

Usporedba klasičnog i *in vitro* razmnožavanja vinove loze

Sažetak

U vinogradarskoj proizvodnji postupak cijepljenja predstavlja klasičan način dobivanja potomstva od matičnih biljaka vinove loze. To je najzastupljeniji način vegetativnog razmnožavanja, učinkovit je protiv filoksere, te daje dobre rezultate. Postupak se odvija u rasadniku, a nastali cjepovi predstavljaju klonove matičnih biljaka. *In vitro* razmnožavanje podrazumijeva brzo klonsko razmnožavanje biljnog materijala u sterilnim uvjetima. Prednosti *in vitro* razmnožavanja u odnosu na klasično razmnožavanje su kraći period dobivanja odraslih biljaka, te mogućnost ozdravljivanja biljnog materijala od virusa. Međutim, postupak *in vitro* razmnožavanja da bi bio uspješan zahtjeva testiranje pojedine sorte na kontrolirane uvjete. Cilj ovog rada je dati usporedbu prednosti i nedostataka klasičnog i *in vitro* razmnožavanja za vinovu lozu.

Ključne riječi: vinova loza, klasično razmnožavanje, *in vitro* multiplikacija, cijepljenje

Uvod

Vinova loza (*Vitis vinifera L.*) je višegodišnja drvenasta kultura. Za održavanje i širenje vinove loze razlikujemo dva načina razmnožavanja, vegetativno i generativno. Vegetativnim razmnožavanjem se vjerno prenose sva svojstva na potomstvo te se tako zadržavaju i sva gospodarski važna svojstva. U vinogradarstvu za proizvodnju sadnica vinove loze odnosno cjepova najviše se koristi klasično vegetativno razmnožavanje, postupak zvan cijepljenje, a odvija se u rasadniku. Nastali cjepovi predstavljaju klonove matičnih biljaka.

In vitro razmnožavanje ili razmnožavanje kulturom tkiva osim za brzu multiplikaciju biljnog materijala može se koristiti u oplemenjivanju, ozdravljinju biljnog sadnog materijala te nudi mogućnosti dugoročne pohrane biljnog materijala u bankama gena. Glavna prednost ovog načina razmnožavanja su kontrolirani uvjeti uz mogućnost proizvodnje velikog broja biljaka u relativno kratkom vremenskom periodu. Ostale prednosti su primjena u istraživanju na molekularnoj, staničnoj i razini čitavog organizma, u genetičkim istraživanjima i predstavlja važan dio biljne biotehnologije. Moguće je razmnožavati one sorte vinove loze koje se ne mogu razmnožavati klasičnim putem te se primjenjuje u ozdravljinju zaraženog sadnog materijala.

Vegetativno razmnožavanje

U povijesti, vinova loza se brzo i jednostavno vegetativno razmnožavala reznicama sve do pojave filoksere (trsne uši) u 19. stoljeću koja je opustošila gotovo sve europske vinograde. Nakon pojave filoksere dolazi do prekretnice u načinu razmnožavanja te je do danas najzastupljenije razmnožavanje cijepljenjem.

Vinogradarska praksa gotovo da ne poznaje drugi način osim vegetativnog razmnožavanja loze (Mirošević, 2007). Temelj vegetativnog razmnožavanja je u sposobnosti regeneracije pojedinih organa loze. Poznata je činjenica da se adventivno korijenje može razviti iz mladice, rozgve, peteljke lista, stapke cvijeta i bobice, dok se nadzemni dijelovi razvijaju isključivo iz embrionalnih pazušnih pupova (zimski, ljetni i spavajući) oblikovanih na mladicama. Iz ovog se može zaključiti da niti jedan vegetativni organ ne može emitirati adventivne pupove. Zbog

1

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetosimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska
Autor za korespondenciju: zmarkovic@agr.hr

toga je razumljivo da se najčešće upotrebljavaju dijelovi jednogodišnje rozgve (s dobro razvijenim pupovima) za vegetativno razmnožavanje loze. Pri tome treba istaknuti da sposobnost razvoja adventivnog korijena i mladica iz spavajućih pupova imaju i dijelovi trsa do, po prilici 5 godina starosti (Branas, 1974).

Vinova loza se može vegetativno razmnožavati na više načina: grebenicama ili povaljenicama trsa, reznicama ili ključićima i cijepljenjem ili navrtanjem. Ovdje ćemo obraditi klasični način cijepljenja omega spojem u rasadniku.



Slika 1. Postupak ukorjenjivanja reznica vinove loze

Figure 1. The rooting of cuttings of grapevine

Izvor/Source: https://fr.wikipedia.org/wiki/P%C3%A9pini%C3%A8re_viticole_en_Californie

Cijepljenje

Smatra se da je cijepljenje bilo poznato već oko 6.000 godina prije Krista i kroz sve te godine se uglavnom upotrebljavalo za precjepljivanje slabo rodnih trsova, radi promjene sorata i razmnožavanja rijetkih sorata (Mirošević, 2007). Sve se to radilo u vremenu kada se vinova loza uzgajala na vlastitom korijenu odnosno do pojave filoksere (trsne uši) koja je iz Amerike donesena u Europu oko 1858. do 1862. godine (Branas, 1974). Planchon je 1868. godine prvi otkrio da je uzrok propadanja vinograda filoksere ili trsna uš, koja napada korijen vinove loze. Bazille i Laliman su predložili da se američke vrste, koje su pokazivale otpornost prema filokseri iskoriste kao podloge te 1871. godine prijedlog je ostvaren.

Nakon dolaska filoksere cijepljenje postaje glavni način razmnožavanja tako što se vinova loza (plemka) cijepi na američke vrste i njihove križance kao podloge i od tada se vinova loza prestaje uzgajati na vlastitom korijenu. U rijetkim slučajevima cijepljenje nije potrebno kao na inertnim pijescima, gdje se smatra da filoksere nema. Cijepljenje je postala nezaobilazna i jedina praksa u borbi protiv spomenutog štetnika. Tim načinom dobivamo sljubljenika između podloge i plemke, s ciljem srastanja i dobivanja lozognog cijepa ili navrtka, mладог ili starog, sortnog rekombiniranog trsa (Gašpar i Raič, 2017).

Tehnika i tehnologija cijepljenja odnosi se na mnoštvo različitih oblika spajanja, stadiju starosti drva, po mjestu iskorištenja alata i opreme. Pomoću navedenih načina cijepljenja postoje

sljedeće skupine: po mjestu i alatu, po obliku spajanja i po stadiju starosti drveta. Po mjestu i alatu se dijeli na stalno mjesto i u rasadniku, po obliku spajanja imamo na raskol, kosi-engleski spoj i okuliranje dok po stadiju starosti drva su zeleno na zeleno, zrelo na zrelo i zrelo na zeleno. Kod cijepljenja na stalno mjesto razlikujemo cijepljenje u zrelo, cijepljenje u zeleno i okuliranje.

Tehnologija proizvodnje cjepova

Proizvodnja cjepova se provodi u rasadniku, koji mora sadržavati sljedeće osnovne objekte: matične nasade američkih vrsta loza i njihovih križanaca (podloge za vinovu lozu), matične nasade sorata vinove loze namijenjene proizvodnji plemki, slobodne površine za prporenje i proizvodnju korjenjaka podloga te građevinske objekte. U matičnom nasadu podloga uzgajaju se podloge za vinovu lozu čija je namjena: proizvodnja cjepova u rasadniku ili proizvodnja korjenjaka za podizanje matičnjaka ili vinograda gdje se cijepljenje obavlja na stalno mjesto u zeleno ili zrelo. Proizvodnja plemki se osigurava iz matičnih nasada vinove loze, a sadni materijal za podizanje tih nasada potječe od selekcioniranog klonskog i bezvirusnog materijala. Njega u matičnim nasadima mora biti besprijekorna, kako bi se osigurale zdrave i potpuno dozrele reznice, a to znači dobar prirod plemki (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.). Prporište ili lozište je površina na kojoj se obavlja prporenje cjepova kako bi se postigao dobar rast i razvoj korijena i mladica. Građevinski objekti se sastoje od rashladnih komora ili hladnjaka, stratifikala, bazena za namakanje podloga i plemki, skladišni prostor, prostor za pripremu i pakiranje reznica i cjepova te cjepljarnica.



Slika 2. Prporište ili lozište u rasadniku

Figure 2. Arbor or vineyard in the nursery

Izvor/Source: foto/photo by N. Mirošević)

Tehnologija proizvodnje cjepova započinje s pripremom reznica podloga za skladištenje. Rozgva podloge se priprema tako da se reže na reznice dužine od 90 cm. Nužno je pri pripremi reznice klasirati odnosno razvrstati, a u prvu klasu pripadaju reznice debljine od 6-12 cm. Klasirane se reznice slažu u snopove po 100, 200 ili 250 komada, pri tome vodeći računa da osnova reznice uvijek bude na jednom kraju snopa, a vrh na drugom (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Reznice plemenite loze (plemke) se režu u jesen isto kao i reznice podloga, a dužina

reznica je od 5 do 12 zdravih pupova. Radi lakšeg skladištenja reznice se slažu u snopove na osnovu dužine odnosno broju pupova, a svaki snop se sastoji od 100, 200 ili 250 komada. U vremenu od skidanja i orezivanja do cijepljenja reznice podloga i plemki se čuvaju u rashladnom prostoru s kontroliranim uvjetima, kako ne bi došlo do gubitka vode, hranjiva, smrzavanja, gljivičnih oboljenja i drugo. U rashladnom sustavu je važno održavati stalnu temperaturu (0,5 do 2 °C) i relativnu vlagu zraka (95%).

Priprema reznica za cijepljenje počinje nakon vađenja reznica iz hladnjaka i potapanja u bazenu s vodom (po potrebi). Dugačke reznice podloge režu se na standardnu dužinu od 40 do 45 cm, i to tako da se gornji dio reznice reže u koso kako bi cjepljar znao koji dio reznice treba cijepiti. Svi se pupovi na reznici podloge oslijewe odnosno uklone. Reznice plemke se nakon sušenja režu na jedan pup, a na plemki povиše pupa ostavlja se dio drva 1 cm dužine te ispod pupa 4 do 5 cm dužine.

Danas se kod strojnog cijepljenja najčešće primjenjuje „lamelasti“ i „omega“ rez. Nakon spašjanja podloge i plemke, tj. nakon završenog cijepljenja provodi se parafiniranje cjepova. Parafin se rastopi, a cjepovi se umaču u otopinu parafina na temperaturi 70-80°C. Svrha parafiniranja je sprječavanje gubitka vlage na spojnom mjestu te infekcija pupova i kalusa s botritisom. Nakon parafiniranja cjepovi se stratificiraju odnosno pospješuju, a najčešći način pospješivanja je slaganje cjepova u sanduke uz korištenje različitih supstrata. Svrha stratificiranja je sprečavanje razvoja botritisa i drugih štetnih mikroorganizama te usporava razvoj podnožnog korijena kako se ne bi trošila pričuvna hranjiva iz reznica. Neposredno prije slanja u prporište cjepovi se vade iz sanduka, klasiraju i ponovo parafiniraju na 75°C. Prporište se kvalitetno obradi u jesen i po potrebi se unosi mineralna ili organska gnojiva. Cjepovi u prporištu ostaju tijekom jedne vegetacije te se na njima redovito provodi njega i zelena rezidba. Vađenje cjepova iz prporišta obavlja se u jesen nakon opadanja lišća, a cjepovi se na velikim površinama vade traktorskim plugom za vađenje cjepova dok na manjim površinama ručno. Nakon vađenja provodi se još jedno klasiranje cjepova, a provodi se na temelju zdravstvenog stanja trsa, spojnog mesta, broju korijena na osnovi cjepta te dozrelosti rozwge na cjepu. Cjepovi se slažu u snopove po 25, 50 ili 100 komada, vežu i etiketiraju te se skladište u hladnjaci pod kontroliranim uvjetima do prodaje.



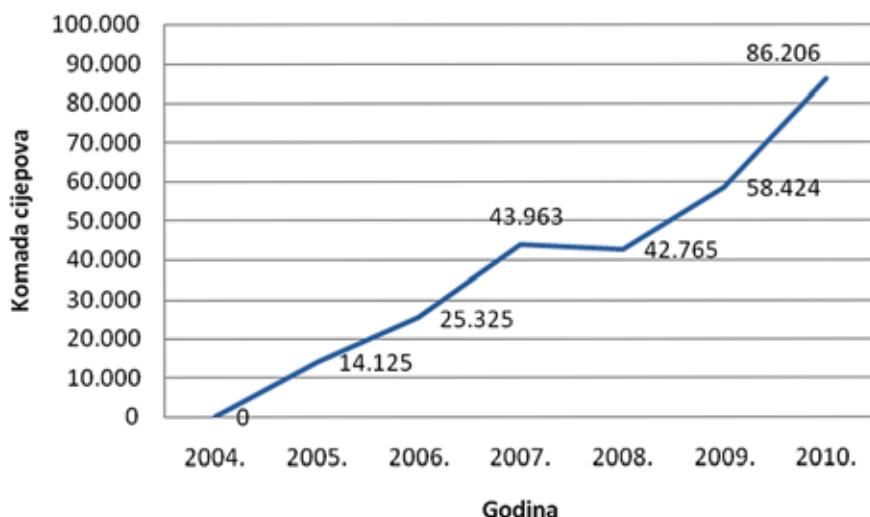
Slika 3. Cijep vinove loze

Figure 3. Grapevine grafting

Izvor/Source: www.fragaria.hr

Prednosti i nedostaci razmnožavanja cijepljenjem

Prednosti razmnožavanja cijepljenjem su zaštita od filoksere. Cijepljenje europske ili vinove loze na podlogu je jedini racionalni postupak u borbi protiv filoksere jer je filoksera štetnik koji napada korijen vinove loze dok su američke vrste loza otporne. Cijepljenjem možemo odrabiti podloge koje su otpornije na nematode u tlu. Za provedbu cijepljenja ne treba visoka tehnologija i skupocjeno opremljen laboratorij. Cijepljenjem su dobivene sadnice otpornije na okolinske uvjete jer ne trebaju prolaziti fazu prilagodbe kao biljke dobivene *in vitro* razmnožavanjem. Važno je spomenuti da je ova metoda razmnožavanja vrlo laka, jednostavna i sigurna je revitalizacija sorata vinove loze, a posebice autohtonih sorata. Zbog već spomenute filoksere i drugih razloga kao što su introdukcija stranih sorata i nedovoljne količine sadnog materijala mnoge autohtone sorte u Republici Hrvatskoj su nepovratno nestale. Zbog te problematike Andabaka i suradnici (2011) su proveli istraživanje o revitalizaciji, zaštiti i popularizaciji autohtonog sortimenta vinove loze te su utvrdili uspjeh revitalizacije sorata Plavina, Crljenak Kaštelanski, Debit i Babić.

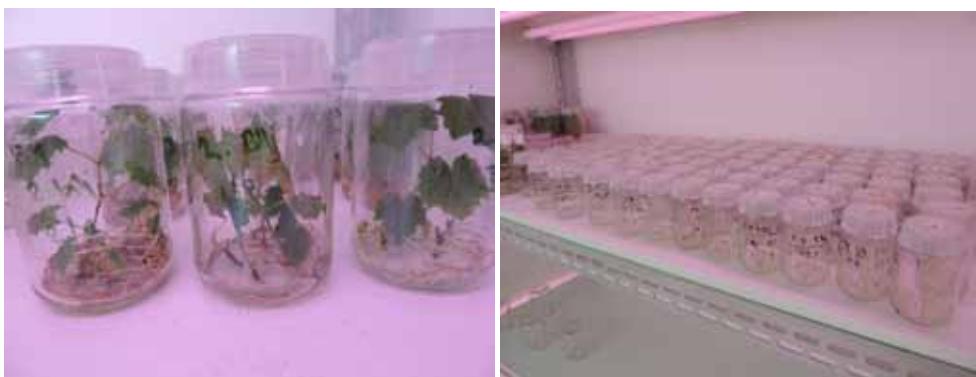


Grafikon 1. Uspješnost revitalizacije i popularizacije sorte Crljenak Kaštelanski
Graph 1. Success of revitalization and popularization of Crljenak Kaštelanski variety
Izvor/Source: Andabaka i sur., 2011.

In vitro razmnožavanje

Razmnožavanje metodom *in vitro* ili kulturom tkiva relativno je nov način i temelji se na sposobnosti razvoja čitave biljke vrlo sitnih biljnih organa ili komadića tkiva pa čak i stanica u kontroliranim uvjetima. Razmnožavanje u *in vitro* uvjetima je metoda vegetativnog razmnožavanja. U vrlo kratkom vremenu je moguće dobiti veliki broj biljaka iz jedne matične biljke. Prvi pokušaj razmnožavanja kulturom tkiva veže se uz znanstvenika Haberlandta koji je 1902. godine pokušao komadiće biljnog tkiva (izrezanih iz organizma) kultivirati na mješovitoj hranidbenoj podlozi. Iako su rezultati bili nepotpuni, on je vjerovao u novi način razmnožavanja i istraživanja biljnog organizma koji se temelji na sposobnosti regeneracije biljaka iz pojedinih dijelova ili stanica.

S vremenom je postignuto i uspješno kultiviranje drvenastih kultura. Murashige i Skoog su 1962. godine objavili sastav hranidbene podloge (koji po njima zovemo MS medij) na kojem se i danas najčešće uzgajaju biljke različitih vrsta pa tako i vinove loze.



Slika 4. Multiplikacija biljnog materijala u in vitro uvjetima - biljni materijal u posudama za rast

Figure 4. Multiplication of plant material in in vitro conditions - plant material in growth vessels

Izvor/Source: foto/photo by Zvjezdana Marković

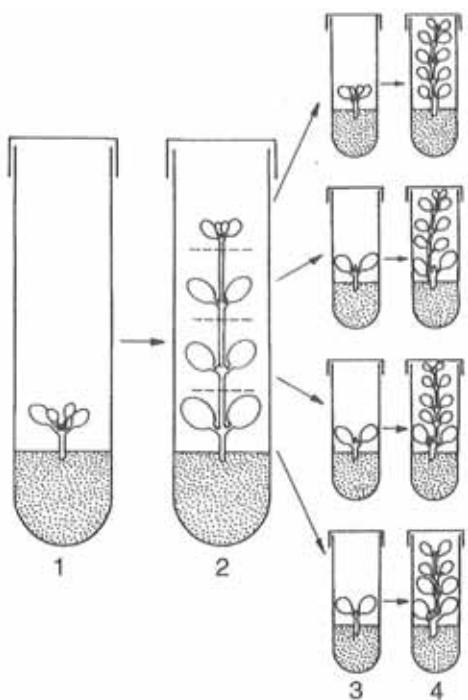
Vegetativno razmnožavanje (reznicama, vriježama, odvajanje komadića biljaka, povajljenicama, lukovicama i dr.) primjenjuje se u poljoprivredi već vrlo dugo i ima jednako važnu ulogu kao i razmnožavanje sjemenom; mnoge važne kulture kao krumpir, jagode, vinova loza množe lukovičaste kulture, drvenaste voćke, cvjetne kulture i dr. razmnožavaju se isključivo vegetativno (Jelaska, 1994). Prvi u kulturi tkiva na vinovoj lozi radio je Morel 1941. godine, a Morel i Martin (1952. godine) su prvi koristili kulturu vrhova izdanaka za dobivanje biljaka oslobođenih od virusa. Godine 1969. kulturu nodija za vinovu lozu uspostavio je Galzy (Jelaska, 1994).

Postupak mikrorazmnožavanja *in vitro*

Vegetativno razmnožavanje *in vitro* može se postići sljedećim tehnikama: kulturom nodijskog odsječka, kulture meristema i vegetacijskog vrška te metodom aksilarnog pupa. Kulturom meristema i vegetacijskog vrška u kombinaciji s termoterapijom dobivamo biljke slobodne od virusa. Za razliku od klasičnog vegetativnog razmnožavanja pri kojem se na potomstvo prenose gljivice, virusi, bakterije i mikoplazme, ovom tehnikom se dobivaju zdrave biljke jer meristemsko tkivo zadržava malu koncentraciju virusnih čestica.

Metoda aksilarnog pupa je postala jedna od primjenjivanih u uvjetima razmnožavanja *in vitro*, a vrši se tako da se izolira vegetacijski vršak i postavlja se na podlogu i inducira se rast aksilarnih pupova u pazušcu lista.

Kultura nodijskog odsječka još se naziva i „kultura mikroreznica“ jer je slična klasičnom razmnožavanju reznicama. Kod ove metode se izolira pup s komadićem pripadajuće stabljike radi poticanja razvitka izdanaka. Danas je jedna od najvažnijih metoda.



Slika 5. Kultura nodijskog odsječka (1-početni eksplantat; 2-odrasla biljka; 3-prva faza multipliciranja; 4-faza multipliciranja)

Figure 5. Nodular section culture (1-initial explant; 2-adult plant; 3-first multiplication phase; 4-multiplication phase)

Izvor/Source: Jelaska, 1994

Hranidbena podloga u razmnožavanju in vitro

Uspješnost kulture stanica, tkiva ili organa ovisi o izboru i sastavu hranidbene podloge. Sve hranidbene podloge koje se danas upotrebljavaju sadrže mineralne soli, ugljikohidrate, vitamine i regulatore rasta. U uvjetima *in vitro* eksplantati se uzgajaju na umjetnim hranidbenim podlogama. Moguće je proizvesti kulturu tkiva gotovo od svakog dijela biljnog materijala, počevši od fitogenski nižih biljaka kao što su mahovine pa sve do viših zeljastih i drvenastih, dodavanjem potrebnih tvari u odgovarajućem obliku i kombinacijama. Sastav hranidbene podloge je potrebno prilagoditi svakoj pojedinoj vrsti, a osim toga različiti su zahtjevi kod pojedinih sorata, to je osobito izraženo kod vinove loze zbog velikog sortimenta.

Podloge moraju sadržavati odgovarajuće količine anorganskih tvari koji će zadovoljiti prehrambene i fiziološke potrebe kulture. Najpoznatije podloge su MS, B5, ER, a većina ostalih podloga su modifikacija ovih triju navedenih (Jelaska, 1994.). Sastavni dijelovi hranidbene podloge za kulturu biljnih stanica dijelimo na pet glavnih skupina: anorganske soli, ugljikohidrati, vitamini, regulatori rasta i organski dodaci. Dodavanje agaru hranidbenoj podlozi još uvek je najčešće upotrebljavani način za držanje tkiva ili stanica na površini podloge odnosno za ukrućivanje podloge. Postoje dvije kategorije dodavanja regulatora rasta (fitohormona) u podlogu: auksini i citokinini. Kada želimo potaknuti stvaranje kalusa koristimo auksin (najčešće 2,4 D odnosno 2,4- diklorofenoksiocetna kis.). Kada se kultura tkiva postavlja radi morfoge-

neze, onda se koriste kombinacija auksina (NAA tj. 1-naftalenoctena kis.) i citokini (najčešće korišteni hormon je BA odnosno N6-benzilaminopurin).

Hranidbena podloga MS se najčešće koristi u kulturi tkiva za vinovu lozu. Na primjer, kod sorata Plavca malog i Vugave (vrsta *Vitis vinifera* L.) pokazalo se da pri povećanoj koncentraciji BA (8,9 µM) nastaju izbojci s kompaktnim nodijima i neobičnim oblikom lišća, dok koncentracija od 4,4 µM uzrokuje manje kompaktnih, izduženih izbojaka te normalno lišće (Marković i sur., 2014). U znanstvenom radu Hartl i Maleša (2000) pokazalo se da je MS podloga najprikladnija za mikropromulgaciju autohtone sorte Vugava (*V. vinifera* L.) u usporedbi s polovičnim sastavom MS-a ili WPM (Wood plant medium) podlogom.

Kod testiranja hrvatskih autohtonih sorata Plavca malog, Debita, Grka, Lasine i Plavine u *in vitro* uvjetima u znanstvenom radu Marković i suradnika (2014.) utvrdilo se da reakcija na odabir podloge uvelike može ovisiti o genotipu, ali i o virusnoj zarazi. Istraživanje se provodilo na tri tipa podloge: 1)-polovičan sastav MS-a, 2)- puni sastav MS-a i 3)- puni sastav MS-a s dodatkom 4,4 µM/L BA-a. Postotak preživljavanja viši od 90% imala je sorta Plavac mali bez obzira na tip medija. Sorte Debit, Grk i Lasina na mediju 2 su pokazale niže rezultate preživljavanja od 57.1 do 61%, a na mediju 3 rezultate od 36.4% i 64.3% pokazale su sorte Grk i Plavina. Značajne razlike su zabilježene između zdravih i virusom zaraženih biljaka kod sorte Plavac mali. Većina biljaka normalno se razvila. Kod zaraženih biljaka se dogodio pad u rastu od 5.5-31.4%. Zdravi genotipovi postigli su prosječan rast od 6.3 cm, dok je Plavac mali zaražen GFLV-om dosegao svega 2,6 cm (Marković i sur., 2014).

Prednosti i nedostaci *in vitro* razmnožavanja

Prednost razmnožavanja u kulturi tkiva *in vitro* je mogućnost dobivanja velikog broja uniformnih potomaka u kratkom vremenu i na malom prostoru. Zato se ova metoda ponajprije koristi u slučajevima kada želimo razmnožavati rijetke, vrijedne genotipove od kojih imamo vrlo malu početnu populaciju (ponekad samo jednu matičnu biljku).

Najznačajnija primjena *in vitro* razmnožavanja je ozdravljivanje sorata vinove loze od virusa kulturom meristema, sa ili bez termoterapije, a u novije vrijeme i krioterapije. Ovo je osobito važno kod rijetkih, autohtonih sorata u čijoj populaciji često nema niti jedan trs nezaražen virusom što je temelj za dobivanje bezvirusnog, certificiranog sadnog materijala (Karoglan Kontić i sur., 2009.). U tijeku je istraživanje na autohtonim sortama s ciljem ozdravljivanja biotehnološkim metodama u Laboratoriju za kulturu tkiva, Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo, Agronomskog fakulteta u Zagrebu (rezultati su u postupku objave).

In vitro kultura prikladna je također za osnivanje banke gena, kao alternativa klasičnom kolekcijskom nasadu. U ovakvim uvjetima može se čuvati veliki broj genotipova u malom prostoru, uz bitno manje troškove i opasnosti od gubitka primki uslijed nepovoljnih abiotskih i bioloških čimbenika, poput mrazeva, tuče, bolesti (Engelman, 2012).

Tehnike kulture tkiva omogućuju i provođenje različitih istraživanja te su sastavni dio drugih biotehničkih metoda poput krioprezervacije i krioterapije.

Razmnožavanje u uvjetima *in vitro* predstavlja stres za biljku što može potaknuti pojавu promjena, od kojih su neke reverzibilne, a neke su i genetski uvjetovane. Najmanja razina genetičkih promjena uočena je kod razmnožavanja već formiranih pupova (kulture nodijskih od-sječaka), a najveća kada se biljke razvijaju iz nediferenciranih staničja. Tim se problemom bavio Grenan koji je, neovisno o provedenoj termoterapiji, tvrdio da se vegetativno potomstvo često razlikuje od matičnih biljaka ponajprije na razini morfologije lista i u dinamici ciklusa razvoja (Mirošević, 2007). Primjer razlike između potomstva i roditelja je sorta Albarino iz Španjolske kod koje se uvidjelo da potomstvo često formira manje grozdove i plosnatije bobice, a sorta Macabeo je primjer razlike u prinosu kod potomstva (Mirošević, 2007).

Zaključak

Od davnina je čovjek vegetativno razmnožavao vinovu lozu (*Vitis vinifera L.*) kako bi sačuvalo proizvodna svojstva s roditelja na potomstvo. Kroz povijest načini vegetativnog razmnožavanja su se mijenjali, a najveća promjena se dogodila pojavom filoksere kada je cijepljenje prihvaćeno kao najbolje rješenje za razmnožavanje loze. Smatra se da će se i u budućnosti još duži vremenski period koristiti kao najvažniji i najčešći način razmnožavanja jer sama tehnologija nije zahtjevna, a daje dobre rezultate.

S druge strane mora se naglasiti da vegetativno razmnožavanje *in vitro* metodom itekako ima svoju značajnu primjenu u vinogradarstvu. Danas se najviše koristi u svrhu brzog konskog razmnožavanja ugroženih sorata i za ozdravlјivanje sorata vinove loze zaraženih virusima. Razmnožavanje vinove loze *in vitro* metodom još uvijek nema veliki značaj jer biljke uzgojene u takvim kontroliranim uvjetima pokazuju varijabilne rezultate od sorte do sorte. Trenutno u Hrvatskoj nema značajnije primjene *in vitro* metode za proizvodnju sadnica vinove loze te se same sadnice proizvode cijepljenjem.

Literatura

- Andabaka, Ž., Stupić, D., Marković, Z., Preiner, D. (2011) Novi trendovi u proizvodnji sadnog materijala autohtonih sorata vinove loze u Hrvatskoj, *Glasnik zaštite bilja* 34(1):46-56.
 Branas, J. (1974) *Viticulture*, ENSA, Montpellier
 Engelmann, F. (2012) *Germplasm collection, storage and preservation*. U: Altman A, Hazegawa PM, ur. Plant biotechnology and agriculture — prospects for the 21st Century.
 Fragaria d.o.o, Zagreb. URL: <http://www.fragaria.hr/Proizvodi-lozni-cijepovi-4.aspx>, (12.10.2020.)
 Gašpar, M., Raič, A. (2017) *Priročnik o precjepljivanju vinove loze*. Mostar:Federalni agromediteranski zavod.
 Jelaška, S. (1994) *Kultura biljnih stanic i tkiva*. Školska knjiga, Zagreb.
 Karoglan Kontić, J., Preiner, D., Šimon, S., Zdunić, G., Poljuha, D., Maletić, E. (2009) Sanitary Status of Croatian Native Grapevine Varieties. *Agriculturalis Conspectus Scientificus* 74 (2), 1-5.
 Maletić E, Karoglan Kontić J, Pejić I. (2008) *Vinova loza*. Školska knjiga, Zagreb.
 Marković Z., Preiner D., Bošnjak A. M., Safner T., Stupić D., Andabaka Ž., Maletić E., Chatelet P., Engelmann F., Karoglan Kontić J. (2014) In vitro introduction of healthy and virus-infected genotypes of native Croatian grapevine cultivars. *Cent. Eur. J. Biol.* 9(11) - 1087-1098.
 Mirošević N., Karoglan Kontić J. (2008) *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
 Mirošević N. (2007) *Razmnožavanje vinove loze i lozno rasadničarstvo*. Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb.

Prispjelo/Received: 23.12.2020.

Prihvaćeno/Accepted: 15.3.2021.

Preliminary communication

Comparison of classical and *in vitro* multiplication of grapevine

Abstract

In viticulture, the classical procedure of obtaining the adult plants is the procedure of grafting. It is the most common procedure of vegetative propagation, highly efficient against phylloxera, with significantly good results. The procedure is performed in nursery and obtained grafts present clones of mother plants. *In vitro* multiplication implies the fast clonal propagation of plant material in a sterile conditions. Advantages of *in vitro* multiplication in comparison with classical one is short period for achieving mother plants with the possibility of virus eradication of plant material. However, the procedure of *in vitro* multiplication is more demanding considering the fact that each variety has different response to controlled culture conditions, which need to be tested. The aim of this study is to give a comparison of advantages and disadvantages of classical and *in vitro* multiplication of grapevine.

Keywords: grapevine, classical propagation, *in vitro* multiplication, grafting