

Mikropropagacija šljive

Micropropagation of plums

Duralija Boris

SAŽETAK

Na temelju važnosti koju u današnje vrijeme predstavlja kultura tkiva *in vitro* kod šljiva, u ovom radu su iznesene aktualne informacije iz ovog područja.

U uvodnom dijelu iznesen je pregled o šljivama, te mogućnosti njenog razmnožavanja, važnost dobivanja kvalitetnih sadnica i zahtjevi koji se danas stavljaju pred podloge i sorte u suvremenom voćarstvu. Mikropropagacija šljive ima svoje specifičnosti, koje su iznesene obradom problematike u nekoliko skupina.

Poboljšanje uvjeta u postupku mikropropagacije postiže se promjenom ili dopunom postojećih spoznaja (npr. odabir optimalne vlage i osvjetljenja, korištenje mikorize, modifikiranje poznatih medija za kulturu tkiva i sl.). Kod voćnih podloga proučava se mogućnost mikropropagacije poznatih i u voćarskoj proizvodnji vrlo raširenih podloga, a isto tako i obećavajućih podloga slabe bujnosti.

Svrha umnažanja sorata mikropropagacijom je dobivanje zdravih matičnih stabala za uzimanje plemki ili gotovih sadnica ako sortu uzgajamo na vlastitom korijenu. Kultura embrija omogućuje u kombinaciji s kulturom tkiva *in vitro* znatno ubrzanje u oplemenjivačkom radu. Proučavanjem vrela informacija stječe se dojam da u perspektivi slijedi nagli razvoj u onim disciplinama koje se oslanjaju na mikropropagaciju šljive.

Riječi natuknice: šljiva, mikropropagacija, *Prunus*

ABSTRACT

The paper gives currently available information on a topical issue - *in vitro* plum tissue a culture. The introductory section is an overview on plums and possibilities of their propagation, importance of quality plants and requirements presently imposed on rootstocks and cultivars in modern fruit growing.

Micropropagation of the plum has its specific characteristics, which are presented by elaboration of several groups of issues. Improvement of conditions of the micropropagation procedure is achieved by change or supplementation of the accessible know-how (i.e. selection of optimum moisture content and light intensity, use of mycorrhiza, modification of known media for tissue culture, and the like).

As regards the fruit rootstocks, the possibility of micropropagation of the known rootstocks of widespread use in fruit production is analyzed, specially on promising root-

stocks of low vigor. The aim of cultivars propagation is to obtain sound parent trees for grafts or ready seedlings if the sort is grown on its own root.

The embryo culture in combination with the in vitro tissue culture considerable faster breeding. Studying the information sources reveals fast development in the disciplines that rely on micropropagation of the plum.

Key words: plum, micropropagation, *Prunus*

UVOD

Šljiva se u svijetu i u nas uzgaja već stoljećima zbog prilagodbe na ekološke činitelje i visoke uporabne vrijednosti njezinih plodova. Proizvodnja je orijentirana na dobivanje kvalitetnih plodova, koji su namijenjeni stolnoj potrošnji, sušenju ili preradi (npr. pekmez, kompoti i sl.). To je omogućeno u prvom redu odabirom adekvatnih sorata, ali isto tako i podloga.

Uglavnom se uzgajaju sorte iz grupe europskih šljiva (*Prunus domestica* L.) kineskojapanskih šljiva (*Prunus salicina* Lindl.), a nešto manje one iz grupe mirabela i renkloda (*Prunus insititia* L.). Zbog velike genetske raznolikosti unutar šljiva postoji više od 50 vrsta koje se mogu koristiti kao podloge. Tom broju treba još pribrojiti i različite breskve, bajame i marelice što se zbog srodnosti sa šljivom upotrebljavaju u dobivanju podesnih podloga.

Razmnožavanje šljiva odvija se spontano u prirodi ili od strane čovjeka generativnim (sjemenom) ili vegetativnim (izdancima, reznicama, mikropropagacijom i cijepljenjem) putem.

Cilj uspješne voćarske proizvodnje u današnje vrijeme je ostvarivanje što veće dobiti. Takva proizvodnja ostvaruje se samo u uvjetima gdje se rizici u svim segmentima svode na što je moguće manju mjeru. Jedan od vrlo bitnih segmenata je kvalitetna sadnica, koja se uglavnom sastoji od podzemnog dijela ili podloge (hipobiont) i nadzemnog dijela nastalog iz plemke (epibiont).

Razvojem znanosti svakodnevno se dolazi do novih spoznaja, tako i na području proizvodnje sadnog materijala. Smatra se da podloge u intenzivnim nasadima trebaju biti što uniformnije, jer one svojom snagom rasta utječu na bujnost sorte koju uzgajamo. Podloga bi također trebala biti otporna na glavne bolesti i štetnike, ali i na nepovoljne ekološke uvjete koji se mogu pojaviti u proizvodnji (npr. suša, niske temperature i sl.). Vrlo poželjna karakteristika podloge je njena kompatibilnost sa sortama koje se nalaze u uzgoju, zatim njezin utjecaj na skraćivanje juvenilne faze, kao i na redovitost i visinu uroda. Slično se zahtijeva i kod sorte, jer njena genetska konstitucija potpuno određuje efikasnost svih uzgojnih mjera. U takvim uvjetima proizvodnje kvalitetnih sadnica, a samim time i voća, metoda mikropropagacije šljiva zbog svojih brojnih prednosti postaje nezaobilazna.

SPECIFIČNOSTI MIKROPROPAGACIJE ŠLJIVE

Šljiva kao višegodišnja drvenasta kultura ima svoje specifičnosti, tako da brojna istraživanja mikropropagacije ove kulture obuhvaćaju različitu problematiku.

Osnovni cilj istraživanja je poboljšati dobivanje kvalitetnog sadnog materijala namijenjenog uspješnoj proizvodnji u voćnjacima. Iako se u većini znanstvenih radova različiti problemi isprepliću, mogli bismo ih podijeliti u nekoliko grupa:

1. Poboljšanje uvjeta u postupku mikropropagacije
2. Mikropropagacija voćnih podloga
3. Mikropropagacija sorata
4. Kultura embrija
5. Krioprezervacija.

POBOLJŠANJE UVJETA U POSTUPKU MIKROPROPAGACIJE

Promjenom ili dopunom postojećih spoznaja dolazi se do poboljšanja uvjeta u postupku mikropropagacije. To se može postići:

- a) odabirom optimalnog osvjetljenja u svakoj fazi,
- b) odabirom optimalne vlage zraka u svakoj fazi,
- c) oslobađanjem kulture tkiva najopasnijih bolesti,
- d) korištenjem prednosti mikorize,
- e) korištenjem lisnih eksplanata
- f) modificiranjem poznatih medija za kulturu tkiva,
- g) uporabom manje poznatih medija za kulturu tkiva.

Ističe se da je crvena svjetlost zu 0,5 mM NAA ne samo poboljšala ukorjenjivanje kod vrste *Prunus insititia* L., nego da je čak njezin utjecaj na ukorjenjivanje jači od NAA (Rossi et al., 1993). Plavo i bijelo svjetlo uvjetuju stvaranje većeg broja nodija na izboju, ali su zato internodiji kraći nego ako se izlažu crvenom svjetlu (Muleo i Thomas, 1997). Ispitujući utjecaj jačine svjetla, izvora svijetla (lampe) i koncentracije IBA na ukorjenjivanje utvrđeno je da glavnu ulogu u ukorjenjivanju ima IBA i to u koncentraciji od 0,2 mg/l (Magalhaes Junior i Peters, 1991.). Uspoređivanjem različitih režima osvjetljenja, ustanovljeno je da se neprestanom izmjenom svjetla u trajanju od 4 sata i mraka od 2 sata postiže veći broj novoformiranih izboja kao i veći fotosintetski kapacitet nego ukoliko je režim 16 sati svjetla i 8 sati mraka (Morini et al., 1993).

Relativna vlaga u kulturi tkiva igra vrlo bitnu ulogu, jer njenim smanjenjem (na 70-80%) opada proliferacija, a odgađa se i ukorjenjivanje. Međutim, biljke

izložene manjoj relativnoj vlazi u fazi ukorjenjivanja imaju znatno veću sposobnost aklimatizacije prilikom prijenosa biljčica u nesterilne uvjete (Sciutti i Morini, 1993).

Bitno je propisno provoditi sam postupak eksplantata i njegove mikropropagacije kako se ne bi prenosili neki virusi kao što su plum pox virus, *Prunus* ring-spot virus, prune dwarf virus, plum linepattern ilavirus, zatim fitoplazme ili *Xylella fastidiosa* (Zotto i Docampo, 1997). To se uglavnom postiže termoterapijom početnog materijala, a zatim tretiranjem s viricidima i virostaticima u mediju koji sadrži hormone koji stimuliraju diobu stanica (Deogratias, 1987).

Aktualno je proučavanje inokulacije korijena šljive s različitim gljivicama u samoj mikropropagaciji, koje ulaze u mikorizu. Te gljivice ostvaruju povoljne učinke, kao npr. poboljšavanje razgranjenja korijena, stimuliraju vršni rast i drugo (Giovannetti et al., 1996).

No mnogo važnija je informacija da se mikroizboji s npr. endomikoriznim gljivicama i *Glomus intraradices*, lakše aklimatiziraju, imaju duže izboje, ali i veću svježiu i suhu masu u odnosu na mikroizboje bez tih gljivica (Fortuna et al., 1998).

Spominje se mogućnost regeneracije novih biljčica mikropropagacijom, iz lisnih eksplantata s izboja dobivenih *in vitro*, i to dodatkom medija MS 1,65 mg/l tidiazurona i 0,2 mg/12-4 D (Nowak i Miczynski, 1996), a samim time i većim kapacitetom regeneracije (Nowaki Miczynski, 1997).

Ustanovljeno je da modificiranjem MS-medija može doći do povećane proliferacije kao i poboljšanja ukorjenjivanja (Marino, 1983). Utvrđeno je da se određeni ekotipovi bistrice umnožavaju *in vitro*, ukoliko se mediju MS doda 0,25 mg/l benziladenina i 0,1 mg/1 IBA (Ambrožić-Turk et al., 1992).

Osim spomenutih medija za kulturu tkiva, kod šljiva se u znanstvenim radovima spominje i "de Fossardova formula" kao medij koji uz dodatak 0,01/1 NAA i 0,5 mg/1 BA može biti dobar za mikropropagaciju *Prunus cerasifera*, *Prunus insititia* i *Prunus munsoniana* x *Prunus cerasifera*, što se koriste kao podloge (Arena i Caso, 1992). U radovima se od medija za kulturu tkiva također spominju Quoirin i Lepoivre hranjivi medij, i još u kojima je, uz dodatak manitola, ispitivana u uvjetima *in vitro* osmotska tolerancija mikropropagiranih podloga (Ledbetter et al., 1996).

MIKROPROPAGACIJA VOĆNIH PODLOGA

Trenutno je jedno od najzanimljivijih područja za voćare, jer nalazi konkretnu primjenu u komercijalnim rasadnicima. Omogućuje umnažanje velikog broja podloga od samo jednog matičnog stabla, a koje se možda prije niti nije mo-

glo vegetativno razmnažati. Od podloga za propagaciju *in vitro* zahtijeva se veći postotak preživljavanja primarnih izolata, zadovoljavajućeg odnosa umnažanja (proliferacije) u što kraćem periodu, što veći postotak ukorjenjivanja te što brža aklimatizacija na vanjske uvjete.

Podloge iz grupe šljiva koriste se i za druge voćne vrste, kao npr. za marelicu (Ambrožić-Turk et al., 1992), zatim breskvu (Morini et al., 1993), pa je stoga bitno utvrditi mogućnosti mikropropagacije tih vrsta.

Uglavnom se pokušava pronaći najpodesniji postupak mikropropagacije već poznatih i u voćarskoj proizvodnji vrlo raširenih podloga, kao što su San Julian, GF655/2, Marianna GF 8/1, Myrobalan B, i druge (Arena et al., 1997).

Međutim, s obzirom na mikropropagaciju ispituju se i obećavajuće podloge slabije bujnosti, kao npr. kod Mr. S. klonova od kojih je Mr. S. 1/6 imala najveći postotak ukorjenjivanja, te najbolji odnos korijena i izboja (Morini et al., 1990).

MIKROPROPAGACIJA SORATA

Može imati za cilj dobivanje zdravih matičnih stabala ili gotovih sadnica određene sorte na vlastitom korijenu.

Bistrica je najzastupljenija sorta šljive u Hrvatskoj, a može se s uspjehom uzgajati na vlastitom korijenu. Stoga su neka istraživanja usmjerena dobivanju kvalitetnih sadnica ove sorte metodom kulture tkiva *in vitro* (Ružić i Cerović, 1985).

Ustanovljeno je da sorta Santa Rosa (*Prunus salicina*) ima bolju proliferaciju izboja i odnos između izboja i korijena nego sorte europskih šljiva (*Prunus domestica*), te da je kod sorte Santa Rosa zabilježen maksimalni rast kalusa ukoliko se uzimao vršni meristem (Aier i Sharma, 1990).

Uspoređivanjem voćki dobivenih mikropropagacijom u odnosu na one koje su cijepljene na podloge, ustanovljeno je da se razlikuju u bujnosti. Međutim nije bilo velikih razlika u bujnosti stabala dobivenih mikropropagacijom i ukorjenjivanjem reznica, jer obje imaju vlastiti korijen (Popov, 1993). Ustanovljeno je da je urod stabala dobivenih mikropropagacijom nešto manji od onih koja su cijepljena na podlogu, ali nešto veći od stabala ukorjenjenih reznica, dok u kvaliteti ploda nije bilo razlike (Sansavini et al., 1990; Popov i Kornova, 1995).

Nedostatak mikropropagiranih sadnica za komercijalne voćnjake može predstavljati rejuvenilizacija, koja uzrokuje kasniji ulazak u rod takvih stabala (Cobianchi et al., 1992).

KULTURA EMBRIJA

Kultura embrija *Prunus domestica* i *Prunus salicina* poznata je već više od trideset godina. Ona omogućuje brže rezultate u postupku selekcije novih sorata, jer se od jednog embrija odmah može ići u multiplikaciju *in vitro*, te dobiti željeni broj biljaka s kojima ulazimo u pokus radi priznavanja sorte (Redalen, 1992).

Osim kulture embrija, isto tako je moguće izvršiti umjetnu oplodnju na Whiteovom mediju, a zatim prijenosom plodnice na medij MS kojem se dodaje 0,5 mg/l GA3 + 2% , saharoze dobiti razvijeni embrij, a zatim i novu biljčicu (Lech et al., 1994).

Biljke dobivene u kulturi embrija, ali i one iz kulture protoplasta ili genetski transformirane, mogu se odmah u kulturi tkiva selektirati a različite otpornosti (npr. bakterije, soli i sl.) ili prolaziti poseban postupak (npr. radijacija ili agensi za izazivanje mutacija i sl.).

KRIOPREZERVACIJA

To je postupak u kojem se željeno tkivo, u ovom slučaju šljive, zamrzava u zaštitnim mikrocevčicama uronjenima u tekući dušik na -196 °C, te se tako može uspješno čuvati duže vrijeme. Ovo je posebice važno za banke gena, jer određeni materijal ne zauzima puno prostora, a prema potrebi se vadi i regenerira.

Upravo predmet istraživanja predstavlja način uspješne krioprezervacije (veličina meristema, postupak zamrzivanja i sl.) interesantnih šljiva i mogućnost njihove uspješne regeneracije na hranjivom mediju nakon vadenja iz tekućeg dušika (Brison et al., 1995).

ZAKLJUČAK

Proučavajući informacije u literaturi vezane uz mikropropagaciju šljive, uočava se velik broj radova koji obrađuju tu problematiku.

Polazište predstavlja generalni princip kulture tkiva *in vitro* koji se temelji na uspješnom provođenju svih faza mikropropagacije i odabiru odgovarajućeg hranjivog medija. Stoga se naglasak u znanstvenim radovima daje na poboljšanje u samom postupku mikropropagacije, mijenjajući od prije poznate uvjete (npr. svjetlo, vlaga, uvođenje mikorize i sl.). Isto tako proučava se mogućnost mikropropagacije novih vrsta, odnosno podloga i sorata koje su zanimljive za pokusne i proizvodne nasade. Nezaobilazno je spominjanje uloge kulture tkiva *in vitro* u

stvaranju novih poboljšanih podloga i sarata pomoću kulture embrija ili promjene genotipa, mogućnosti čuvanja zanimljivog biljnog materijala krioprezervacijom.

Mikropropagacija šljiva postala je važna metoda u rasadničarstvu zbog cijelog niza prednosti, kao što su brzina dobivanja uniformnog i velikog broja biljnog materijala oslobođenog glavnih bolesti. Isto tako, oplemenjivački rad u današnje vrijeme je nezamisliv bez spoznaje o kulturi tkiva *in vitro*. Međutim, neki od autora vrlo su oprezni i upozoravaju na moguće nedostatke u proizvodnji tako dobivenih šljiva (npr. rejuvenilizacija i sl.).

Sve navedeno upućuje nas da polako shvatimo kako je mikropropagacija šljiva metoda koja nije izvediva u samoj prirodi bez utjecaja čovjeka. Ona danas predstavlja samo početni impuls u otvaranju novog područja, a to je transformacija tj. promjena postojećih genotipova šljiva ubacivanjem novih gena, kako bismo dobili transgene, odnosno superiornije podloge ili sorte u nama interesantnim svojstvima.

LITERATURA

1. Aier, N. B.; Sharma, S. D. (1990): Micropropagation in some plum cultivars, *Fruit Science Reports* 17 (1): 57 - 63.
2. Ambrožić-Turk B.; Smole, J.; Šiftar, A. (1992): Micropropagation of a plum ecotype (*Prunus domestica* L.) as rootstock for apricots. *Acta Horticulturae* 300: 1111-14.
3. Arena, M. E.; Caso, O. H. (1992): Factores que afectan la multiplicación *in vitro* de los brotes de portainjertos de *Prunus*. *Phyton* 53(1): 29-38.
4. Arena, M. E.; Caso, O. H. (1992): Enraizamiento *in vitro* de los portainjertos de ciruelo Mariana GF 8/1, Mirabolano By San Julian GF 655/2. *AgriScientia* 11:61-67.
5. Bassi, G.; Cossio, F. (1991): *In vitro* shoot regeneration of "Blufre" and "Susino di Dro" prune cultivars (*Prunus domestica* L.). *Acta Horticulturae* 289: 81-84.
6. Brison, M.; Boucaud, M. T.; Dosba, F. (1995): Cryopreservation of *in vitro* grown shoot tips of two interspecific *Prunus* rootstocks. *Plant Science* 105(2): 235-242.
7. Cardinale, F.; Berta, G. (1995): Influence of ericoid and arbuscular fungi on the root system topology of a micropropagated woody plant species (*Prunus cerasifera* L.). *Allionia* 33: 87-92.
8. Cobianchi, D.; Liverani, A.; Faedi, W.; Salvador, R.; Insero, O.; Pennone, F.; Rivalta, L.; Maltoni, M. L.; Minguzzi, A. (1992): Valutazione agronomica di materiale vivaistico micropropagato (Campania, Emilia Romagna, Lazio). *Informatore Agrario* 48(24): 43-47.
9. Čmelik, Z.; Gaćeša, B.; Duralija, B. (1995): Nove sorte, podloge i sustav uzgoja šljive. *Pomologia Croatica* 1(3-4): 17-30.
10. Deogratis, J. M. (1987): Utilisation de la culture *in vitro* en vue de l'élimination des virus NRSV, PDV et CLSV chez le cerisier (*Prunus avium*). Bordeaux, doktorska disertacija.
11. Druart, P. (1990): Potentialities of the *in vitro* culture to improve plum-tree breeding, *Acta Horticulturae* 283: 199-206.

12. Eckard, A.; Hanke, V.; Kiihne, U.; Forster, K.; Nahlovsky, T. (1988): *In-vitro* Langzeitlagerung bei Obst - Grundlage für den Aufbau einer Genbank. *Gartenbau* 35(6): 178-180.
13. Fehermann, W.; Vogl, M. (1988): Bedeutung biotechnologischer Methoden für die Obstforschung und Obstproduktion. *Gartenbau* 35(6): 175-176.
14. Fortuna, P.; Morini, S.; Giovannetti, M. (1998): Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on *in vivo* root initiation and development of micropropagated plum shoots. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 73(1): 19-28.
15. Giovannetti, M.; Fortuna, P.; Loreti, F.; Morini, S. (1996): Effects of arbuscular mycorrhizal iriocolation on *in vivo* root induction and development in shoots of Mr. S. 2/5 plum root-stockgrown *in vitro*. *Acta Horticulturae* 374: 99-102.
16. Hartmann, H. T.; Kester, D. E. (1990): Plant propagation. 4th edition *PRENTICEHALL, INC. Englewood Cliffs, New Jersey*.
17. Lech, W.; Malodobry, M.; Lech, M.; Nowak, B. (1994): "*In vitro*" fertilization of plum: *Acta Horticulturae* 359: 269-277.
18. Ledbetter, C. A.; Peterson, S.; Palmquist, D. (1966): *In vitro* osmotic tolerance of six clonally propagated *Prunus* accessions. *Journal of Genetics & Breeding* 50(1): 1-6.
19. Magahaes Junior, A. M.; Peters, J. A. (1991): Cultura "*in vitro*" de ameixeira efeito do acido indolbutirico, tipo de lampada e intensidade luminosa no enraizamento. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 3(1): 57-61.
20. Marino, G. (1983): Propagazione "*in vitro*" del susino cino-giapponese cv. "S. Rosa": influenza di diverse componenti minerali e ormonali su moltiplicazione e radicazione. *Rivista della Ortofrutticoltura Italiana* 67(5): 349-361.
21. Morini, S.; Loreti, F.; Sciutti, R. (1990): Response of some Mr. S. plum clones to *in vitro* propagation. *Acta Horticulturae* 283: 207-212.
22. Morini, S.; Loreti, F.; Sciutti, R. 1992): *In vitro* growth response of *Prunus cerasifera* shoots as influenced by different light-dark cycles and sucrose concentrations. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 28(3): 245-248.
23. Morini, S.; Muleo, R.; Sciutti, R.; Fortuna, P. (1993): Relationship between evolution CO₂ and growth of plum shoot tips cultured *in vitro* under differed light/dark regimes. *Physiologia Plantarum* 87(3): 286-290.
24. Muleo, R.; Thomas, B. (1997): Effects of light quality on shoot proliferation of *Prunus cerasifera* *in vitro* are the result of differential effects on bud induction and apical dominance. *Journal of Horticultural Science* 72(3): 483-491.
25. Murashige, T.; Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
26. Nešković, M. (1985): Vegetativno razmnožavanje belošljive (*Prunus domestica* L.) u kulturi *in vitro*. *Arhiv za poljoprivredne nauke* 46(164): 375-380.
27. Nowak, B.; Miczynski, K. (1996): Regeneration capacity of *Prunus domestica* L. cv. Wegierka Zwyczajna from leaf explants of *in vitro* shoots, using TDZ. *Folia Horticulturae* 8(2): 41-49.
28. Nowak, B.; Miczynski, K. (1997): Regeneration of plum (*Prunus domestica* L.) cultivars Čačanska Rodna, Stanley, and Čačanska Najbolja from *in vitro* leaf explants. *Folia Horticulturae* 9(1): 33-42.

29. Popov, S. (1993): Behaviour of the micropropagated Stanley plum cultivar in plantation. *Biotechnology and Biotechnology Equipment* 7(1): 21-23.
30. Popov, S.; Kornova, K. (1995): Growth and reproductive features of the plum variety. Stanley propagated *in vitro*. *Rasteniev dni Nauki* 32(5): 247-249.
31. Redalen, G. (1992): Juvenile period and seedling growth in two micropropagated plum genotypes. *Norwegian Journal of Agricultural Science* 6(3): 241-246.
32. Rossi, F.; Baraldi, R.; Facini, O.; Lercari, B. (1993): Photomorphogenic effects on *in vitro* rooting of *Prunus* rootstock GF655-2. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 32(2): 145-151.
33. Ružić, Đ.; Cerović, R. (1985): Uticaj fitoregulatora na fazu ožiljavanja šljive cv. Požegače metodom kulture tkiva *in vitro*. *Jugoslovensko voćarstvo* 19(3-4): 383-388.
34. Sansavini, S.; Buscaroli, C.; Martelli, S.; Palara, U. (1990): Osservazioni sul comportamento di susini micropropagati e innestati. *Rivista e di Ortofloricoltura* 52(6): 35-38.
35. Sciutti, R.; Morini, S. (1993): Effect of relative humidity in *in vitro* culture on some growth characteristics of a plum rootstock during shoot proliferation and rooting and on plantlet survival. *Advances in Horticultural Science* 7(4): 153-156.
36. Sciutti, R.; Morini, S. (1993): Modified stomatal characteristics in actively proliferating *in vitro* plum cultures at varying levels of relative humidity. *Advances in Horticultural Science* 7(4): 157-159.
37. Shelifost, A. E.; Kostysin, S. S.; Volkov, R. A. (1993): Micropropagation of *Prunus* species. *Biotekhnologiya* 9(S): 3-5.
38. Webster, A. D. (1995): Temperate fruit tree rootstock propagation. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 23:355-372.
39. Zacchini, M.; Morini, S.; Vitagliano, C. (1997): Effect of photoperiod on some stomatal characteristics of *in vitro* cultured fruit tree shoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 49(3): 195-200.
40. Zotto, A.; Docampo, D. M. (1997): Micropropagacion de los portainjertos de ciruelo Marianna 2624 (*Prunus cerasifera* x *P. munsoniana*) y Pixy (*P. insititia* L.) de sanidad controlada. *Phyton* 60(1/2): 127-135.