

	<p>Procédure</p> <p>Multiplier les ressources génétiques</p>	 <p>Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 1 / 10</p>
---	---	---

*Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.*

Contenu

1	Objet	2
2	Domaine d'application	2
3	Documents de référence	2
4	Définitions et abréviations.....	2
5	Logigramme de la multiplication.....	4
6	Déroulement de la procédure	5
6.1	Préparation des semis.....	5
6.2	Suivre les accessions, récolter et conditionner	7
6.2.1	Semis	7
6.2.2	Suivi de culture	7
6.2.3	Récolte	7
6.2.4	Sécher / Battre/ Conditionner	8
6.3	Contrôles de fin de récolte	8
6.4	Constitution des doubles de sécurité.....	9
6.5	Intégrer les lots dans la base de données et dans la chambre froide.....	9
7	Gestion des anomalies	9
8	Liste de diffusion	9
9	Historique des versions.....	9

	<p>Procédure</p> <p>Multiplier les ressources génétiques</p>	 Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 2 / 10
---	---	---

*Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.*

1 Objet

La procédure a pour objet de décrire les différentes étapes de multiplication des lots de semences.

2 Domaine d'application

Cette procédure répond au chapitre « préparation du matériel biologique ».

3 Documents de référence

Référence	Titre
NF S 96-900	Système de management d'un CRB et Qualité des ressources biologiques
63 11 99 000005	FAO_2014_NormesApplicablesauxBanquesdeGenes
63 11 99 000003	Manuel de manipulation des semences
13 11 39 000008	Conservation des ressources génétiques
13 11 39 000009	Acquérir des ressources génétiques
13 11 39 000002	Maîtrise des NC/AC/AP
13 11 39 000001	Gestion documentaire
13 11 39 000004	Gestion des compétences
18 11 39 000002	Multiplier et conserver les ressources biologiques
14 11 99 000003	Mode opératoire test de germination
14 11 99 000014	Contrôle de l'humidité et détermination de la durée de séchage
14 11 99 000015	Mode opératoire Création d'étiquettes champ
14 11 99 000016	Mode opératoire Semis et repiquage au tunnel
14 11 99 000019	Mode opératoire «Création d'étiquettes récolte)
15 11 99 000019	Formulaire résultats facultés germinatives
15 11 99 000024	Formulaire contrôle de l'humidité
57 11 99 000016	Tableau définissant les facultés germinatives seuils en fonction des espèces sauvages et cultivées
57 11 99 000004	Gestion des flux
57 11 99 000010	Liste des P.I et des services supports
Document GDEC	Demande d'expérimentation au champ
	Demande d'expérimentation au tunnel

4 Définitions et abréviations

Accession : Une entité génétique distincte, identifiable de manière unique représentant un cultivar, une lignée de sélection ou une population, définie au niveau du CRB par un Numéro ERGE.

Lot : Représentation physique d'une accession, il peut être composé de grains ou d'épis.

	<p>Procédure</p> <p>Multiplier les ressources génétiques</p>	 <p>Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 3 / 10</p>
---	---	---

*Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.*

Lot A : Autofécondation (toutes espèces, hors avoine, orge de printemps et seigle) obtenus par ensachage des épis pour assurer l'autofécondation.

Lot D : Distribution (toutes espèces) obtenus par fécondation libre

Lot M : Maintien (toutes espèces) obtenus par fécondation libre

UE PHACC : Unité Expérimentale Phénotypage Au Champ des Céréales

UE GCIE : Unité Expérimentale Grande Culture Innovation Environnement

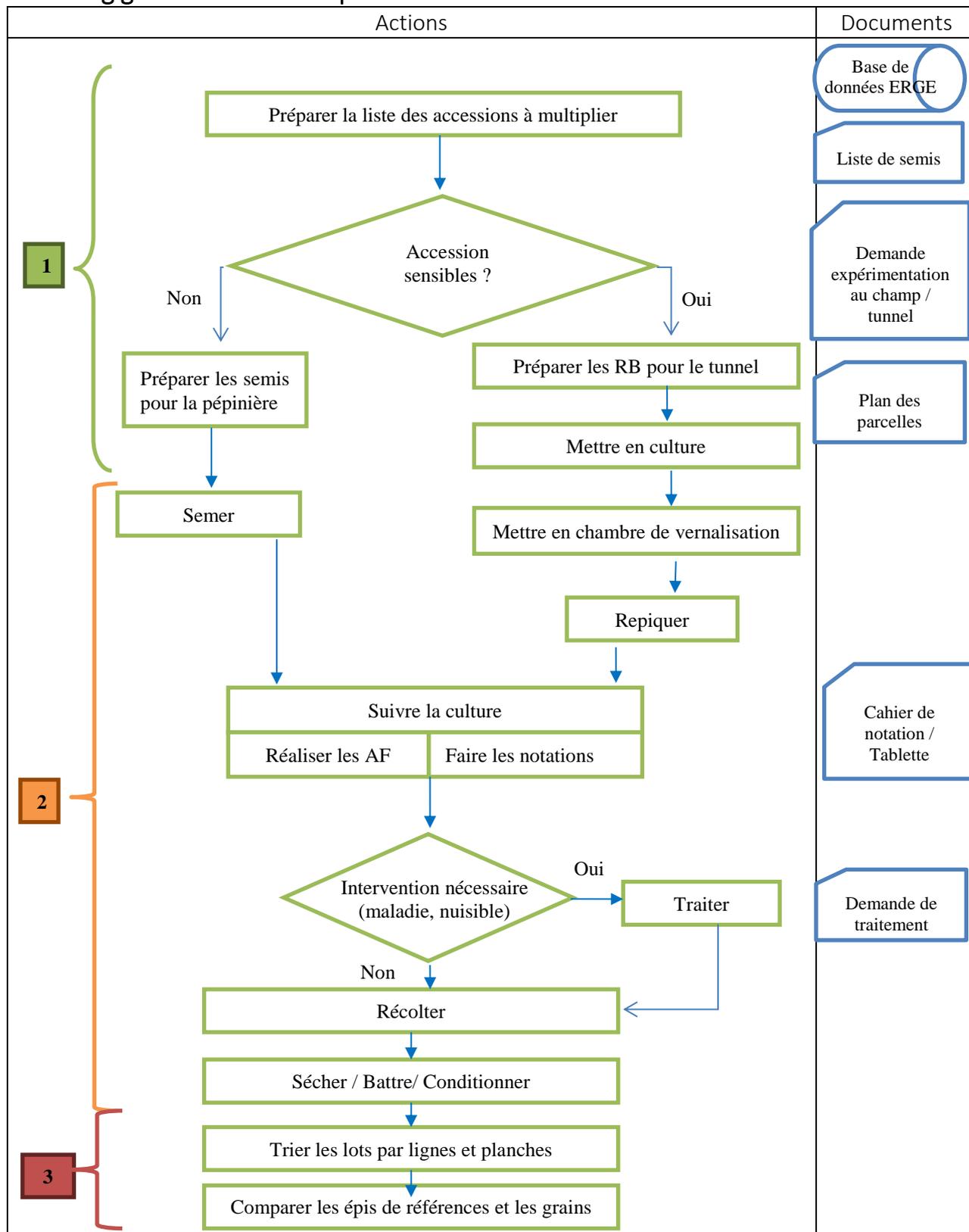
Végépôle : Plateau Technique Culture de Plantes en Conditions Contrôlées

BDD : Base de données

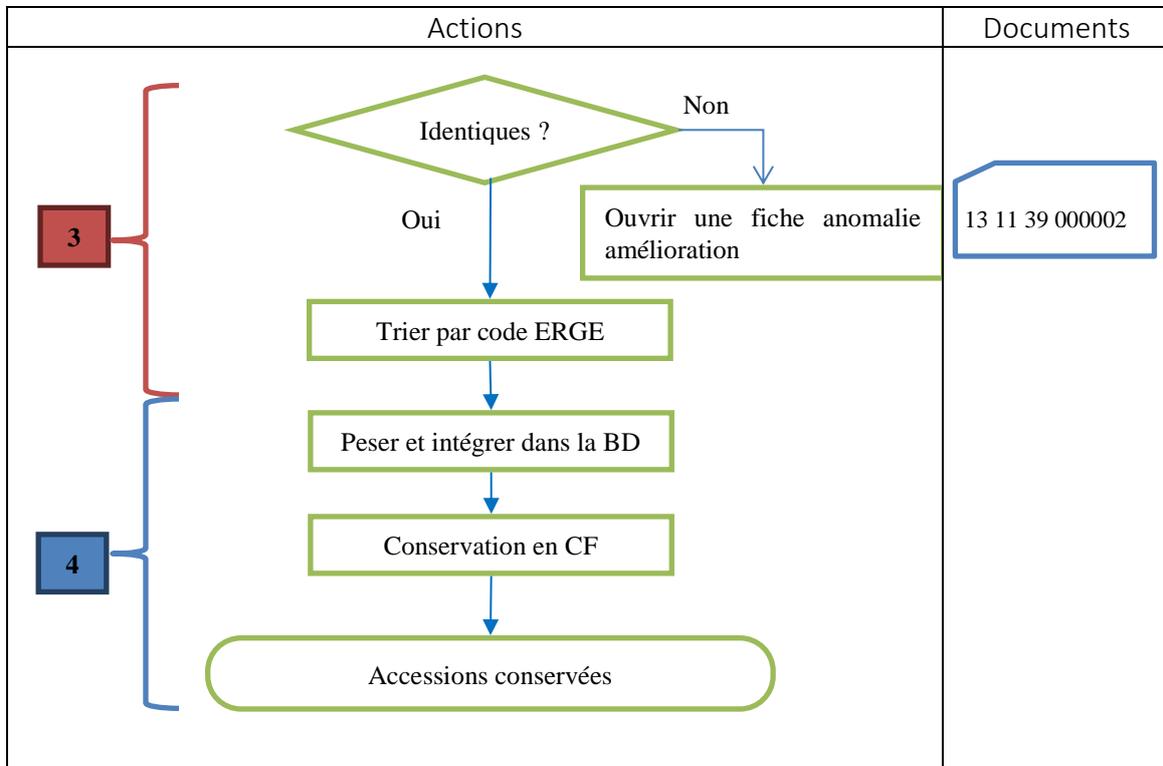
CF : Chambre Froide

Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.

5 Logigramme de la multiplication



Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.



6 Déroulement de la procédure

6.1 Préparation des semis

Le choix des accessions pour les listes de semis dépend de la place disponible au champ ou en tunnel, du coût de la multiplication et des moyens humains mis à disposition. Une fois cela pris en compte, la préparation des listes est répartie entre les membres du CRB. La validation est faite en réunion d'équipe. Les critères pris en compte sont détaillés ci-dessous.

Données d'entrées	Complément d'information
Programme de recherche	Les programmes de recherche peuvent être à l'origine d'introduction et de renouvellement d'accension en collection.
RB plus anciennes	L'information est extraite de la base de données. Une accession est considérée comme ancienne lorsque sa période de conservation est supérieure ou égale à 15 ans.
Stocks de D ou A faibles	Lorsque les stocks de « distribution » sont inférieurs à 5g ou les stocks « d'autofécondation » sont inférieurs à 2g. Ces accessions sont programmées le plus rapidement possible, suivant la place disponible, dans la campagne de multiplication, d'après les informations extraites de la base de données, suivant l'ordre de priorité suivant : <ul style="list-style-type: none"> - les accessions faisant partie des collections nationales - les accessions ayant un taux de germination faible ou dont l'information n'est pas connue

	<p>Procédure</p> <p>Multiplier les ressources génétiques</p>	 <p>Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 6 / 10</p>
---	---	---

Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.

	<ul style="list-style-type: none"> - les accessions dont l'année de récolte est ancienne (supérieure ou égale à 15 ans ou 10 ans pour les seigles)
Introduction à la collection	Lorsqu'une nouvelle accession est introduite au CRB, elle est intégrée à la collection suite à un cycle de multiplication. (procédure 13 11 39 000009 « Acquérir des ressources génétiques »).
Réseaux	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluations des RB dans le cadre des réseaux (FAWWON – Collection commune, réseau Céréales à paille) - Introduction des lignées issues du programme de sélection blé INRA – Agri-obtentions (interstations)
Anomalie sur les RB	Les anomalies rencontrées sur les RB (non-conformité d'un lot,...) entraînent leur intégration au plan de semis de la multiplication suivante.
Faculté germinative	Au cours de l'année, si la faculté germinative d'une accession est inférieure à 70% (ou 50% pour les espèces sauvages), elle est intégrée au plan de semis de l'année suivante

Une accession est dite sensible si :

1. la **faculté germinative** de l'accession est inférieure à 20%
2. les **stocks sont trop faibles** pour assurer une régénération en plein champ
3. l'accession est une **espèce sauvage** (se référer au Tableau des espèces ; 57 11 99 000016).

La proportion de chaque espèce dans la pépinière est décidée annuellement en réunion hebdomadaire suivant la taille de la pépinière.

Les listes sont enregistrées sur le réseau du CRB sur : Z:\dgs\CRB\4-Multiplier et conserver les RB\Liste semis\ « *année du semis* »

Les demandes d'expérimentation se font auprès de l'Unité Expérimentale PHACC pour les pépinières et auprès de Végépôle pour les tunnels.

La préparation des semis, sur trois lignes par accession, se fait, au CRB, par un système de piluliers et glissières, qui sont stockés jusqu'au semis. Pour les accessions ayant eu un cycle de multiplication et nécessitant des autofécondations, les trois lignes sont composées d'une ligne d'autofécondation bordée de chaque côté d'une ligne de maintien. Pour les accessions restantes, seules des lignes de maintien sont semées.

Pour les semis en tunnel, le semis et la germination sont réalisés dans la serre galerie par le CRB, puis, après levée, les plantes sont placées en chambre de vernalisation par Végépôle. Les plantes sont ensuite repiquées en tunnel par le CRB.

➤ **Cas particulier des Seigles :**

Concernant la multiplication des seigles, réalisée sous forme d'isolement du fait de l'allogamie de cette espèce, une partie est faite sur les parcelles de l'UE PHACC en respectant une distance

	<p>Procédure</p> <p>Multiplier les ressources génétiques</p>	 <p>Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 7 / 10</p>
---	---	---

*Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.*

d'au minimum 800 m entre chaque accession. Le CRB multiplie également, en partenariat avec l'UE GCIE de Picardie, 2 populations de seigle chaque année. Pour ce faire, le CRB fournit 100g par variété, le choix des variétés étant essentiellement basé sur l'année de récolte les seigles étant multipliés tous les 10 ans. Le semis, le suivi de ces accessions et la récolte sont réalisés par l'UE GCIE.

A réception des nouveaux lots par le CRB, un contrôle visuel est réalisé pour valider la conformité de l'échantillon (espèce / état sanitaire). Les semences sont ensuite placées en congélateur -20°C pour limiter le risque de développement de charançon comme le stipule la procédure 13 11 39 000009 « Acquérir et Valider les ressources biologiques ». Le fichier « Suivi_MultSeiglesExternalisées.xlsx » se trouvant dans Z:\dgs\CRB\4-Multiplier et conserver les RB\Mult Seigles permet de stocker les informations liées à ces multiplications (date de semis, interventions diverses, récolte...).

6.2 Suivre les accessions, récolter et conditionner

6.2.1 Semis

Les accessions en pépinière sont semées en collaboration avec l'UE PHACC permettant le contrôle du bon déroulement du semis (**Contrôle 1**). En revanche, les accessions en tunnels sont semées et repiquées par le CRB suivant le mode opératoire 14 11 99 000016 « Semis et repiquage au tunnel ».

Chaque ligne de pépinière est identifiée par une étiquette en début de ligne (**Contrôle 2**), pour permettre l'identification de l'accession et connaître le sens de semis (**mode opératoire 14 11 99 000015** « Création d'étiquettes champ »). Les pépinières et les tunnels sont contrôlés régulièrement visuellement (**Contrôle 3**) (bonne levée, maladie, pucerons...), jusqu'au moment de la récolte.

6.2.2 Suivi de culture

Des évaluations sont faites et enregistrées sur le réseau au chemin : Z:\dgs\CRB\4-Multiplier et conserver les RB\RECOLTES\ « *année de récolte* ». Pour les espèces nécessitant des autofécondations, 10 épis par ligne issue de grains autofécondés sont ensachés.

En cas de maladie ou de présence de nuisibles constatées, une demande de traitement est réalisée auprès de l'UE PHACC (champ) ou de Végépôle (tunnel).

6.2.3 Récolte

Les sachets utilisés pour la récolte sont étiquetés (Cf mode opératoire 14 11 99 000019 « création étiquettes récolte ») et triés à l'avance.

L'une des phases critiques de cette étape, est l'intégration de mains d'œuvre occasionnelles sur une courte période. Pour sensibiliser les nouveaux arrivants à l'importance de cette activité et des risques potentiels aux différentes étapes, une formation est réalisée conformément à la procédure 13 11 39 000004 « Gestion des compétences » (**Contrôle 4**).

Les épis de référence sont récoltés et mis directement dans leur conditionnement final. Ensuite, les différents lots d'une accession sont récoltés dans l'ordre des lignes dans des bacs contenant les sachets destinés au conditionnement afin d'assurer leur identification. Les épis

	<p>Procédure</p> <p>Multiplier les ressources génétiques</p>	 Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 8 / 10
---	---	---

Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.

ne sont jamais séparés des sachets afin d'assurer l'identification de l'accession jusqu'au conditionnement final (Contrôle 5).

6.2.4 Sécher / Battre/ Conditionner

Le séchage est réalisé dans la chambre de dessiccation en conditions contrôlées (méthode de séchage en « déshydratation déshumidifiée » 15% HR et 20°C selon le document 63 11 99 000003 « Manuel de manipulation des semences » p51).

Il se fait en deux étapes :

- juste après la récolte, les épis étant encore dans les bacs,
- après battage et conditionnement.

Des tests d'humidité (MO 14 11 99 000014) sont mis en place afin de vérifier si les conditions de séchage répondent aux préconisations (Contrôle 6).

Le battage est réalisé sur deux équipements différents adaptés aux quantités à battre et au type de matériel. Ainsi, une batteuse est destinée aux lots de distribution et maintien et une batteuse est spécifique aux lots d'autofécondation.

Le conditionnement de tous les lots est réalisé conformément à la procédure 13 11 39 000008 « Conservation des ressources génétiques » (Contrôle 7).

Les doublons de sécurité sont préparés a posteriori avant introduction des lots en collection.

6.3 Contrôles de fin de récolte

Pour assurer la Qualité des RB plusieurs contrôles sont réalisés.

	Contrôles	Objectifs
1	Comparaison avec les épis de références (Contrôle 8) et les anciens lots de grains	Vérifier d'un cycle de multiplication à l'autre que les épis, si disponibles (vérifier la disponibilité dans la BDD ERGE), et les grains sont les mêmes pour une même accession (quand cela est possible).
2	Contrôle des sachets classés par ligne et par planche après conditionnement et séchage avec la liste de semis (Contrôle 9).	S'assurer que tous les lots ont été récoltés.
3	Test de germination (Contrôle 10). Un test de FG est fait sur un échantillonnage de la récolte de l'année	S'assurer de la qualité germinative des lots pour garantir la conservation.

	<p>Procédure</p> <p>Multiplier les ressources génétiques</p>	 <p>Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 9 / 10</p>
---	---	---

Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.

6.4 Constitution des doubles de sécurité

La liste des doubles de sécurité (DS) à prélever dans les lots récoltés est réalisée à l'aide des informations recueillies dans la BDD ERGE. Les étiquettes des lots à prélever sont éditées via la base de données ERGE par un système de requête. 200 grains environ par accession sont prélevés dans le lot de distribution (hors espèces sauvages où la quantité est plus faible) et placés dans des sachets thermo scellés ceci pour toutes les espèces (hors seigle prélèvement de 100 grammes). Les échantillons sont ensuite placés dans des congélateurs à -20°C pour constituer la collection de base.

6.5 Intégrer les lots dans la base de données et dans la chambre froide.

Une fois la phase de contrôle réalisée, et les DS prélevés, les lots sont pesés et rangés en chambre froide.

7 Gestion des anomalies

Bien que dans chacune des étapes, des contrôles soient réalisés, toutes anomalies survenant fait l'objet d'une fiche anomalie dans AQ-Tools conformément à la procédure 13 11 39 000002 « Maîtrise des NC/ AC/AP ».

8 Liste de diffusion

Le document est diffusable à l'ensemble de l'équipe du CRB.

9 Historique des versions

Version	Date de la modification	Modifications
1	08/01/2015	Création du document
2	26/11/2015	Complément d'informations Ajout des critères de mise en multiplication des accessions Modification du rédacteur : V01 Haller Cindy Modification de l'approbateur : V01 Deloche Marion
3	09/12/2015	Modification du seuil de tolérance pour les tests de germination Ajout d'un paragraphe sur la constitution des DS
4	20/03/2017	Ajout de référence documentaire. Modification du paragraphe 6.2.4
5	19/09/2017	Ajout références documentaires - Complément d'informations critères pour la préparation des listes de semis - Modification seuil stock faible

	Procédure	 Réf. : 13 11 39 000010 Version 8 Page 10 / 10
	Multiplier les ressources génétiques	

*Attention : en dehors de l'original, l'impression papier de ce document est considérée comme un document de travail.
Les copies de ce document ne sont pas gérées.*

		- Ajout point sur la multiplication des seigles (§ 6.1) Modification rédacteur et vérificateur
6	26/03/2019	Ajout référence documentaire suite à la création du MO concernant la création des étiquettes pour la récolte. Complément §6.2.3
7	25/11/2019	Modifications suite à la suppression de la collection des épis de référence et à l'ajout des DS dans la BDD Changement logo INRA
8	25/11/2021	Modification CPCC => Végépôle Mise à jour de l'approbateur suite au départ de F. Balfourier Changement de logos INRAE

-Fin du document-

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Marion DELOCHE	Lionel BARDY	Clément DEBITON
Fonction :	Responsable réseaux ressources génétiques	Responsable suivi et gestion des lots	Responsable scientifique du CRB
Date :	25/11/2021	25/11/2021	25/11/2021