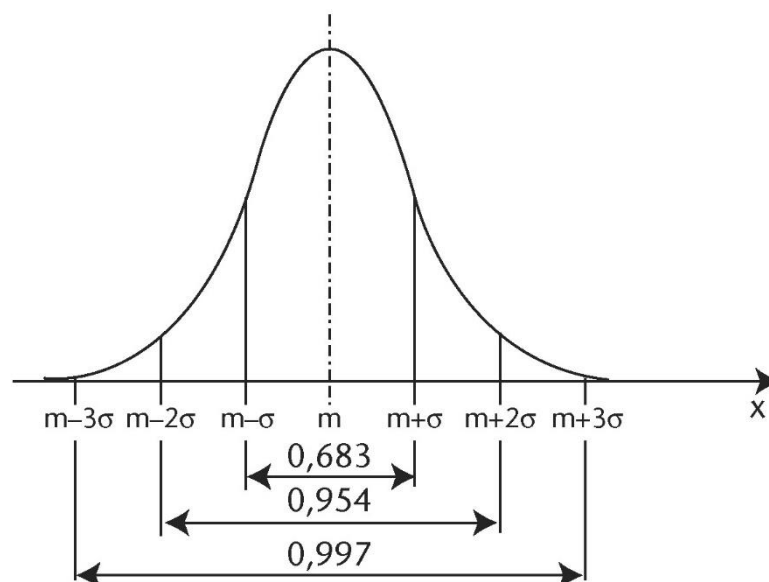


Figure 12 : Courbe de gauss représentative de la loi normale avec m la moyenne et σ l'écart type.

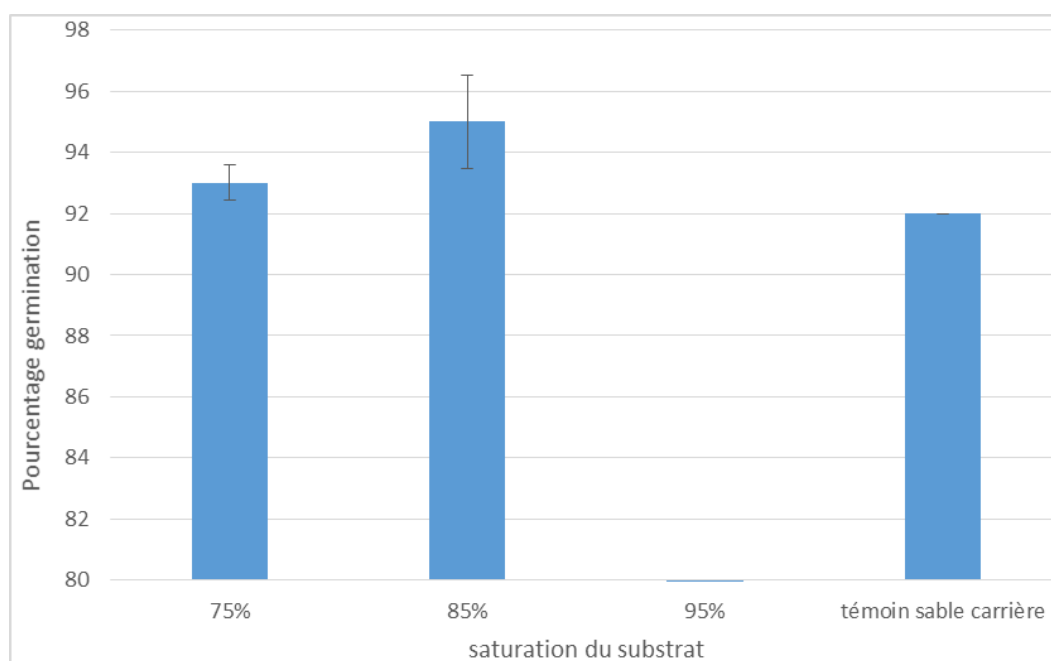


Figure 13 : Graphique représentant les résultats de la mise en place de la méthode TS2 pour les saturations 75, 85 et 95% ainsi que pour le témoin

homogénéité en se référant au tableau fourni par l'ISTA qui indique, pour un pourcentage moyen de germination donné, l'écart maximum entre les résultats des deux répétitions. Lorsque la moyenne des deux répétitions n'est pas un chiffre entier, on arrondi à l'entier supérieur le plus proche.

2.3.2. Méthodes sur papier

Pour les méthodes sur papier, on prend deux rouleaux du même essai puis on les déroule, pour avoir 100 plantules. De la même manière que pour les méthodes sur sable, on détermine le pourcentage de plantules pouvant potentiellement donner une plante satisfaisante. Puis, on moyenne ce résultat avec celui des deux autres rouleaux en s'assurant de l'homogénéité des répétitions.

2.4. Analyses statistiques

Les méthodes testées sont comparées en utilisant des cartes de contrôle grâce au logiciel Excel. Les cartes de contrôle étudient les écarts entre deux séries de données, ici entre les résultats de deux méthodes différentes. On considère que les écarts suivent une loi normale de paramètre m et σ (figure 12). Avec m , la moyenne des écarts et σ l'écart type. Ainsi, 95% des valeurs sont comprises entre $m-2\sigma$ et $m+2\sigma$.

Or si X suit une loi normale de paramètres m et σ , la variable $Y = \frac{X-m}{\sigma}$ suit une loi normale centrée réduite (de paramètre 0,1). Ce changement de variable permet alors de se référer à la table de la loi normale centrée réduite pour déterminer la probabilité que l'écart entre une méthode donnée et une méthode de référence soit supérieur à l'écart observé.

Ainsi, si l'écart observé entre deux méthodes est nul, la probabilité traduite de la loi normale sera de 0.5. En revanche, plus le résultat de la méthode testée sera supérieur à la méthode de référence, autrement dit, plus l'écart sera positif, plus la probabilité traduite de la loi normale sera proche de 0. À l'inverse, plus l'écart entre la méthode testée et la méthode de référence sera négatif, plus la probabilité traduite de la loi normale sera proche de 1. Une probabilité inférieure à 0.001 ou supérieure à 0.999 traduit un écart anormal.

La carte de contrôle fournit un graphique qui représente la distribution des probabilités de la loi normale entre 0 et 1. En suivant le raisonnement précédent, on peut interpréter ces graphiques de la manière suivante. Plus les points sont regroupés à gauche du graphique (proche de 0), plus la méthode testée surestime les résultats par rapport à la méthode de référence. Plus les points sont regroupés à droite du graphique (proche de 1), plus la méthode testée sous-estime les résultats par rapport à la méthode de référence. Enfin, plus les points sont regroupés au milieu (proche de 0.5), plus la méthode testée donne des résultats conformes à la méthode de référence.

La carte de contrôle fournit également le résultat d'un test sur les écarts, le test S. sa statistique renseigne sur la conformité d'une méthode testée à une méthode de référence. La statistique S est calculée grâce à la formule suivante :

$$S = \sqrt{\frac{12}{K}} \sum_{i=1}^K (Pi - 0.5)$$

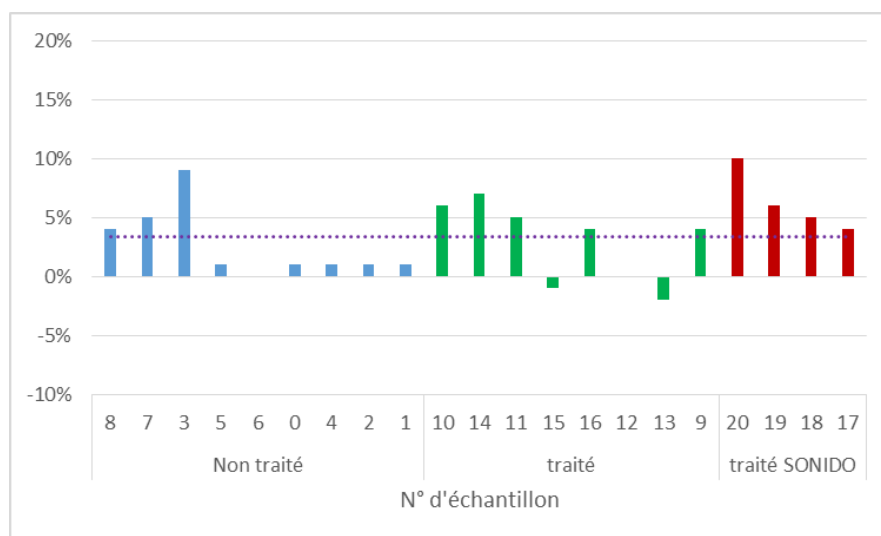


Figure 14 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes TS1 et TS2 pour chaque lot. Les écarts sont obtenus en soustrayant les résultats de TS1 à ceux de TS2.

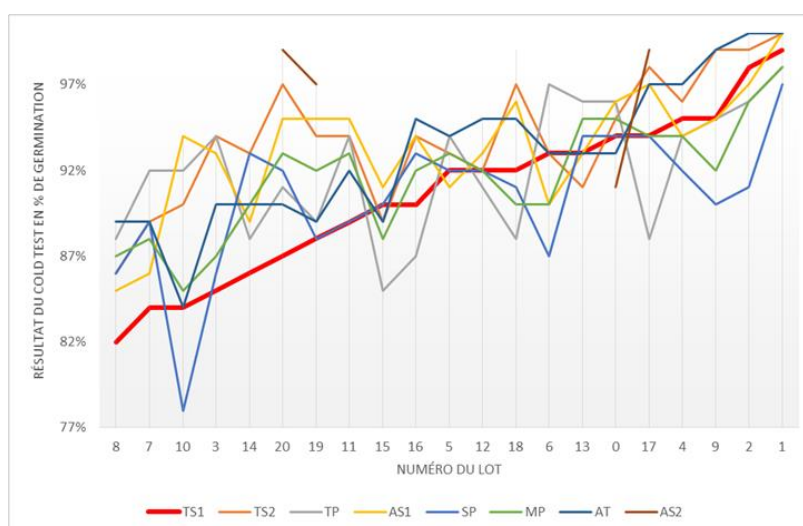


Figure 15 : Graphique représentant l'ensemble des résultats de cold test pour les 8 méthodes employées. Résultats classés par ordre croissant des résultats de la méthode TS1.

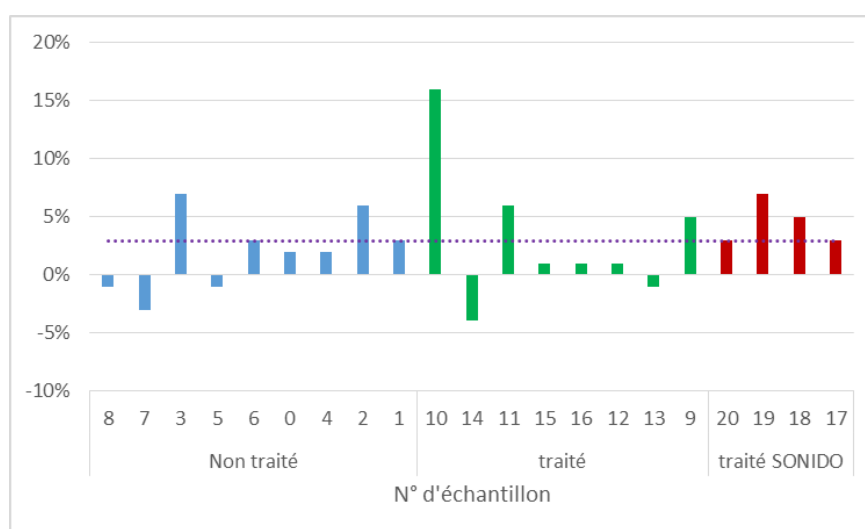


Figure 16 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes AS1 et AP pour chaque lot. Les écarts sont obtenus en soustrayant les résultats de AP à ceux de AS1.

Avec

K = nombre de couples de résultats

P_i = la probabilité traduite d'un écart

Pour que le test S soit conforme cette statistique doit être contenue dans l'intervalle $[-1.8 ; 1.8]$ au risque 5%. Si S est inférieur à -1.8 alors la méthode testée surestime significativement la méthode de référence, à l'inverse, si S est supérieur à 1.8 , la méthode testée sous-estime significativement la méthode de référence. La carte de contrôle fournit également un diagramme en barre qui représente la distribution des probabilités dans 5 classes. Ce diagramme permet de voir si les écarts ont une distribution homogène ou non.

Afin de rendre les cartes de contrôle plus lisibles, elles seront toutes construites de la même manière. Les lots seront classés premièrement sur le fait qu'ils soient traités ou non, puis par ordre croissant des résultats de la méthode de référence. De cette manière, il sera possible de voir s'il y a un effet du traitement sur les méthodes ainsi qu'un effet de la vigueur des lots.

3. Résultats

3.1. Changement de substrat dans la méthode TERRENA

On peut voir sur la figure 13 les résultats de la mise en place de la méthode Terrena sur sable des landes. On remarque qu'il n'y a pas de valeur pour la saturation du sable à 95%. En effet, ce taux de saturation n'a pas permis aux semences de germer.

On observe que le témoin a un résultat de cold test de 92%. Le taux de saturation à 75% donne un résultat plus proche du témoin que le taux à 85%, 93 contre 95. De plus, l'écart type des 3 répétitions est beaucoup plus faible (0.6) pour la saturation à 75% que pour celle à 85% (1.5).

La saturation à 75% a donc été retenue pour tenter de remplacer le sable de carrière par le sable des landes.

La figure 14 représente les écarts entre des résultats de cold test entre les méthodes TS1 et TS2. On remarque que pour une grande majorité des échantillons, l'écart entre les deux méthodes est positif. En effet, la moyenne des écarts entre la méthode TS1 et TS2 est de 3,4%. Cet écart traduit le fait que la méthode TS2 donne des résultats plus élevés que la méthode TS1.

De plus, la carte de contrôle (ANNEXE I) montre que les probabilités traduites de la loi normale sont en grande majorité situées entre 0 et 0.5 ce qui signifie à nouveau que la méthode TS2 présente des résultats supérieurs à la méthode TS1. Le test S confirme ces observations puisqu'il donne un résultat de -4.84 , ce qui est très largement en dehors des limites de conformité.

Tableau II : Tableau récapitulatif de l'écart entre la méthode TS1 et les autres méthodes. – signifie que la méthode sous-estime les résultats par rapport à TS1 mais qu'ils ne sont pas significativement différents. + signifie que la méthode surestime les résultats par rapport à TS1 mais qu'ils ne sont pas significativement différents. ++ signifie que la méthode surestime les résultats par rapport à TS1 et qu'ils sont significativement différents.

	AP	MP	TP	AT	AS1	TS2
TS1	-	+	+	++	++	++
Moyenne des écarts	-0.19%	1.05%	1.48%	2.43%	2.71%	3.38%
Ecart type	3.8%	2.7%	4.3%	2.2%	3.5%	3.2%

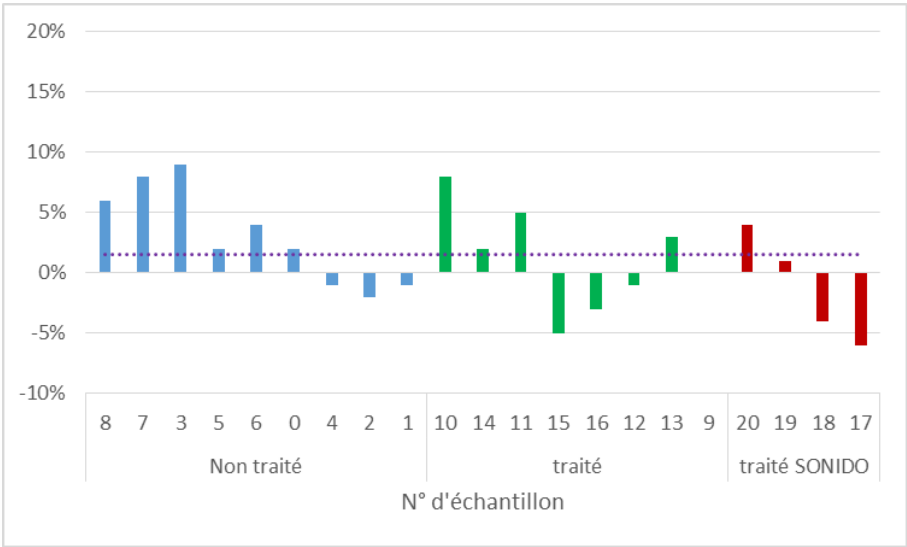


Figure 17 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes TS1 et TP pour chaque lot. Les écarts sont obtenus en soustrayant les résultats de TS1 à ceux de TP.

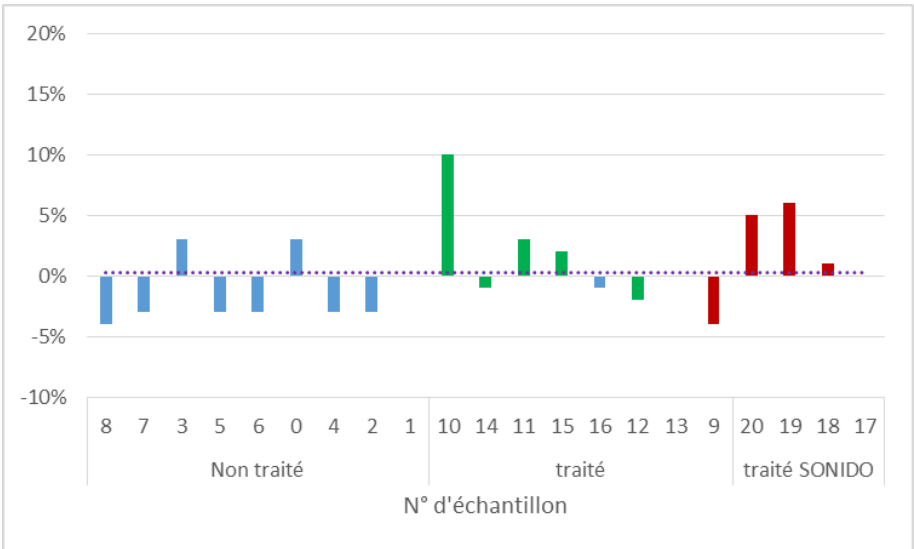


Figure 18 : Graphique représentant les écarts de résultats entre les méthodes AT et AS1 pour chaque lot. Les écarts sont obtenus en soustrayant les résultats de AT à ceux de AS1.

3.2. Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion

3.2.1. Tendances générales

La figure 15 nous montre l'ensemble des résultats de cold test pour chaque méthode et chaque lot, classés dans l'ordre croissant des résultats de la méthode de référence, TS1.

On peut voir que les résultats sont très hétérogènes entre les différentes méthodes. En moyenne l'écart maximum entre les résultats des différentes méthodes est de 7.3 avec un écart maximum allant jusqu'à 16 pour l'échantillon 10.

3.2.2. Comparaison des méthodes du client A

On peut voir, sur la figure 16, la répartition des écarts entre les résultats de la méthode sable et de la méthode papier du client A (AS1 et AP). On remarque que les écarts entre la méthode sur sable (AS1) et la méthode sur papier (AP) sont positifs dans la plupart des cas avec un écart maximum de 16%. La moyenne des écarts entre ces deux méthodes est de 2.9%. Il semble donc que la méthode AS1 donne des résultats supérieurs à la méthode AP, ce qui est confirmé par le résultat du test S fourni par la carte de contrôle (ANNEXE II). En effet, le test S donne un résultat de -3.74, on peut donc dire que la méthode AS1 donne des résultats significativement supérieurs à la méthode A.

3.2.3. Comparaison des méthodes sur papier

Sur le tableau II, on peut voir que les trois méthodes conduites sur papier (TP, AP et MP) sont celles qui présentent l'écart moyen le plus faible avec la méthode de référence TS1. De plus, les cartes de contrôle en ANNEXE III, IV et V nous montrent que ces trois méthodes donnent des résultats équivalents à la méthode TS1.

En effet, les résultats des tests S sont de -1.5 pour la méthode TP, 0.36 pour la méthode AP et -1.21 pour la méthode MP. Ces 3 résultats sont bien compris entre les bornes de conformité.

Cependant, le tableau II nous montre que les 3 méthodes sur papier ne donnent pas des résultats similaires. On voit que la moyenne des écarts entre les résultats de la méthode AP et TS1 est légèrement négative (-0.36), la méthode AP donne donc des résultats légèrement inférieurs à la méthode TS1 mais ils ne sont pas significativement différents. Les méthodes MP et TP quant à elles, donnent des résultats légèrement supérieurs à la méthode TS1.

Cette tendance est confirmée par la carte de contrôle (ANNEXE VI) qui nous indique que la méthode MP donne des résultats significativement supérieurs à la méthode AP, avec un résultat de test S de -2.07.

Sur la figure 17, comme pour les autres figures, les écarts sont présentés dans l'ordre croissant des résultats de cold test pour la méthode TS1. On peut noter que, d'une manière générale, que les lots soient traités ou non, les écarts entre la méthode TP et la méthode TS1 ont tendance à être positifs pour les résultats de cold test les plus faibles, puis négatifs pour les résultats plus élevés.

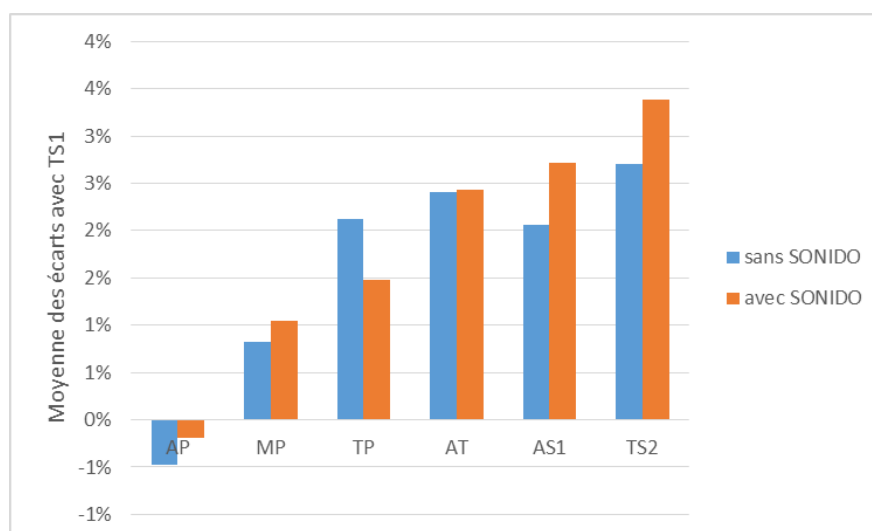


Figure 19 : Moyenne des écarts entre la méthode TS1 et les autres méthodes avec et sans les lots traités au SONIDO.

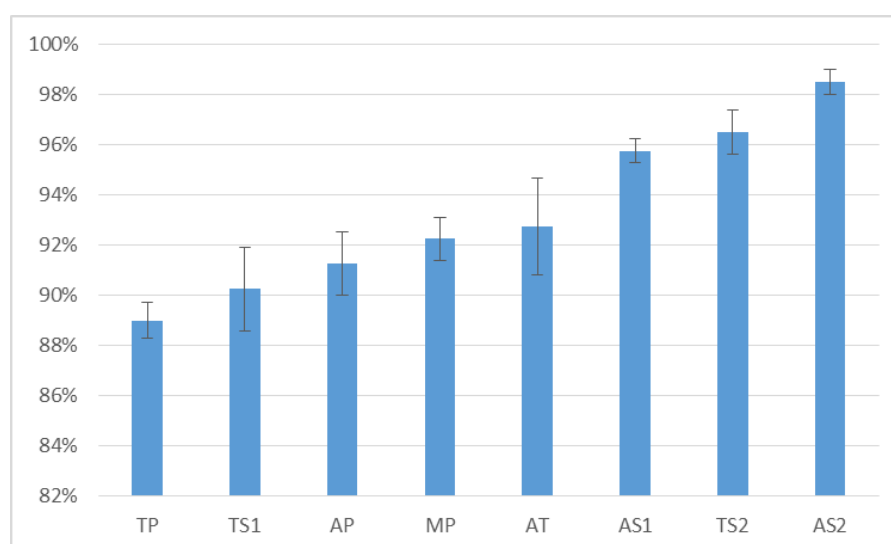


Figure 20 : Moyenne des résultats des lots traités au SONIDO pour chaque méthode.

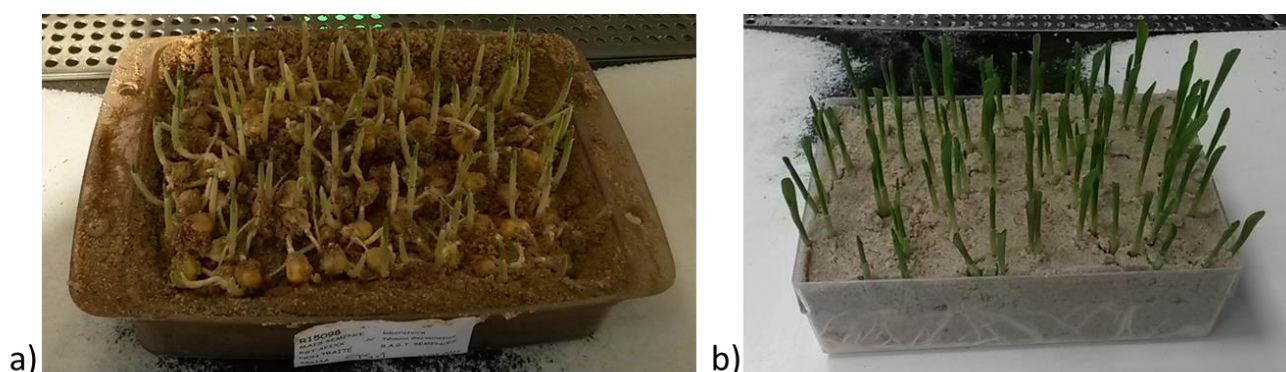


Figure 21 : Photographies de boîtes des méthodes TS1 et TS2 pour le lot témoin. a) méthode TS1 (sable de carrière). b) méthode TS2 (sable des landes).

3.2.4. Comparaison des méthodes sur sable

Nous avons déjà vu dans la partie 3.2.2 que la méthode TS2 donne des résultats plus élevés que la méthode TS1. En ce qui concerne les deux autres méthodes sur sable (AS1 et AT), on peut constater sur le tableau II que leurs résultats sont très éloignés de ceux obtenus avec la méthode TS1. La moyenne des écarts avec la méthode TS1 est de 2.71% pour la méthode AS1 et de 2.43% pour la méthode AT. D'après ces résultats, ces deux méthodes semblent surestimer les résultats par rapport à la méthode TS1. La carte de contrôle en annexe VII confirme que la méthode AS1 surestime significativement les résultats par rapport à la méthode TS1 avec un test S de -3.57 (ANNEXE VII). Il en va de même pour la méthode AT avec un test S de -4.49 (résultat non montré).

Le tableau II montre également que la moyenne des écarts entre AS1 et TS1 est très proche de celle entre AT et TS1. On peut voir sur la figure 18 la répartition des écarts entre ces deux méthodes.

Cette figure nous montre que les écarts sont bien répartis autour de 0. En effet, la moyenne des écarts entre ces deux méthodes est de 0.29%. De plus le test S fourni par la carte de contrôle comparant ces deux méthodes (résultats non montrés) est de 0.3 ce qui indique que les deux méthodes offrent des résultats qui ne sont pas significativement différents.

Il en va de même pour les méthodes AS1 et TS2 ($S = -1.55$) qui sont compatibles ainsi que pour les méthodes TS2 et AT ($S=1.10$). Autrement dit, les méthodes sur sable des landes sont toutes compatibles entre elles.

3.2.5. Impact du SONIDO

La figure 19 représente la moyenne des écarts entre la méthode TS1 et les autres méthodes, avec et sans les lots traités au SONIDO. On remarque que pour la plupart des méthodes, le SONIDO influence fortement la moyenne des écarts. Dans le cas de la méthode AS1, les 4 lots traités au SONIDO augmentent la moyenne des écarts avec TS1 de 32%. Néanmoins, les cartes de contrôles créées sans les échantillons traités au SONIDO montrent qu'en dépit du fait que ce traitement puisse accentuer les écarts, il n'y a pas de changement d'équivalence entre les méthodes (résultats non montrés).

La figure 20 indique la moyenne des résultats des 4 lots traités au SONIDO pour chaque méthode. On remarque que la méthode AS2 est celle qui donne les résultats les plus élevés et qu'il existe des écarts importants avec les autres méthodes. On constate par exemple un écart de 8% avec la méthode TS1 et de presque 10% avec la méthode MP.

4. Discussion

4.1. Changement de substrat dans la méthode TERRENA

La mise en place de la méthode TS2 nous a révélé que la saturation du sable à 95% en eau ne permettait pas aux semences de germer. En effet, la trop forte teneur en eau induit une quantité d'oxygène disponible trop faible ce qui déclenche un début de fermentation et ne permet pas aux mécanismes de germination de se mettre en place.

CT	WT	< 90	[90 - 92[[92 - 94[[94 - 97[>=97
	<84	class 5	Class 4			
	[84-88[Class 3			
	[88 - 92[Class 2			
	[92 - 95[Class 1			
	>= 95		Class 1			

Figure 22 : Grille d'attribution des choix de qualité appliqués chez le client A.

De manière inattendue, les résultats de la mise en place de cette méthode sont supérieurs avec un taux de saturation à 85% qu'à 75% alors qu'on pouvait s'attendre à ce que la plus grande saturation induise un stress plus fort. Les résultats de la mise en place étant les plus proches du témoin et ayant l'écart type le plus faible avec 75% de saturation de substrat, cette dernière a été retenue pour la méthode TS2.

Les résultats ont montré que la méthode TS2 mise au point dans le but d'arrêter l'utilisation du sable de carrière au laboratoire ne donne pas de résultats conformes à la méthode TS1. En effet, la méthode TS2 donne des résultats significativement supérieurs à la méthode TS1. Cette différence de résultats est probablement due à la différence de profil granulométrique des deux sables. Comme nous l'avons vu précédemment, le sable de carrière est moins régulier que le sable des landes et il possède des particules beaucoup plus grossières. Il semble donc que le sable des landes ne soit pas assez contraignant pour remplacer le sable de carrière dans cette méthode. On peut d'ailleurs se rendre compte de la différence de contrainte qu'apportent ces deux sables aux plantules sur la figure 21. On voit aisément que les plantules d'un même lot se développent plus difficilement sur le sable de carrière que sur le sable des landes.

4.2. Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion

Comme pouvaient laisser présager les résultats de circuits de la FNPSMS, les 8 méthodes testées au cours de cet essai donnent des résultats très hétérogènes. De plus, pour la plupart des comparaisons, les écarts entre deux méthodes sont très variables. D'un lot à l'autre, l'écart entre deux méthodes peut être largement positif ou largement négatif. Ces observations confirment la difficulté qu'il peut exister pour mettre au point un protocole de cold test unique et standardisé.

Les résultats de cette étude ont montré que les méthodes sur papier donnent les résultats les plus proches de la méthode TS1, en effet, les 3 méthodes sur papier sont les seules à être conformes à cette méthode de référence.

Cependant, la comparaison entre les méthodes du client A remet en question les résultats des méthodes sur papier. En effet, ces deux méthodes sont imposées par le client aux laboratoires avec lesquels il travaille. Certains laboratoires comme le laboratoire de TERRENA SEMENCES utilisent la méthode sur sable et d'autres laboratoires utilisent le protocole sur papier. Ces deux méthodes sont régulièrement comparées et donnent des résultats équivalents, ils sont utilisés de la même manière par le client.

Or, dans cet étude, nous avons vu que les résultats de ces deux méthodes sont significativement différents, la méthode sur papier donne des résultats plus faibles que la méthode sur sable.

La méthode sur sable (AS1) est une des méthodes employées régulièrement au laboratoire, sa mise en place et sa conduite sont donc bien maîtrisées, les résultats obtenus pour cette méthode sont donc fiables. En revanche, aucune des 3 méthodes de Cold test sur papier n'est habituellement utilisée au laboratoire. Nous avons suivi les protocoles mis en place par les clients ou partenaires. Il semble donc que les méthodes sur papier aient fourni des résultats inférieurs à ce qu'ils auraient dû être. Cette sous-estimation des résultats peut s'expliquer par de nombreux facteurs. Il est possible que les buvards n'aient pas été humidifiés de la bonne manière ou que le conditionnement des rouleaux ne soit pas optimal.

Tableau III : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de cold test.

Méthode	Avantages	Inconvénients
TS1	<ul style="list-style-type: none"> - Obtention rapide des résultats 	<ul style="list-style-type: none"> - Encombrement - Mise en œuvre fastidieuse - Lecture des résultats ralentie par la texture du sable.
TS2	<ul style="list-style-type: none"> - Obtention rapide des résultats - Sable facile à manipuler 	<ul style="list-style-type: none"> - Résultats non équivalents à TS1
AT	<ul style="list-style-type: none"> - Obtention rapide des résultats - Sable facile à manipuler 	<ul style="list-style-type: none"> - Doutes sur l'efficacité de la courte période de froid sur tous les lots de semences de maïs
AS1	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode déjà employée au laboratoire - Fiabilité des résultats 	<ul style="list-style-type: none"> - Durée trop longue entre le semis et la lecture
AP	<ul style="list-style-type: none"> - Gain de place considérable par rapport aux méthodes sur sable - Simplification de lecture - Substrat plus sécuritaire que le sable au laboratoire 	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode non maîtrisée à l'heure actuelle - Durée trop longue entre le semis et la lecture
MP	<ul style="list-style-type: none"> - Gain de place considérable par rapport aux méthodes sur sable - Simplification de lecture - Substrat plus sécuritaire que le sable au laboratoire - Economies d'énergie grâce à l'absence de lumière 	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode non maîtrisée à l'heure actuelle - Durée trop longue entre le semis et la lecture
TP	<ul style="list-style-type: none"> - Obtention rapide des résultats - Gain de place considérable par rapport aux méthodes sur sable - Simplification de lecture - Substrat plus sécuritaire que le sable au laboratoire 	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode non maîtrisée à l'heure actuelle

Il est également possible que la manière de préparer les rouleaux ait entraîné une baisse de la germination, en les serrant trop ou pas assez, ou bien encore en ne disposant pas les graines de la manière la plus optimale.

Le laboratoire n'est donc actuellement pas prêt à utiliser des méthodes de cold test sur papier pour le maïs, de nouvelles expérimentations seraient nécessaires pour déterminer une méthodologie fonctionnelle et fiable.

En ce qui concerne les méthodes sur sable des landes, on a pu constater qu'aucune d'entre elles ne sont compatibles avec la méthode TS1, ce qui montre une nouvelle fois le fait que le sable de carrière est plus contraignant et sélectif que le sable des landes. Ces résultats sont conformes à ce que nous imaginions car si on compare la figure 5 et la figure 22, on peut s'apercevoir que le client A compense le fait que ses méthodes soient moins restrictives par des critères de décisions plus sévères. La classe correspondant à la plus haute qualité par exemple se situe pour la méthode TERRENA entre une FG de 96 à 100 et un cold test de 93 à 100 alors que pour les méthodes client A, elle se situe entre une FG de 97 à 100 et un cold test de 95 à 100.

Les 3 méthodes sur sable des landes (AS1, AT et TS2) montrent des résultats conformes. Or la méthode AS1 nécessite 11 jours du semis à la lecture alors que les méthodes AT et TS2 nécessitent respectivement 7 et 8 jours du semis à la récolte. Ces résultats suggèrent donc que la méthode du client pourrait potentiellement être raccourcie.

En ce qui concerne la méthode AT, il s'agit de la méthode la plus courte puisque la période d'exposition au froid a été réduite en se basant sur le fait que la sensibilité au froid est maximale après 3 jours d'imbibition (Bewey et al., 2006). La période de froid choisie de 3 jours serait donc potentiellement la période minimum applicable. Cette méthode donne des résultats équivalents aux autres méthodes sur sable des landes, cependant, on peut s'interroger sur l'efficacité d'une période au froid si courte sur certains lots de semences qui seraient plus résistants.

Cette étude a également montré que le SONIDO pose un réel problème dans les résultats de cold test et qu'il peut induire des écarts considérables entre les méthodes. Il apparaît donc nécessaire que les échantillons concernés soient analysés par une méthode spécifique (AS2) avec un mélange terreau sable qui semble fonctionner pour atténuer la phytotoxicité de ce produit phytosanitaire.

5. Conclusions et perspectives

5.1. Changement de substrat dans la méthode TERRENA

Nous avons donc vu qu'il n'est pas possible de remplacer le sable de carrière par le sable des landes tel qu'il était prévu, en attendant des résultats similaires.

Le tableau III résume les avantages et inconvénients de chaque méthode. Si on prend en compte le fait que les résultats des méthodes sur papiers sont probablement sous-estimés, on s'aperçoit que la méthode utilisée actuellement en routine au sein du laboratoire est très restrictive par rapport à toutes les autres testées au cours de cette étude.

Cette constatation remet en cause la légitimité de cette méthode. En effet, si elle est effectivement trop restrictive, on peut imaginer que certains lots de semences puissent être déclassés alors qu'en réalité ils sont suffisamment vigoureux.

Dans un premier temps, la solution pourrait être de se rapprocher de la méthode du client A sur sable (AS1) pour remplacer la méthode TS1. Cela permettrait de supprimer le sable de carrière et de diminuer les risques liés à la sévérité de la méthode TERRENA. De plus, les résultats de cette étude suggèrent que la durée de cette méthode peut être réduite. Dans ce cas, l'organisation au sein du laboratoire serait inchangée.

5.2. Comparaisons de méthodes en prévision de la fusion

En ce qui concerne la fusion avec Maïsadour, le laboratoire ne maîtrise actuellement pas les méthodes sur papier. Dans l'éventualité où l'une de ces méthodes serait retenue à la suite de la fusion, il serait nécessaire de faire des essais complémentaires pour s'assurer de la bonne mise en place et de la maîtrise de la méthode afin d'obtenir des résultats cohérents.

Cette étude a montré que le SONIDO pose un réel problème pour déterminer la vigueur des lots concernés. Il est nécessaire de recourir à un protocole spécial qui nécessite l'utilisation de terreau. Cependant, le SONIDO est un néonicotinoïde. Selon la loi passée en 2016, il ne devrait donc plus être utilisé d'ici 2018.

A l'avenir, en termes de mise en œuvre et d'encombrement il est vrai qu'il serait intéressant d'opter pour une méthode sur papier. L'utilisation de la méthode mise en place par Maïsadour serait alors une bonne option économique puisqu'elle ne nécessite pas de lumière dans les chambres froides et de germination. Il serait alors intéressant de conduire de nouveaux essais pour pouvoir éventuellement réduire le temps du semis à la lecture pour cette méthode.

6. Bibliographie

6.1. Articles

- Aliloo A.A., and Shokati B. (2011) Correlation between seed tests and field emergence of two maize hybrids (SC704 and SC500). Online J. Anim. Feed Res., 1:249-254.
- Anzala F. (1998). Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (Zea mays) : étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs. Doctora biologie cellulaire et moléculaire végétale, université d'Angers, 148p.
- Marcos-Filho J. (1998) New approaches to seed vigor testing. Sci. Agric., 55 :27-33.
- Marcos-Filho J. (2015) Seed vigor testing : an overview of the past, present and futur perspective. Sci. Agric., 72 :363-374.
- Milosevic M., Vujakovic M., and Karagic D. (2010) Vigour tests as indicators of seed viability. Genetika 42 :103-118.
- Noli E., Casarini G., Urso G., Conti, S. (2008) Suitability of three vigor test procedures to predict field performance of early sown maize seed. Seed Sci and technol 36:168-176.
- S. Shah F., E. Watson C., R. Cabrera E. (2002) Seed vigor testing of subtropical corn hybrids

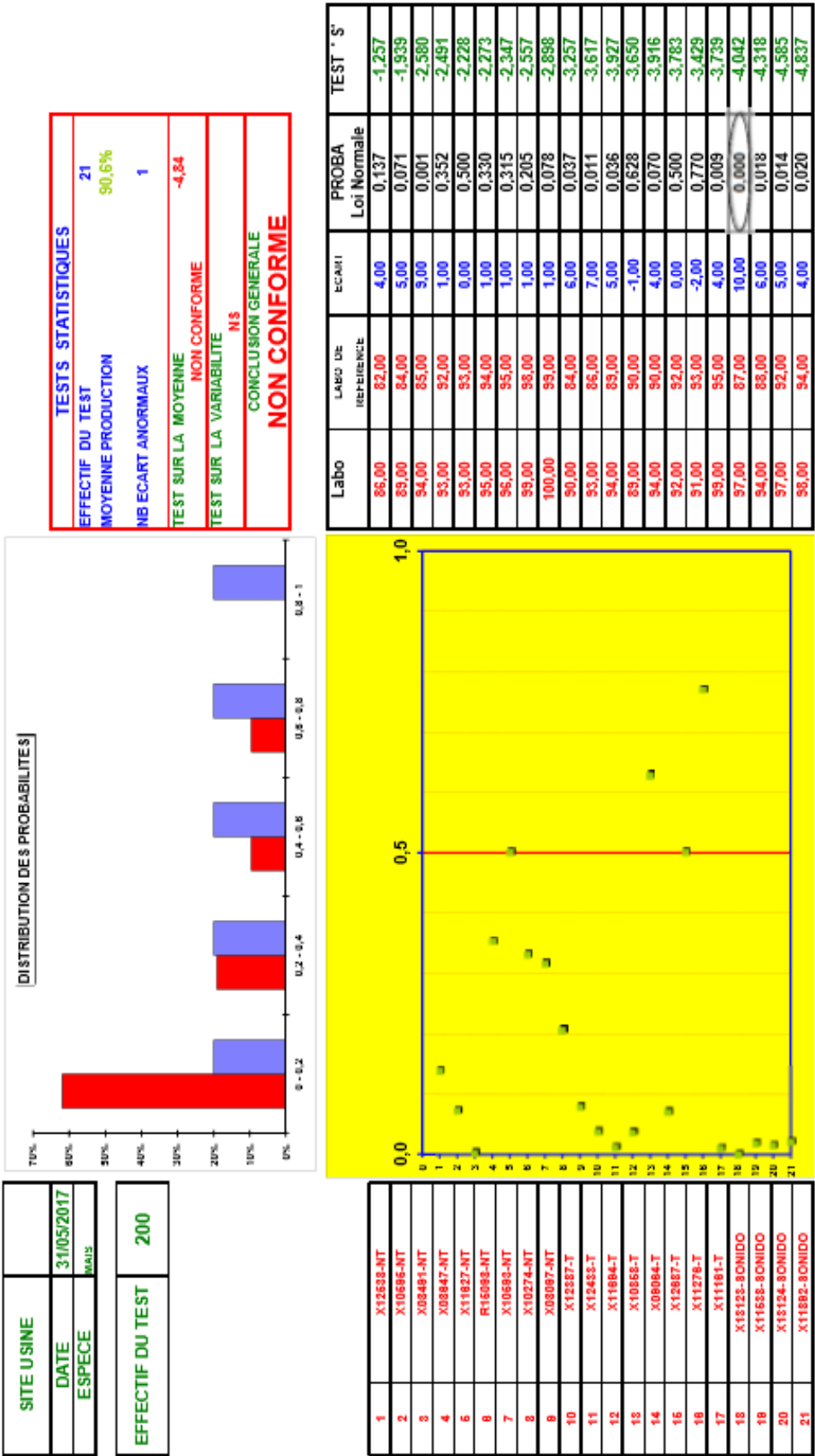
6.2. Livres

- ISTA (2015). Règles internationales pour les essais de semences
- Bewley J.D., Black M., Halmer P., (2006). The Encyclopedia of Seeds : Science, Technology and Uses. CABI, 828p.
- Taiz L., Zeiger E., Max Moller I., Murphy A. (2015). Seed dormancy, germination, and seedling establishment. In : Plant physiology and development. Sinauer Associates.

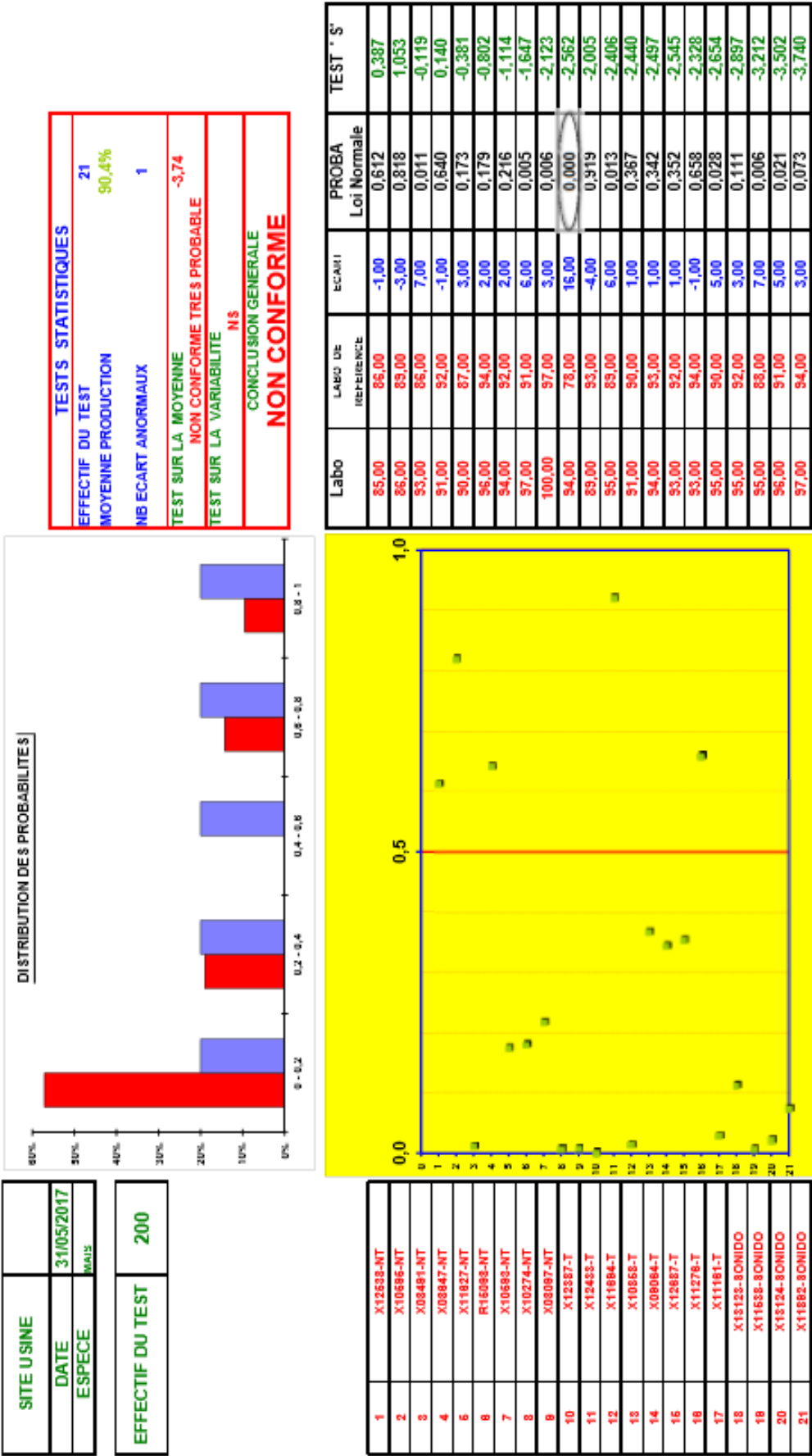
6.3. Sites web

- GNIS (2017a). Le maïs : son origine et ses caractéristiques. <http://www.gnis-pedagogie.org/mais-origine-et-caracteristiques.html> (consulté le 09/05/2017)
- GNIS (2017b). La production de semences de maïs. <http://www.gnis-pedagogie.org/mais-production-de-semences-mais.html> (consulté le 09/05/2017)
- GNIS (2017c). La filière semences de maïs en France. <http://www.gnis-pedagogie.org/mais-filiere-semences-en-france.html> (consulté le 09/05/2017)
- AGREST (2017). Surfaces, productions, rendements des céréales, oléagineux, protéagineux, résultats 2015 définitifs et 2016 provisoires. <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/saa2017T2dbspca.pdf>
- TERRENA et MAÏSADOUR (2015). Communiqué de presse. Les coopératives Maïsadour et Terrena étudient le rapprochement de leurs activités semences pour créer un leader européen du secteur.

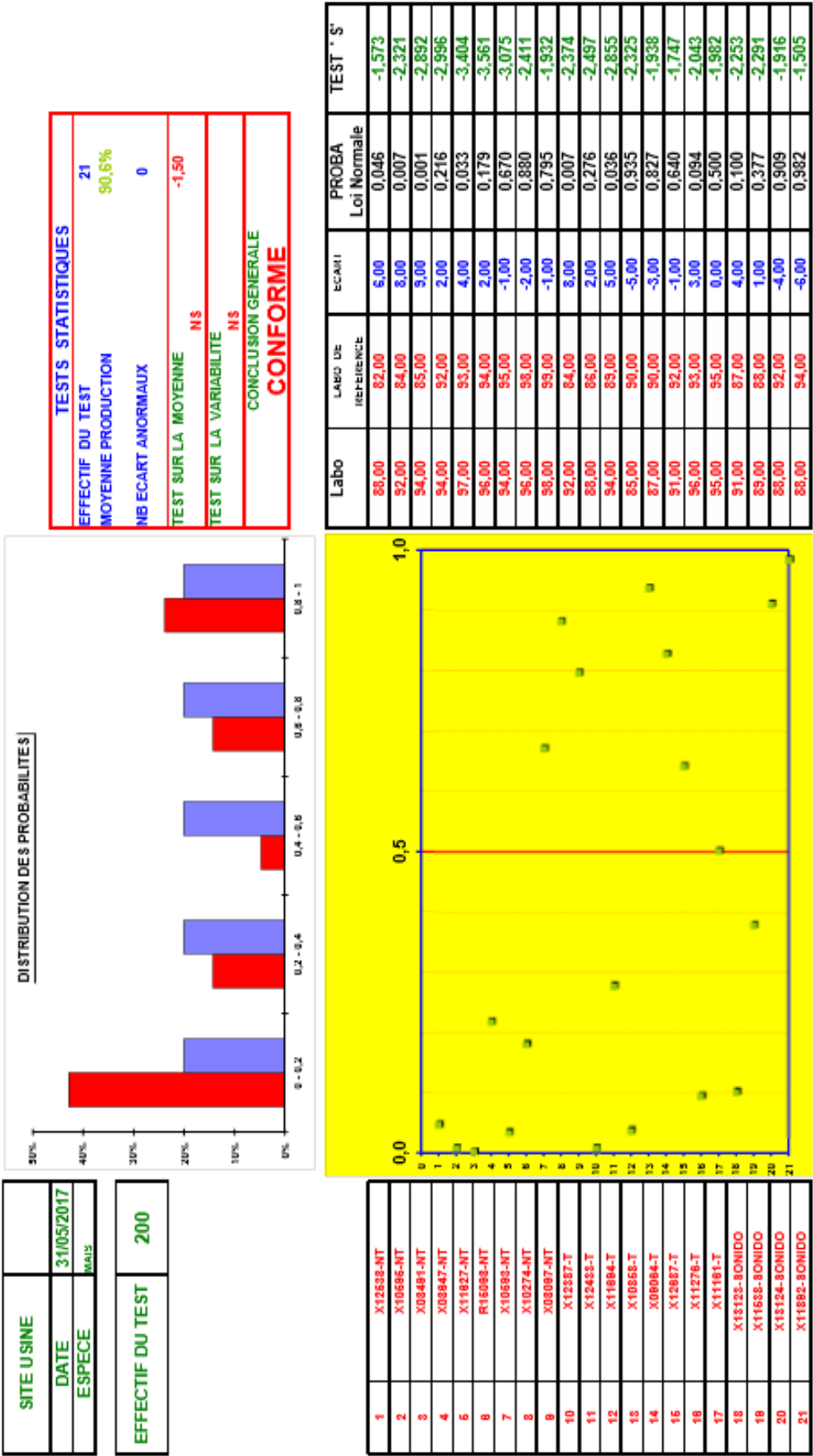
ANNEXE I : Carte de comparaison des méthodes TS1 et TS2



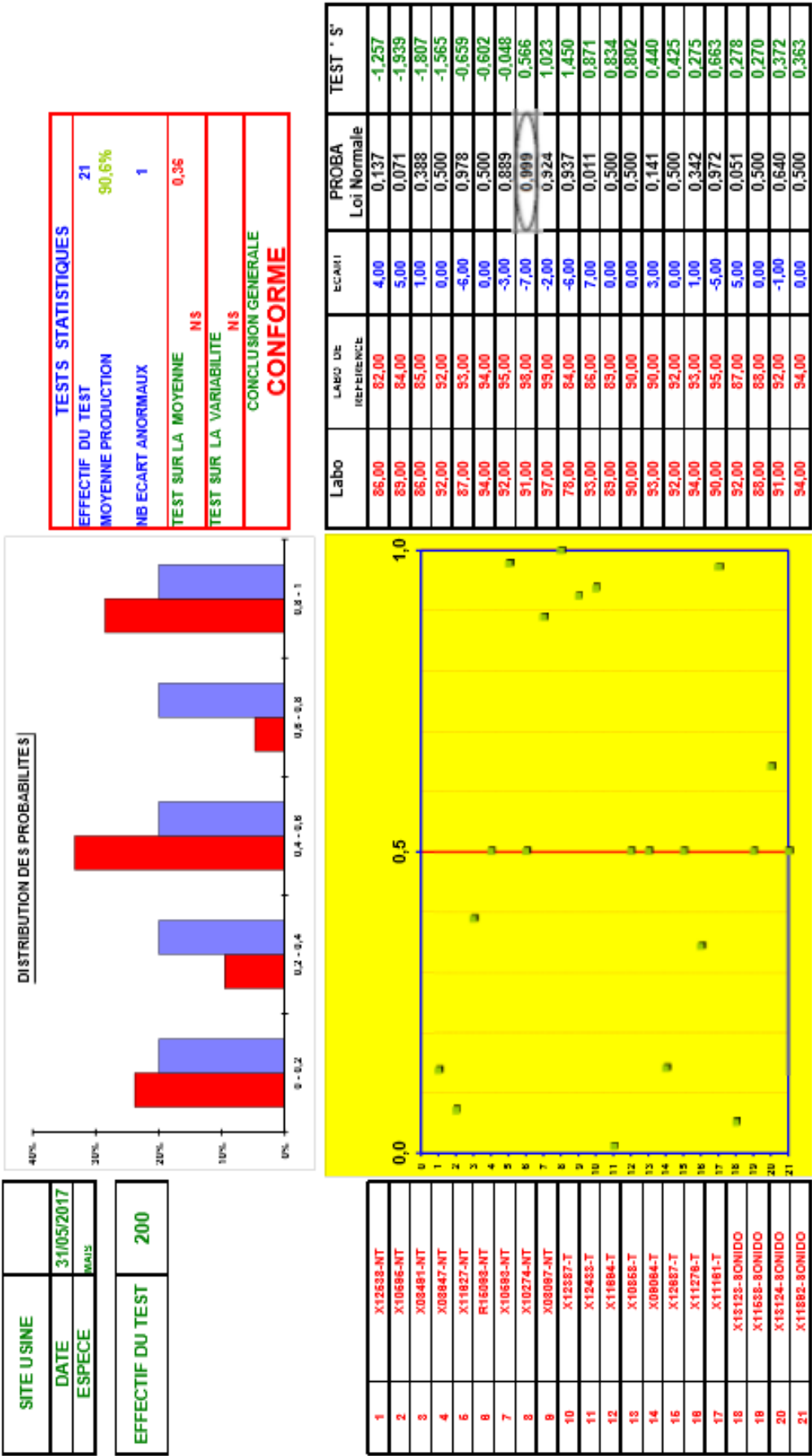
ANNEXE II : Carte de comparaison des méthodes AS1 et AP



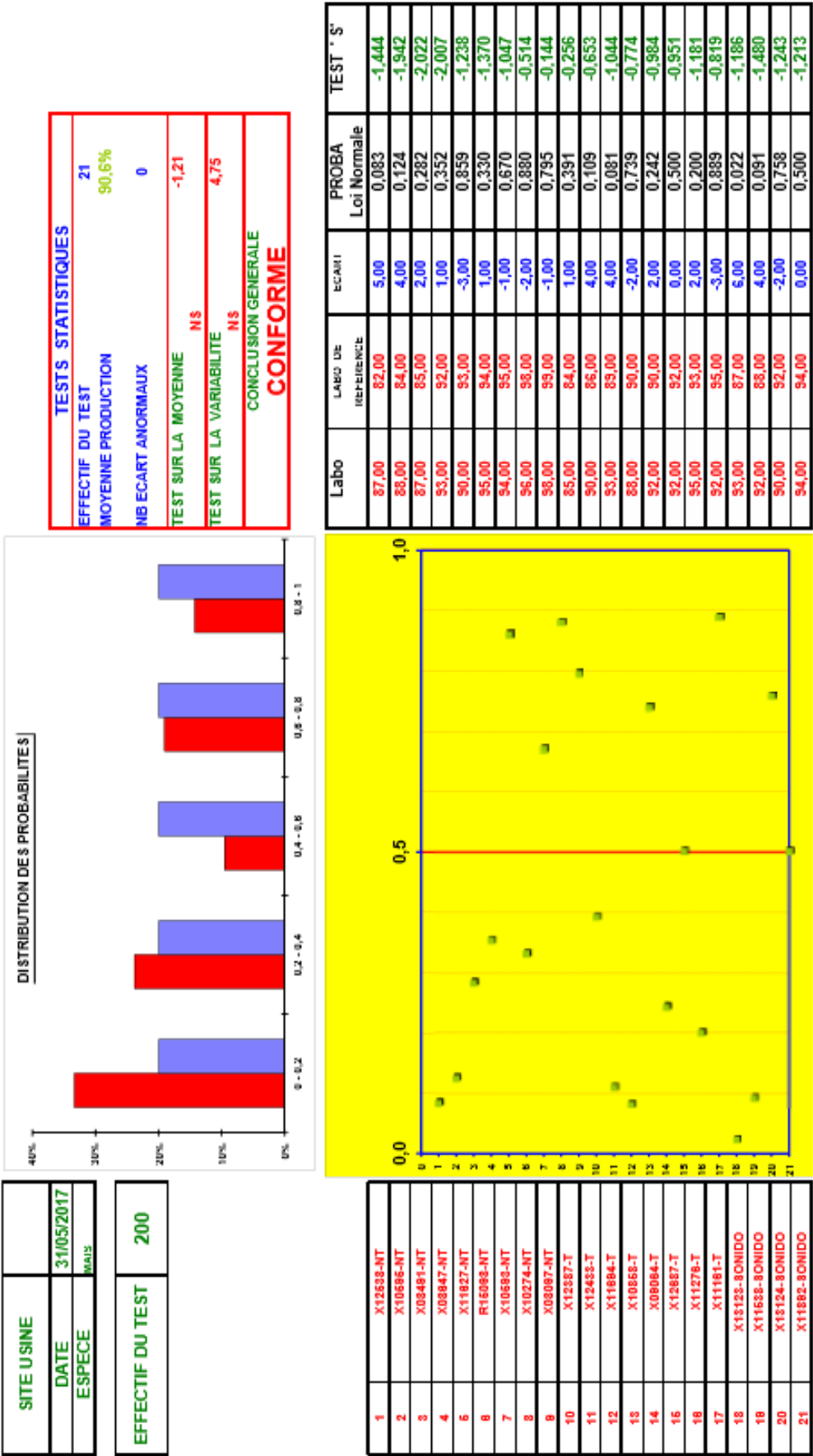
ANNEXE III : Carte de comparaison des méthodes TS1 et TP



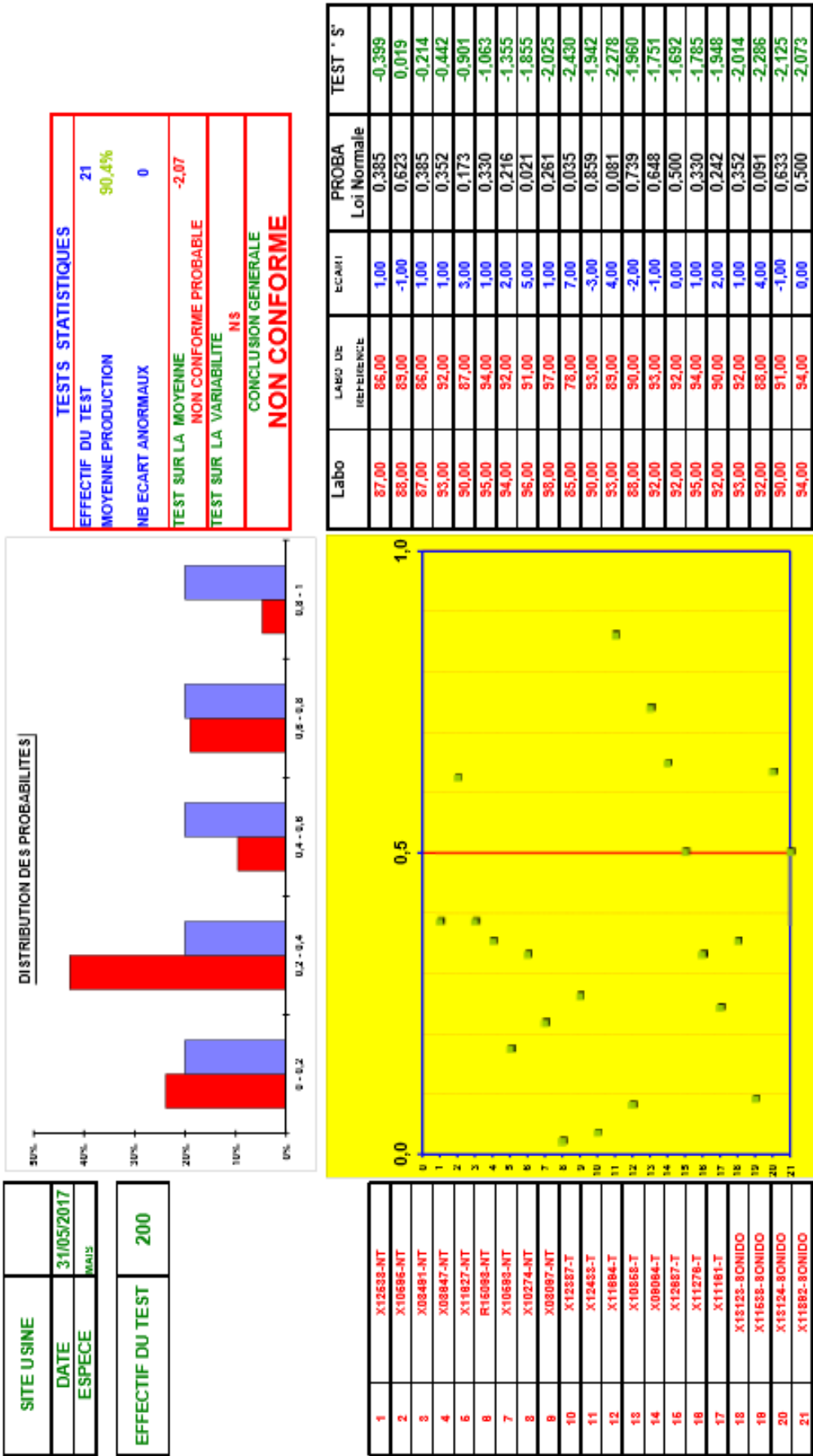
ANNEXE IV : Carte de comparaison des méthodes TS1 et AP



ANNEXE V : Carte de comparaison des méthodes TS1 et MP

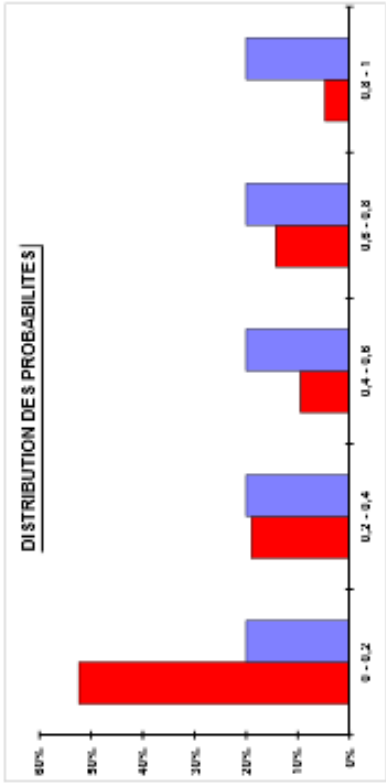


ANNEXE VI : Carte de comparaison des méthodes MP et AP

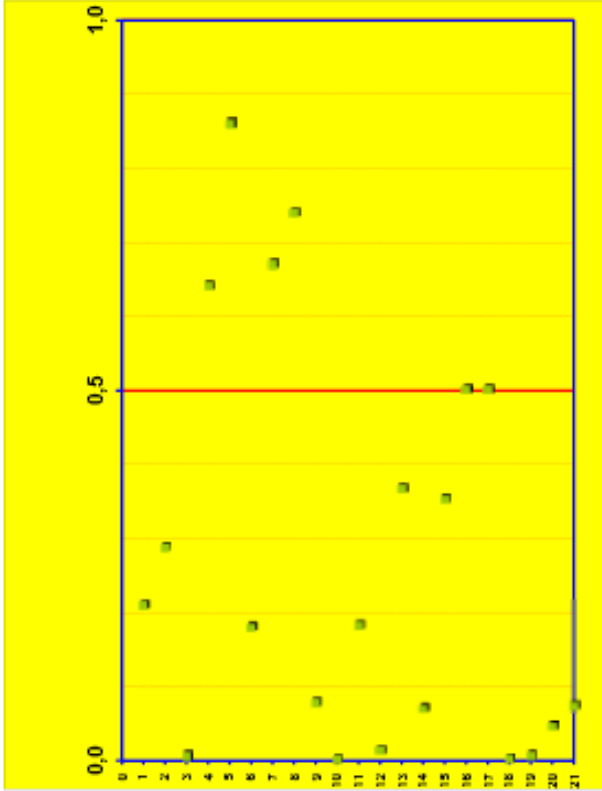


ANNEXE VII : Carte de comparaison des méthodes AS1 et TS1

SITE USINE	
DATE	31/05/2017
ESPECE	MAIS
EFFECTIF DU TEST	200



TESTS STATISTIQUES	
EFFECTIF DU TEST	21
MOYENNE PRODUCTION	90,6%
NB ECART ANORMAUX	1
TEST SUR LA MOYENNE	-3,57
NON CONFORME TRES PROBABLE	
TEST SUR LA VARIABILITE	NS
CONCLUSION GENERALE	
NON CONFORME	



Labo	LABO DE REFERENCE	ECART	PROBA Loi Normale	TEST 'S'
85,00	82,00	3,00	0,209	-1,007
86,00	84,00	2,00	0,288	-1,232
93,00	85,00	8,00	0,005	-1,996
91,00	92,00	-1,00	0,640	-1,486
90,00	93,00	-3,00	0,859	-0,773
96,00	94,00	2,00	0,179	-1,159
94,00	95,00	-1,00	0,670	-0,851
97,00	98,00	-1,00	0,739	-0,503
100,00	99,00	1,00	0,078	-0,962
94,00	84,00	10,00	0,001	-1,460
89,00	86,00	3,00	0,182	-1,724
95,00	89,00	6,00	0,013	-2,138
91,00	90,00	1,00	0,367	-2,182
94,00	90,00	4,00	0,070	-2,501
93,00	92,00	1,00	0,352	-2,549
93,00	93,00	0,00	0,500	-2,468
95,00	95,00	0,00	0,500	-2,394
95,00	87,00	8,00	0,002	-2,733
95,00	88,00	7,00	0,006	-3,053
96,00	92,00	4,00	0,045	-3,328
97,00	94,00	3,00	0,073	-3,570

1	X12538-NT
2	X10686-NT
3	X08481-NT
4	X08847-NT
6	X11827-NT
8	R16093-NT
7	X10689-NT
8	X10274-NT
9	X08097-NT
10	X12387-T
11	X12433-T
12	X11894-T
13	X10862-T
14	X08084-T
15	X12887-T
16	X11278-T
17	X11181-T
18	X18123-BONIDO
18	X11638-BONIDO
20	X18124-BONIDO
21	X11882-BONIDO



RÉSUMÉ

Le contrôle de la qualité des semences représente un enjeu majeur à une époque où l'agriculture est dictée par les rendements et la productivité. Il est donc nécessaire d'être en mesure de déterminer la capacité d'un lot de semences à germer correctement. Les tests de faculté germinative sont appliqués pour déterminer le pourcentage de graines pouvant donner une plante viable. Cependant, ces tests sont effectués dans des conditions optimales, et ne sont pas toujours révélateurs de ce qui se passe au champ. Différentes méthodes ont donc été développées pour déterminer la vigueur des lots de semences. Chez le maïs (*Zea mays*), le plus répandu est le cold test, qui consiste en un test de faculté germinative dans lequel les semences subissent un stress au froid. Le premier axe de cette étude consiste à remplacer le substrat de la méthode utilisée en routine au laboratoire par un autre, moins contraignant d'utilisation. Dans un second temps comparé 8 méthodes de cold test différentes sont comparées afin de laquelle pourrait être utilisée dans le futur, dans l'optique d'une fusion avec une autre entreprise. Le cold test n'est pas un test standardisé, il en existe de nombreuses variantes qui peuvent donner des résultats très différents les uns des autres. Ces cold tests peuvent être conduits sur différents substrats comme le sable ou le papier roulé, et avoir des durées variables.

mots-clés : Maïs, *Zea mays*, cold test, vigueur, germination

ABSTRACT

Seed quality control is a big issue at a time when agriculture is focused on yield on productivity. It is essential to be able to determine the ability of a seed lot to germinate properly. Germinative ability tests are applied to determine the percentage of seeds which can give a viable plant. However, these tests are carried out under optimal conditions. So, they don't always reveal what happens in the field. Different methods have been developed to determine seed lots vigor. On maize (*Zea mays*), the more widespread is the cold test. It is a test of germinative ability in which the seeds endure a chilling stress. The first purpose of this study consist in the replacement of the substrate used in the method employed by the laboratory by another one which is less constraining to use. In a second stage, 8 different cold test methodes are compared in the aim to determine which one could be use in the futur from the perspective of a fusion with another company. The cold test is not a standardized test. There are several methods which can give results very different each other. These cold tests can be realized on different substrates such as sand or rolled paper, and they can have varying duration.

keywords : Maize, *Zea mays*, cold test, vigor, germination