

MIKROPROPAGACIJA: MOGUĆNOSTI NJENE PRIMJENE U HRVATSKOJ POLJOPRIVREDI

Renata PAVLINA¹⁾

Pregledni znanstveni rad

Priljeno: 9. 6. 1994.

SAŽETAK

Mikropropagacija hortikulturnog bilja, voćnih i povrtnih vrsta, a posebice krumpira uspješno je korištena u komercijalnim laboratorijima u svijetu. Učinjena je analiza komercijalne mikropropagacije u zapadnoj Europi s posebnim osvrtom na Nizozemsku, koja ima 30% od svih europskih komercijalnih mikropropagacijskih laboratorija. Preporučam otvaranje takvih laboratorija u Hrvatskoj s ciljem poboljšanja ponude zdravog i kvalitetnog sadnog materijala na hrvatskom tržištu. U tu svrhu potrebno odmah razvijati institucije za kontrolu zdravstvenog stanja i kvalitete sadnog materijala te za izobrazbu kadrova zaposlenih u istraživačkim i komercijalnim biotehnološkim laboratorijima u Hrvatskoj.

Ključne riječi: mikropropagacija, in vitro klonsko razmnožavanje

MICROPROPAGATION: POSSIBILITIES OF ITS INTRODUCING IN CROATIAN AGRICULTURE

R. PAVLINA

Scientific review

Received: 9. 6. 1994.

SUMMARY

Micropropagation of ornamental plants, fruit trees, vegetables, and specially potato is very successfully used in vitro techniques in the commercial laboratories in the world.

An analysis has been made of commercial micropropagation in West European commercial micropropagational laboratories. I would recommend opening new private commercial micropropagation laboratories for improvement of quantity and quality of offering on Croatian market, and to develop institutions for controlling health and quality of material and for education of students for working in biotechnological laboratories.

Kew words: micropropagation, in vitro clonal propagation

UVOD

Mikropropagacija je metoda brzog razmnožavanja na umjetnoj hranidbenoj podlozi u akseničnim uvjetima in vitro, pod kontroliranim okolnostima uzgoja.

Primjena ove tehnologije je poželjna, jer se njome postižu barem dva cilja u proizvodnji:

- vrlo visoka multiplikacija stopa, koja se kreće od 10^4 - 10^8 biljaka po jednom izoliranom eksplantatu godišnje; i

- zdravi sadni materijal, oslobođen virusa, viroida, bakterija i gljivica, a time povećanje kolikoće i kakvoće uroda (Šutina, 1977; Šutina i Jelaska, 1978).

Prema Jelaski (1983) i Debergu i Zimmermanu (1990) već je proučavana regeneracija više od tisuću biljnih vrsta u uvjetima in vitro, a klonsko razmnožavanje komercijalno zanimljivih vrsta in vitro vrlo brzo je, zbog svojih prednosti pred klasičnim načinom propagacije, preraslo iz laboratorijske tehnike, korištene u znanstvene svrhe, u komercijalnu industriju biljne mikropropagacije.

Porast broja i kapaciteta novo otvorenih mikropropagacijskih laboratorija u Europi, najbolji je pokazatelj isplativosti ulaganja u to područje proizvodnje.

MIKROPROPAGACIJA U EUROPI

Već godine 1988. U Zapadnoj Europi je bilo 248 komercijalnih mikropropagacijskih laboratorija od čega samo u nizozemskoj 67 laboratorija. Slijede europske zemlje s više od 10 takvih laboratorijskih kapaciteta: Italija (35) Španjolska (27), Francuska (22), Z. Njemačka (21), V. Britanija (18) i Belgija (16); (Tablica 1) (Pierik, 1991).

Tab. 1. Komercijalni mikropropagacijski laboratoriji u Zapadnoj Europi godine 1988*
Tab. 1. Commercial micropropagation laboratories in Western Europe in 1988.

Država - State	Broj laboratorija - Number of laboratories	%
NIZOZEMSKA	67	27
ITALIJA	35	14
ŠPANJOLSKA	27	11
FRANCUSKA	22	9
Z. NJEMAČKA	21	8
V. BRITANIJA	18	7
BELGIJA 16	6	
DANSKA	9	4
IRSKA	8	3
GRČKA	6	2
PORTUGAL	5	2
ŠVICARSKA	4	2
FINSKA	4	2
ŠVEDSKA	4	2
NORVEŠKA	2	1
UKUPNO TOTAL	248	100

* Pierik, 1991.

Analizom strukture proizvodnje tih europskih mikropropagacijskih laboratorija uočit će se vrlo visoka proizvodnja lončanica (92,34 milijuna komada), te sadnica za rezano cvijeće s godišnjim kapacitetom proizvodnje od 37,84 milijuna primjeraka (Tablica 2).

Tab. 2. Mikropropagacija u 15 zapadnoeuropskih zemalja po kategorijama biljnih vrsta
 Tab. 2. Micropagation in 15 countries of Western Europe in 1988.

VRSTA SADNICA VARIETY OF SEEDLINGS	U MILIJUNIMA IN MILLIONS	VRSTA SADNICA VARIETY OF SEEDLINGS	U MILIJUNIMA IN MILLIONS
*			
LONČANICE	92.34*	TRAJNICE	2.98
REZANO CVIJEĆE	37.84	RATARSKO BILJE	2.42
VOĆNE VRSTE	19.43	RAZNO UKRASNO BILJE	1.94
UKRASNE LUKOVICE	13.16	POVRĆE	1.37
SITNO VOĆE	9.35	ŠUMSKO DRVEĆE	1.29
ORHIDEJE	5.29	TRAVE	0.03
UKRASNO GRMLJE I DRUGO	3.89	OSTALO	21.13
		UKUPNO TOTAL	212.46

* (Pierik, 1991) (Ukrasno bilje 74% proizvodnje) (Ornamentals 74% of production)

Tab. 3. Broj komercijalnih mikropagacijskih laboratorija u Nizozemskoj od 1983.-1986.* po broju proizvedenih sadnica

Tab. 3. Number of commercial micropropagation laboratories in the Netherlands from 1983-1986.* per number of produced seedlings

Broj proizvedenih sadnica Number of seedlines produced		Broj komercijalnih laboratorija Number of commercial laboratories			
Od From	Do To	1983.	1984.	1985.	1986.
	< 10.000.-	6	3	12	14
10.000.-	1000.000.-	9	15	14	18
100.000.-	500.000.-	4,4	6	6	
500.000.-	1.000.000.-	1	2	1	2
1.000.000.-	5.000.000.-	8	9	7	7
	> 5.000.000.-	0,0	2	3	
UKUPNO TOTAL		28	33	42	50

* Pierik, 1987.

Nizozemska predvodi po ulaganjima u ovu vrst proizvodnje, povećavajući ne samo broj komercijalnih laboratorija, već i mijenjajući strukturu proizvodnje i kapacitet takovih pogona, da bi se zadnjih godina gradili laboratoriji s proizvodnjom većom od pet milijuna primjeraka (Tablica 3 i Tablica 4). Pri tom se mora naglasiti da se Nizozemska pretežno orijentirala na masovnu proizvodnju lončanica i sadnica za proizvodnju rezanog cvijeća (Tablica 5).

Tab. 4. Mikropropagacijski laboratoriji u Nizozemskoj 1989.
Tab. 4. Micropropagational laboratories in the Netherlands in 1989.

Broj sadnica/lab. No of seedlings per lab.		Broj komerc. lab. No of commerc. lab.	
Od From	Do To	1980.	1989.
	< 100.000		39
100.000	do 1.000.000		21
1.000.000	do 5.000.000		10
	> 5.000.000	6	6
UKUPNO:		26	76
TOTAL:		26	76

Tab. 5. Mikropropagacija ukrasnog bilja u Nizozemskoj godine 1989. (u milijunima)
Tab. 5. Micropropagation of ornamentals in the Netherlands in 1989 (Pierik, 1991) (in millions)

LONČANICA POTED SEEDLINGS	u milijunima in millions	ZA REZANO CVIJEĆE FOR CUT FLOWERS	u milijunima in millions
NEPHROLEPIS	14.4	GERBERA	17.1
SAINTPAULIA	5.1	RUŽA	1.1
SPATHIPHYLLUM	4.7	ANTHURIUM	0.9
SYNCHONIUM	3.3	LJEROVI	16.3
FICUS	2.8	CYMBIDIUM	1.5
ANTHURIUM SCHERZ.	2.5	DRUGE ORHIDEJE	1.5
PLATICERIUM	0.7		
CORDYLINE	0.6		
UKUPNO	34.1		38.4
TOTAL	34.1		38.4

Nizozemska ima godine 1989. 76 komercijalnih laboratorija cca 30% Europe
 In 1988 the Netherlands has 76 comercial labs or about 30% of total in Europe

Iako je Nizozemska svoju produkciju usmjerila prije svega na hortikulturalne vrste ona je kao i Belgija, Francuska i V. Britanija, a naročito Škotska, jedan dio svojih kapaciteta sačuvala i za voćne vrste, šumsko drveće, trajnice, povrće, ratarsko bilje, a posebice na krumpir. Stoga bih se posebno osvrnula upravo na in vitro propagaciju krumpira.

MIKROPROPAGACIJA KRUMPIRA

Krumpir je jedna od vrlo značajnih ratarskih kultura u svijetu. Prosječna svjetska proizvodnja krumpira je godine 1980. (FAO) iznosila 12.519 kg/ha, a krumpirišta su te godine zauzimala 18.030.000 ha.

Iako je Australija s najvišim prosječnim urodom od 24.218 kg/ha na čelu svih kontinenata, zbog male površine pod krumpirom, njen udio u ukupnoj svjetskoj proizvodnji je svega 0,4%. Europa slijedi s prosječnim urodom 16.170 kg/ha, na čelu s Francuskom, (s prosječnim urodom od 29.469 kg/ha). U Europi je Poljska, zemlja s najvišim ukupnim urodom od 26.400.000 tona, što nije posljedica velike produkcije po jedinici površine već su u Poljskoj pod krumpirištima 2.330.000 ha, što je polovica od ukupnih površina europskih krumpirišta (Tablica 6).

Tab. 6. Proizvodnja krumpira u nekim zemljama svijeta 1980. godine
Tab. 6. Potato production in some country in the world in 1980. (FAO, 1980)

Zemlja Country	Površina u Area harvested 1000 ha	Urod Yield kg/ha
SVIJET	18.030	12.519
USA	468	29.202
JAPAN	123	27.350
KANADA	107	23.546
EUROPA	5.657	16.173
FRANCUSKA	254	29.469
NJEMAČKA	260	25.710
IRSKA	40	24.488
VELIKA BRITANIJA	205	20.835
POLJSKA	2.336	11.300
HRVATSKA	77	7.910

Niski urod je posljedica uglavnom nezdravog sjemenskog materijala, naročito zaraženog virusima A i Y čije simptome ne možemo vizualno uočiti zbog toga ne možemo ni odstranjivanjem zaraženih biljaka na mehanički način spriječiti širenje zaraze preko sjemenskog materijala.

Često je meristemska izolacija i in vitro propagacija, jedina moguća terapija koja omogućava dobivanje zdravih gomolja od tih (posebice latentnih) virusa, ozdravljenog materijala (Berljak, 1989).

Izolacijom meristema, koji je najčešće bez patogena, moguće je proizvesti zdravi sadni materijal i mikropropagacija ja uz termoterapiju i jedina metoda za dobivanje zdravog sjemenskog krumpira u slučaju zaraženosti kompletnog sadnog materijala u proizvodnji (Mellor i Stace-Smith, 1977). Stoga je od koristi navesti Kinu kao jedan od ponajboljih primjera mogućnosti tehnika, a što bi nas u

Hrvatskoj moralo potaknuti na uvođenje ove tehnike u sjemenarenje krumpirom, s obzirom da smo trenutno ispod europskog prosječnog uroda krumpira.

MIKROPROPAGACIJA KRUMPIRA U KINI

Krumpir je jedna od glavnih prehrambeno-vrijednih biljaka gdje je biotehnologija uspješno primijenjena (Bajaj, 1986).

Kina je pak zemlja u kojoj su relativno velike površine pod krumpirom (1.460.000 ha), a zbog jakih virusnih zaraza prirodom po jedinici površine bio je nezadovoljavajući. Godine 1983. je iznosio svega 8.562 kg/ha, što je polovica prosječnog europskog uroda, jedna trećina sjevernoameričkog uroda, a tek četvrtina prosječnog uroda USA.

Budući da su već Gregorini i Lorenzi (1974) utvrdili 60% povećanje uroda kultiviranjem meristemskog vrška *in vitro* Kinezi su opravdano tražili rješenje povećanja uroda primjenom upravo te mikropropagacijske tehnike u proizvodnji zdravih sadnica, a kasnije i mikrogomolja.

Sama meristemska kultura osiguravala je relativno niski koeficijent multiplikacije uz uzgoj triju generacija godišnje što je postao problem kojeg su Tao i sur. (1976), željeli riješiti internodalnim segmentiranjem biljčica, dobivenih *in vitro* iz jednog vegetacijskog vrška, i uzgojem tih segmenata (svaki s jednim listom) na bezauksinskoj podlozi. Ovom metodom, multiplikacijski koeficijent je povećan na 10^7 - 10^8 biljaka godišnje, po jednom izoliranom vegetacijskom vršku.

Druga mogućnost dobivanja zdravog sjemenskog krumpira koju su Kinezi također prakticirali je mikrotuberizacija (Wang i Hu, 1982). To je proces dobivanja mikrogomolja (od 3 - 38 mg težine, s 2 i više oka), koji imaju prednost pred *in vitro* presadnicama, jer se mogu proizvoditi velikom broju, tijekom cijele godine, jednostavnije se skladište, lakše se pakiraju u plastične vrećice ili u petrijevke, transportiraju s manjom mogućnošću ozljeda (Schilde - Rentschler i Schmeidiche, 1984). Mogu poslužiti i kao jedno od dobrih rješenja akseničnog čuvanja gen-fonda krumpira u genskim bankama i kao pogodan oblik za međunarodnu razmjenu genskog materijala (Hussey i Stacey, 1984).

Mikropropagacijske tehnike provjereno i potvrđeno omogućuju dobivanje zdravog sadnog materijala stoga je trebalo pojednostaviti proceduru i izbjeći reinfekciju virusima.

Stopu preživljavanja *in vitro* danas se može povisiti više od 80%, povećana je stopa multiplikacije po izoliranom vegetacijskom vršku (od 10 8) zadovoljavajuće je riješena faza uspješne transplantacije u poljske uvjete. U Agriculture Nuclear Clone Propagation Centres u Kini, koristi se više od milijun presadnica kao početni materijal svake godine za proizvodnju zdravog sjemenskog elitnog krumpira, a dio se distribuira u selekcijske stanice gdje se umnaža u staklenicima koji su dobro zaštićeni od insekata. Gomolji, proizvedeni u tim stanicama, umnožavaju se kroz 4 generacije kod specijaliziranih uzgajivača sjemenskog krumpira, čija je proizvodnja kontrolirana od fitosanitetskih stručnjaka svake godine.

Usporedbom uroda krumpira, proizvedenog iz zdravog i zaraženog sjemena krumpira u komparativnim poljskim pokusima s pet sorata, uočeno je povećanje uroda od 48% do 227%, ovisno o sorti (Tablica 7). Zdrave biljke proizvedene iz zdravog sjemena, su bile znatno vigoroznije tamnije obojene, više i većih listova. Primjenom mikropropagacijske metode i sadnjom zdravih gomolja povećao se urod u provinciji Zhangbei od 10.800 na 20.003 kg/ha-1, a u provinciji Gansu od 8.250 kg/ha na 17.250 kg/ha. U Kini je 67.000 ha zasađeno zdravim sadnim materijalom, a u Autonomnoj oblasti unutrašnje Mongolije, gdje je vrlo plodno tlo, a niže su temperature, moguće je postići urod čak 37.500 kg/ha, ako se sadi zdravi sadni materijal (Tao i sur., 1978).

Tab. 7. Usporedba uroda krumpira iz zdravog i zaraženog sadnog materijala u Kini (Gong i Tao, 1984)

Tab. 7. Comparison of the productivity of potato produced from healthy or infected material in China (Gong and Tao, 1984)

SORTA VARIETY	MATERIJAL MATERIAL	PROSJEČAN UROD (KG/HA) AVERAGE YIELD (KG/HA)	RAZLIKA U URODU (%) DIFFERENCES IN YIELD (%)
ZIHUABAI	ZDRAV (HEALTHY)	25.253	+227
	ZARAŽEN (INFECTED)	7.725	
LIWAIHUANG	ZDRAV	23.813	+97
	ZARAŽEN	12.090	
MIRA	ZDRAV	23.850	+210
	ZARAŽEN	7.703	
KEXING No 1	ZDRAV	24.023	+72
	ZARAŽEN	14.003	
ZISHANYAO	ZDRAV	17.925	+48
	ZARAŽEN	12.128	

PROIZVODNJA KRUMPIRA U HRVATSKOJ GODINE 1993.

Ove godine je u Hrvatskoj zasađeno krumpira 63.298 ha. Prosječni urod je iznosio 8.060 kg/ha, pa ukupna proizvodnja krumpira u godini 1993. iznosi 510 milijuna kg. Kako mi unosimo čak 2500 kg krumpira u tlo pri sadnji to je gotovo trećina proizvedenog krumpira za iduću sadnju (160 milijuna kg), pa za potrošnju ostaje 350 milijuna kg, uz preduvjet da je ulaz i izlaz robe iz skladišta jednak. Što u nas nije slučaj i znatne količine propadnu zbog neadekvatnog skladištenja (Pamić, osobna komunikacija).

Naša je proizvodnja sjemenskog krumpira daleko ispod naših realnih potreba. ona iznosi svega 3.500.000 kg godišnje. Kada bi se moralo godišnje proizvesti 12

puta više sjemenskog krumpira (oko 40.000.000 kg).

Stoga bi se za razliku valjalo pobrinuti iz uvoza sve dok na zadovoljavajuću razinu ne podignemo količinu i kakvoću domaćeg sjemena.

Već s povećanjem uroda po jedinici površine za 100% (a što je više nego realna pretpostavka), zarada bi bila najmanje 300 milijuna DEM, a uz razrađenu kvalitetnu strategiju razvitka ukupne proizvodnje sjemenskog krumpira ona bi mogla premašiti milijardu DEM.

RASPRAVA

Mikropropagacijom biljaka moguće je povećati kakvoću i kolikoću sadnica voćaka, loze, ukrasnog bilja i sjemenskog materijala poljoprivrednog bilja. Posebice mikropropagacijom krumpira postiže se diljem Europe i svijeta povećanje uroda, pa bi uvođenje takve metode u sjemenarenju krumpirom u Hrvatskoj doprinjelo sigurnom povećanju uroda sa 7.910 kg/ha na barem dvostruku vrijednost. U područjima Like i Gorskog Kotara, gdje su mogućnosti reinfekcije manje, a temperature niže i pogodnije za krumpirišta urod bi sigurno bio višestruko multipliciran.

Ako znamo da je godine 1990., u Hrvatskoj, pod krumpirištima bilo 77.000 ha onda bi već 100% povećanje uroda rezultiralo s povećanjem proizvodnje od 626.000 t, što bi preračunato vrijedilo barem 300 milijuna DEM.

Da bismo ne samo planirali nego i postigli dobre rezultate primjenom mikropropagacijskih tehnika, bilo koje poljoprivredne kulture, nužno je znati:

da su znanstvena istraživanja mikropropagacije počela u svijetu šezdesetih, a u Hrvatskoj sedamdesetih godina (*Jelaska i Šutina, 1977*),

da u Hrvatskoj postoji nekoliko znanstvenih, a samo jedan privatni komercijalni mikropropagacijski laboratorij koji je, za sada, orijentiran na ornamentalne vrste i voćne podloge,

da prije otvaranja komercijalnih laboratorija valja dobro proučiti tržište i planirati potrebe, te tek temeljem tih podataka planirati vrstu i količinu proizvodnje.

Valja znati, da komercijalni laboratoriji mogu proizvoditi:

- za poznatog kupca in vitro proizvoda,
- za poznatog kupca gotovog proizvoda i
- za vlastite potrebe.

Sigurnije je ulaganje u in vitro proizvodnju uz vlastitu finalizaciju za tržište: svu sjemensku proizvodnju treba kontrolirati dobro i racionalno organizirana fitosanitetska služba i oplemenjivači ili genetičari kao aprobatori sjemenskih usjeva.

Treba organizirati prognoznu službu i koristiti podatke prognozne službe o naletu insekata, kako bi se u uzgoju sjemenskog materijala spriječila reinfekcija virusima.

Utemeljenjem biotehnoške katedre u dodiplomskoj i poslijediplomskoj nastavi pri Agronomskom fakultetu u Zagrebu, te financiranjem projekata s

mikropropagacijskom tematikom osposobljavali bi se kadrovi za stručnu primjenu ove tehnologije u proizvodnji cvjetnica, ukrasnog grmlja, voćnih podloga i sjemenskog materijala što je nužan preduvjet uvođenja bilo koje, za nas nove, tehnologije u proizvodnju.

ZAKLJUČAK

Mikropropagacijskim metodama povećana je kakvoća i količina sadnog materijala voćaka, loze, ukrasnog bilja i drugog sadnog i sjemenskog materijala poljoprivrednog bilja u razvijenim zemljama i zemljama u razvoju.

Povećana kakvoća sadnog materijala sama po sebi izrazito povećava proizvodnju poljoprivrednih biljnih vrsta kod kojih se zdravi i kvalitetni sadni i sjemenski materijal redovito primjenjuje u proizvodnji.

Porast broja komercijalnih mikropropagacijskih laboratorija u Europi i svijetu najbolji je pokazatelj isplativosti ulaganja u proizvodnju zdravog i sjemenskog materijala.

Uvođenjem u Hrvatsku mikropropagacijskih metoda u proizvodnju sjemenskog materijala krumpira i sadnja svih površina pod krumpirom u Hrvatskoj sa zdavim sadnim materijalom udvostručilo bi ukupnu proizvodnju krumpira bez primjene drugih dodatnih ulaganja u postojeću proizvodnju.

Predlažem otvaranje komercijalnih laboratorija za propagaciju sjemenskog krumpira i drugih poljoprivrednih kultura, organizaciju djelotvorne fitosanitetske i prognozne službe te Biotehnološke katedre pri Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, radi osposobljavanja kadrova na dodiplomskoj i poslijediplomskoj razini za primjenu ove tehnologije u istraživanjima i proizvodnji. Vlastiti kadrovi i istraživanja osnovni su preduvjet za djelotvornu primjenu ove kao i svake druge tehnologije u vlastitoj proizvodnji.

Krumpir bi bio vrlo pogodna kultura za uvođenje mikropropagacijske tehnologije u Hrvatskoj, a uspjeh na ovoj kulturi vršio bi odlučujući utjecaj i na druge gospodarske kulture i proizvodnju u cjelini.

LITERATURA

- Bajaj, Y.P.S. (Ed.) (1986): *Biotechnology in agriculture and forestry*, vol. 2. Crops I. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Berljak, J. (1989): Somaklonska varijabilnost u staničnoj i protoplastnoj kulturi *Solanum tuberosum* L. Disertacija, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, pp 1- 138.
- Deberg, P., R.H. Zimmerman (Eds.) (1990): *Micropropagation: Technology and Application*. Kluwer, Dordrecht
- FAO (1980): *Production*, FAO, Rome.
- Gong Guopu, Tao Guoqing (1984): Comparative studies on the growth and productivity of virus - free and infected potatoes. *Chinese Bulletin of Botany* 2, 32-35.

- Gregorini, G., R. Lorenzi (1974): Meristem - tip culture of potato plants as a method of improving productivity. *Potato Res* 17, 24-33.
- Hussey, G. N.J. Stacey (1984): Factors affecting the formation of in vitro tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.) *Ann Bot (London)* 53, 565-578.
- Jelaska, S. i R. Šutina (Pavlina) (1977): Maintained culture of multiple plantlets from carnation Shoot tips. *Acta Horticulturae* 78, 333-340.
- Jelaska, S. (1983): Fundamentalna i primjenjena istraživanja regeneracije biljaka u kulturi tkiva. *Poljoprivredna znanstvena smotra* 60, 143-153.
- Mellor, F.C., R. Stace-Smith (1977): Virus-free potatoes by tissue culture. In: Reinert, J., Y.P.D. Bajaj (Eds): *Applied and fundamental aspects of plant cell tissue, and Organ culture*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York. pp 616-635.
- Pierik, R.L.M. (1991): Micropropagation of ornamental plants. *Acta Horticulturae* 289, 45-55.
- Schilde-Rentschler, L., P.E. Schmiediche (1984): Tissue culture: past, present and future. *Circular CIP* 12 (1) 1-6.
- Šutina (Pavlina), Renata (1977): Kultura vegetacijskog vrška karanfila u uvjetima in vitro. Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet Sveuč. u Zagrebu, pp 1-77.
- Šutina (Pavlina), Renata i Sibila Jelaska (1978): Meriklonalno razmnožavanje karanfila. *Hortikultura (Split)* 45, 41-45.
- Tao Guoqing, Yin Weiyi, Chen Huiyin, Lian Hanpin, Gong Guopu (1976): Studies on the techniques of seed-potato production: 1. Production of virus free initial stock by means of stem tip culture. *Acta Bot. Sin.* 3. 233-238.
- Tao Guoqing, Yin Weiyi, Chen Huiyin, Gong Guopu (1978): Meristem culture of potatoes and the production of virus - free seed potatoes. In: *Proc. Sym. Plant Tissue Cult*, May 25-30, 1978. Science Press, Peking, China, pp 456-462.
- Wang, P.J. i C.Y. Hu (1982): In vitro mass tuberization and virus - free seed potato production in Taiwan. *Am. Potato J.* 59, 33-37.