#### PRT-CGN-PG-301 PROTOCOL KIEMKRACHTBEPALING

##### **Inleiding**

Voor de uitvoering van kiemkrachtbepalingen worden in het algemeen de ISTA richtlijnen gevolgd, maar curatoren kunnen hier in de loop van de tijd op basis van praktische overwegingen wijzigingen in hebben aangebracht. Deze methoden worden voor iedere kiemkrachtbepaling geregistreerd in GENIS en staan ook vermeld in het overzicht Methoden kiemkrachtbepalingen (OVZ-CGN-PG-301).

**Frequentie, typen en planning kiemkrachtbepalingen**

##### Aanvangskiemkracht bij verworven of vermeerderd materiaal (A)

Voordat een monster in de genenbank wordt opgenomen wordt er een aanvangskiemkracht gedaan.

Herhalingskiemkracht (H)

Hieronder wordt verstaan het monitoren van de kiemkracht van collectiemateriaal na verloop van tijd. De verwachting is dat de kiemkracht van zaad dat is opgeslagen bij –20°C met een absoluut vochtgehalte tussen de 3 en 7% slechts langzaam achteruit zal gaan.   
Binnen CGN is de richtlijn om de eerste herhalingskiemkracht 25 jaar na opname van de desbetreffende accessie uit te voeren, gevolgd door intervallen van 5 of 10 jaar, afhankelijk van de kiemkrachtresultaten. Bij tarwe en gerst wordt een betere bewaarbaarheid verwacht dan bij andere gewassen, daarom gelden hiervoor intervallen van 5 resp. 20 jaar.  
Er worden geen testen meer uitgevoerd op accessies waarvan nu al bekend is dat die in de komende jaren zullen worden vermeerderd.  
Jaarlijks wordt een overzicht van alle uit te voeren kiemkrachtbepalingen gemaakt door het hoofd Documentatie. Dit overzicht wordt gegenereerd uit GENIS waarbij bovenstaande kiemkrachtintervallen gehanteerd worden. De curatoren kunnen dit advies gebruiken om een planning te maken. Bij bepaling van het uitvoeringsjaar kan beperkte flexibiliteit worden toegepast voor bijvoorbeeld het opvangen van verschillen in testaantallen tussen jaren of het combineren van kleine aantallen materiaal van hetzelfde type.

Duplicaat kiemkrachtbepaling

Bij de duplicaat kiemkrachtbepaling wordt een deel van de monsters voor een tweede keer onder code nummer (anoniem) getest. Per gewas wordt willekeurig bepaald welke nummers voor een tweede bepaling in aanmerking komen.

De reden voor deze controle is het testen van de reproduceerbaarheid van de uitslagen en het streven naar verbetering van de kiemkrachtprotocollen.

Aan de hand van de kiemkrachtresultaten van het voorgaande jaar worden een aantal gewassen geselecteerd die het huidige jaar gecontroleerd worden. Het CGN streeft ernaar om in vijf jaar alle gewassen een keer gecontroleerd te hebben. De gewaskeuze wordt met de curator van het gewas overlegd; als er dat jaar geen kiemkrachtbepalingen voor dat gewas ingepland zijn, kan eventueel besloten worden een ander gewas te kiezen. Ook als bij de selectie van accessies ergens anders rekening mee moet worden gehouden (b.v. dit jaar geen wilde accessies) wordt dat besproken en genoteerd.

Na de gewaskeuze wordt uit de vorig jaar geteste accessies een selectie van 5% met een minimum van 10 accessies gemaakt (indien mogelijk). De procedure van selectie wordt genoteerd.  
De duplobepalingen (van het afgelopen jaar) worden tegelijkertijd uitgevoerd met de (herhalings)kiemkrachten van het huidige jaar.

Zodra de curator de zakjes voor de kiemkrachtbepaling van het huidige jaar laat pakken geeft hij/zij aan dat er ook duplobepalingen uitgevoerd moeten worden, en wordt ook het duplomateriaal gepakt door de Seedmanager. Dit wordt onmiddellijk overgepakt door de Projectmedewerker documentatie, en in nieuwe zakjes met een code erop aan de curator gegeven. Hierdoor gebeurt dit proces ‘blind’: de curator weet niet om welke accessies het gaat, zodat de beoordeling onafhankelijk is.

Na het uitvoeren van de duplobepalingen worden de resultaten ‘ontsleuteld’ en vergeleken met de oorspronkelijke resultaten. Over de analyse wordt gerapporteerd.

Groepsbemonstering

Bij het plannen van de herhalingskiemkrachten is er de mogelijkheid voor curatoren om gebruik te maken van groepsbemonstering. Accessies worden hierbij gegroepeerd op basis van soort en regeneratiejaar, en uit iedere groep wordt minimaal 25% van de accessies getest. Motivatie hiervoor is dat verwacht wordt dat materiaal van dezelfde soort dat onder dezelfde omstandigheden is geregenereerd en dat dezelfde procedures na oogsten heeft ondergaan, een vergelijkbaar kiemkrachtverloop in de tijd laat zien.

Binnen een groep worden de accessies op volgorde van voorafgaande kiemkrachtuitslag getest, de laagste het eerst.

In het geval dat één of meer accessies uit een groepsbemonstering te laag scoren, wordt een vervolg aan de kiemkrachttesten gegeven, beginnend met de volgende 25% van de groep op basis van laagste voorafgaande kiemkracht. In het meest ongunstige geval zal dus de hele groep in vier stappen worden getest.

**Uitvoering kiemkrachtbepalingen**

Voor de uitvoering van kiemkrachtbepalingen worden de methoden gevolgd die opgesteld zijn door de verschillende curatoren. Deze methoden in staan het overzicht Methoden kiemkrachtbepalingen (OVZ-CGN-PG-301).

In deze tabel staat per gewas de meest gebruikte kiemkrachtmethode vermeld, inclusief het aantal zaden waaraan de kiemkracht gedaan wordt evenals welke kenmerken van de zaden en/of kiemplanten geregistreerd worden.   
Voor het beoordelen van de individuele kiemplanten worden de richtlijnen van de ISTA (International Seed Testing Association) gevolgd.

Praktische aandachtspunten bij de voorbereiding van de kiemkrachtbepalingen:

* Een zaadmonster moet aan de minimum kwaliteitseisen voldoen zoals vermeld in INS-CGN-PG-005. Bij zichtbaar slechte zaadkwaliteit (bruinverkleuring, gebroken- of lege zaden) wordt het nummer opnieuw geschoond.
* Ieder kiemkrachtmonster wordt voorzien van een accessie- of receiptnummer en een veldnummer om verwisseling met andere monsters te voorkomen.
* Minstens één dag voor de aanvang van de kiemkrachtbepalingen moeten de vacuüm zaadzakjes worden geopend en verder onder kameromstandigheden worden bewaard zodat de zaden alvast wat vocht op kunnen nemen.

**Registratie en beoordeling kiemkrachtbepalingen**

De resultaten van de kiemkrachtbepalingen worden ingevoerd in Excel. Dit bestand bevat de accessienummers, de gebruikte kiemkrachtmethode en eventueel de kiemkrachtpercentages. Gebaseerd op zowel de kiemkracht als een visuele beoordeling van de zaailingen wordt er een definitieve score gegeven. Deze laatste score zal bepalend zijn voor de verdere behandeling van het monster.

De volgende scores kunnen gegeven worden:

1. De zaden zitten onder de minimale kiemkrachteis (80% of 60%) en/of vertonen sterke verouderingsverschijnselen en moeten zo snel mogelijk vermeerderd worden.

3. De zaden zitten rond de minimale kiemkrachteis of zakken er waarschijnlijk binnenkort onder en/of vertonen matige tot sterke verouderingsverschijnselen; de zaden moeten binnen enkele jaren vermeerderd worden.

2. De zaden zijn nog voldoende kiemkrachtig, maar vertonen lichte verouderingsverschijnselen en/of gaan richting de minimale kiemkrachteis; er wordt geadviseerd de volgende kiemkrachtbepaling te vervroegen.

1. De kiemkracht zit ruim boven de minimale kiemkrachteis. De zaden zijn zeer kiemkrachtig en geven mooie sterke kiemplanten.
2. Score gegeven bij een groepsbemonstering als de andere accessies binnen de groep een score 1 gescoord hebben.

**Follow-up kiemkrachtbepalingen**

* Score 1 (goed) bij aanvangskiemkracht (A): advies om de kiemkracht nogmaals te testen na 25 jaar.
* Score 1 (goed) bij herhalingskiemkracht (H): advies om de kiemkracht nogmaals te testen na 10 of 20 jaar, afhankelijk van het gewas, zie eerdere informatie in dit document.
* Score 2 (voldoende): advies om de kiemkracht nogmaals te testen na 5 jaar. Dit geldt zowel voor herhalingskiemkrachten als aanvangskiemkrachten.
* Score 3 of 4 (onvoldoende) bij herhalingskiemkracht (H): opnieuw bepalen van de kiemkracht. Is de score weer onvoldoende, en het zaad is wel goed geschoond, dan wordt er een vermeerdering gepland.
* Score 3 of 4 (onvoldoende) bij aanvangskiemkracht (A): opnieuw bepalen van de kiemkracht. Blijft de uitslag onder de afgesproken norm dan worden onderstaande stappen doorlopen.

Kiemkrachtresultaten onder de norm

Blijft de uitslag van een aanvangskiemkracht onder de afgesproken norm dan worden achtereenvolgens onderstaande stappen doorlopen.

* Zaadschoning  
  Er wordt nagegaan of het zaadmateriaal voldoende geschoond is. Is dit niet het geval, dan wordt het zaadmateriaal verder geschoond. Zie hiervoor de schoningsprotocollen PRT-CGN-PG-201 en PRT-CGN-PG-202.
* Kiemrust  
  Indien de curator verwacht dat het materiaal kiemrust zal vertonen (bijvoorbeeld bij wild materiaal), wordt nagegaan of het materiaal op een andere wijze tot kiemen kan worden gebracht. Bij wilde soorten is het vaak moeilijk om de aanwezige kiemrust te doorbreken. Zaden in kiemrust zwellen wel maar kiemen niet. Bij het berekenen van het kiemkrachtpercentage wordt voor het aantal gezwollen zaden bij het aantal normale kiemplanten opgeteld. Dit wordt ook gedaan in het geval van hardschaligheid, een vorm van kiemrust die voorkomt bij klaver, veldboon en erwt.
* Extra vermeerdering   
  Indien het materiaal niet verder geschoond kan worden en een eventuele kiemrust niet doorbroken kan worden, wordt in overleg met de curator vastgesteld of het materiaal opnieuw vermeerderd zal worden.
* Opname als afwijkend materiaal of vernietiging  
  In uitzonderingsgevallen, bij schriftelijke consensus van twee curatoren en de projectleider collectiebeheer/Clusterleider, mag van de minimumkwaliteitseis worden afgeweken. Zie hiervoor FOR-CGN-PG-030 Opname met toestemming. Dit geldt met name voor materiaal dat moeilijk te vermeerderen is (wilde soorten), waarvan een nieuwe vermeerdering zeer kostbaar is, of bij landrassen die eigenlijk beter als wild beschouwd kunnen worden, zoals sommige slechter kiemende aardappellandrassen. In dit geval krijgt de uitslag een aanduiding van A. In het remark veld wordt de opmerking opname met toestemming toegevoegd.  
  Indien de resultaten van de aanvangskiemkracht onder de afgesproken norm blijven, en er wordt geen uitzondering gemaakt om het materiaal als afwijkend op te nemen, dan krijgt de accessie de status not-accessed.   
  De curator kan dan later besluiten het materiaal nogmaals te toetsen of het te vernietigen.