

## Razmnožavanje voćaka mikropropagacijom *in vitro* – ekonomska efikasnost primene

Đurdina Ružić<sup>1</sup>, Radosav Cerović<sup>2</sup>, Tatjana Vujović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za voćarstvo, Kralja Petra I 9, 32000 Čačak, Republika Srbija  
E-mail: djinaruzic@gmail.com

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Inovacioni centar Tehnološko-metalurškog fakulteta, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, Republika Srbija

Primljeno: 07. avgusta 2015; prihvaćeno: 09. novembra 2015.

**Rezime.** Aspekti racionalizacije i uvođenja tzv. „low cost“ tehnologije/mikropropagacije i šire primenljivosti u komercijalne svrhe u oblasti voćarstva su razmatrani u radu. Preko navođenja uspešnih međunarodnih komercijalnih laboratorija za *in vitro* mikropropagaciju, mogućih metodoloških i ekonomskih ograničenja/preporuka, uslova gajenja biljaka, do neophodne potrebne opreme i dobrih primera iz prakse, razmatrana je primena mikropropagacije u svetlu ekonomičnosti i primenljivosti u našim uslovima.

**Ključne reči:** mikropropagacija *in vitro*, vrste voćaka, komercijalna primena

### Uvod

Opšte prihvaćen termin kultura biljnog tkiva predstavlja gajenje *in vitro* svih biljnih delova bilo da su to ćelije, tkiva ili organi pod aseptičnim uslovima (Ružić et al., 2007). Zasniva se na starom konceptu ćelijske totipotencije koji je prvi postavio Haberlandt (1902).

Kultura biljnog tkiva se često koristi i kao sinonim za mikropropagaciju (Thorpe, 1981), koja u užem smislu obuhvata kulturu izdanaka aksilarnog porekla i kao takva spada u kulturu organa. Zajedno sa tehnikama regeneracije izdanaka iz kalusa, listova i somatskom embriogenezom, svrstava se u tehnike klonskog *in vitro* razmnožavanja biljaka. Osim praktične primene u komercijalnoj proizvodnji ove tehnike se mogu koristiti kao veoma pogodan sistem za simulaciju i proučavanje mnogih *in vitro* procesa koji se mogu komparirati sa istim procesima u *in vivo* uslovima, jer se mikroklimat *in vitro* može posmatrati kroz tri glavne faze: medijum, atmosfera ili vršni prostor i biljni

materijal, što je analogno sa zemljom, vazduhom i biljkom u *in vivo* uslovima (Williams, 1995).

Mikropropagacija kao savremena metoda vegetativnog razmnožavanja, je našla široku primenu u hortikulturi, tako da je postala standardni način razmnožavanja za mnoge vrste ukrasnih biljaka, vrste voćaka i podloge voćaka. Njen osnovni cilj je: masovna proizvodnja genetički identičnih, fiziološki uniformnih i zdravih biljaka, koje mogu biti proizvedene u kratkom vremenskom periodu.

Uspeh u uspostavljanju/razvijanju protokola mikropropagacije zavisi od mnogih faktora. Među najvažnijima su uslovi kultivisanja i biljni regulatori rasteinja. U Institutu za voćarstvo u Čačku je osnovana prva laboratorija za kulturu tkiva/mikropropagaciju, odnosno *in vitro* tehnike u Srbiji gde su proučavajući pomenute faktore kultivisanja već 80-tih godina XX veka uspešno razvijeni, odnosno optimizirani protokoli za razmnožavanje mnogih vrsta voćaka, kao što su: šljiva cv Požegača (Ružić, 1982; Ružić & Cerović,

1985), podloga za breskvu GF 677 (Ružić et al., 1984), podloga za trešnju Colt (Ružić & Cerović, 1987), višnja cv Šumadinka (Cerović & Ružić, 1987), jagode cvs Čačanska rana i Senga Sengana (Cerović & Ružić, 1989), *Aronia melanocarpa* (Ružić, 1993) i dr.

Aspekti uspešnosti mikropropagacije su našli mesto i u novijim istraživanjima, kao što su: podloge za trešnju Gisela 5, Inmil i Camil (Ružić et al., 2000; Ružić et al., 2001; Ružić et al., 2003/4, resp.), kupina i ribizla (Ružić & Lazić, 2006), gajene sorte šljiva, autohtone i savremene podloge za šljivu (Ružić & Vujović, 2007; Ružić et al., 2008; Vujović et al., 2007, resp.), trešnja cv Lapins (Ružić & Vujović, 2008), podloga za krušku Pyrodwarf (Ružić et al., 2011), visokožbunasta borovnica (Ružić et al., 2012), podloge Gisela 5, Gisela 6, Fereley Jaspi i Pyrodwarf (Vujović et al., 2012), višnja cv Čačanski rubin (Vujović et al., 2013) i dr.

Polazeći od činjenice da se u Srbiju uvoze velike količine sadnog materijala, naročito jagodastih vrsta voćaka, cveća, kao i vegetativnih podloga za kalemljenje (Gisela 5, Pyrodwarf, Fereley Jaspi i dr.), koje se upravo u svetu proizvode kulturom tkiva *in vitro*, osnivanjem komercijalnih laboratorija za mikropropagaciju smanjio bi se uvoz sadnog materijala, zadovoljile potrebe individualnih proizvođača, a omogućilo bi se i uvođenje novih tehnologija gajenja voćaka na slabobujnim podlogama.

Stoga je i cilj ovog rada da ukaže na ekonomsku opravdanost sprovođenja ove metode, ali i na moguće uštede u proizvodnji visoko kvalitetnog sadnog materijala.

### Uspešne komercijalne laboratorije za *in vitro* mikropropagaciju

Postojanje komercijalnih laboratorija za mikropropagaciju širom sveta ukazuje na ekonomsku primenljivost ove metode. Prema Boxus-u (1998) svetska proizvodnja biljaka metodom mikropropagacije se procenjuje na 600 mil. biljaka/godišnje. Najveći proizvođači u Evropi su Holandija, Francuska i Italija sa preko 62% zastupljenosti u odnosu na druge evropske zemlje.

Poznate su sledeće laboratorije u kojima se razmnožavaju i vrste voćaka: Vitroplant Italia S.r.l. Società

Agricola, Cesena (Italija) – jedna je od vodećih kompanija u Italiji koja se proširila i u druge oblasti, kao što je Severna Afrika i Turska (<http://www.vitroplant.it>); Vivai Battistini, Martorano di Cesena (Italija) – postoji već 20 godina i proizvodi 1,5 mil. biljaka od čega 1 mil. različitih vrsta voćaka (podloge i sorte na sopstvenom korenu) (<http://www.vivaibattistini.com>); Rahan meristem, kibuc Rosh Hanikra (Izrael) – veliki kapacitet proizvodnje sa više od 10 mil. biljaka godišnje, kao što su podloge za vrste voćaka (GF 677, Colt, M 9, MM 106...), odnosno preko 200 vrsta biljaka (meristem@rahan.co.il); AVT Kerala (Indija) – danas, ova kompanija ima kapacitet proizvodnje 10 mil. biljaka/godišnje, a sistem pakovanja i isporuke proizvoda omogućava slanje za 48 h do većine destinacija u Evropi, USA i dalekom Istoku (<http://www.avtbiotech.com/contact.php>); Zanzi vivai, Ferara (Italija) – '70-tih godina XX veka imao je prvu i najveću laboratoriju za mikropropagaciju u Italiji ([www.vivaizanzi.it](http://www.vivaizanzi.it)); Indiana Biolab Farm, Palmyra (USA) – smatra se da 10% jagoda proizvedenih u USA vode poreklo iz ove laboratorije ([www.disknet.com/indiana\\_biolab/farms200.htm](http://www.disknet.com/indiana_biolab/farms200.htm)).

Osim pomenutih laboratorija u Nemačkoj je ukupna proizvodnja naglo, već od 2004. godine, porasla na 40 mil. biljaka/godišnje (Winkelmann et al., 2006). Od vrsta voćaka proizvode najviše jagodaste vrste – 4,5 mil. biljaka godišnje (najviše jagoda – 3,9 mil. biljaka godišnje), a ostalo su hortikulturene biljke (pretežno *Phalenopsis* – 31 mil. biljaka/godišnje).

Ostale komercijalne laboratorije mogu se naći na web site-u: <http://aggie-horticulture.tamu.edu/tisscult/Microprop/microprop.html>.

### Moguće opcije za razvoj tzv. „low cost“ tehnologije/mikropropagacije

Mikropropagacija se može uspešno primeniti u voćarstvu/hortikulturi, ali uz postavljanje određenih metodoloških i ekonomskih ograničenja/preporuka. Da bi komercijalna laboratorija za mikropropagaciju bila profitabilna potrebno je smanjiti cenu proizvodnje uvođenjem/testiranjem alternativnih pristupa (Ružić & Cerović, 2002). Posebnu pažnju treba obratiti na:

Metodološka ograničenja/preporuke:	Ekonomska ograničenja/preporuke:
1. Koristiti bezvirusne početne eksplantate; matične biljke kao izvor početnih eksplantata gajiti u staklarama sa kontrolisanim načinom održavanja; matična biljka – sortno ispravna;	1. Razmnožavati podloge i jagodaste vrste voćaka – sa visokim indeksom multiplikacije; razmnožavati vrste voćaka za podizanje matičnih zasada, odnosno kombinovati <i>in vitro</i> tehnike i standardne načine vegetativnog razmnožavanja;
2. Da bi se početna infekcija smanjila biljke u staklarama za početne eksplantate prskati u određenim razmacima insekticidima i fungicidima;	2. Dobra organizacija laboratorije i obuka radne snage/kadra sa nižim kvalifikacijama (jeftinija radna snaga); utvrditi optimalan broj inokulacija/transplantacija po osobi/dans [De Fossard (1997) preporučuje do 1.500 transfera po osobi/dan, a u <i>ex vitro</i> uslove do 2.000 ožiljenih biljaka];
3. Utvrditi optimalan broj eksplantata po posudi za gajenje zbog uticaja mikroklimata na kvalitet biljaka;	3. Analizirati/sagledati potrebe na tržištu; dobro programiranje proizvodnje zbog dostupnosti u toku cele godine;
4. Racionalizovati potrošnju električne energije (npr. ispuniti u potpunosti radni prostor autoklava); fizičko-hemijske osobine medijuma zavise od načina pripreme i vremena čuvanja do inokulacije eksplantata (preporučuje se da se ne koristi medijum prvih 48 časova, Debergh, 1998);	4. Koristiti alternativne supstance, kao npr. agar za konditorsku industriju; šećer umesto saharoze....
5. Ožiljavati dobro razvijene izdanke u <i>ex vitro</i> uslovima, izbegavajući fazu ožiljavanja <i>in vitro</i> , gde to vrste biljaka dozvoljavaju;	5. Razviti tehničke i marketinške veštine, prevazići predrasude i animirati potencijalne investitore...
6. Smanjiti broj supkultura shodno OEPP/EPPO standardima (European and Mediterranean Plant Protection Organization) kada su u pitanju jagodaste vrste voćaka, ali i za druge vrste zbog akumulacije regulatora rastjenja – rezidui hormona...	

„Low cost“ tehnologija podrazumeva sniženje cene prouizvodnje, ali istog/dobrog kvaliteta, što podrazumeva da se osnovni uslovi u tehnikama kulture biljnog tkiva moraju poštovati/primenjivati (Savangikar, 2002).

*Uslovi gajenja.* Smernice koje treba inkorporirati u „low cost“ opcije treba da započinju od izgradnje laboratorije, radnog prostora, opreme, svetla, i dr. Tako su Ahloowalia & Savangikar (2002) utvrdili da u zem-

ljama u razvoju skoro 60% cene proizvodnje pripada potrošnji električne energije, pa preporučuju promenu načina osvetljavanja prelaskom sa veštačkog na prirodno svetlo uz određene zasene (bambus, venecijanske zavese, muslin i dr.) ili korišćenje polipropilenskih posuda za gajenje koje se mogu locirati i u staklarama. Ove posude za gajenje su transparentne i blizu su prirodnog spektra svetla. Ovakav način ne snižava samo cenu proizvedene biljke, već poboljšava i kvalitet bilj-

ke. Za najveći broj biljnih vrsta preporučuje se/odgovara osvetljenost u trajanju od 12–16 h, ali je važan i kvalitet svetlosti (Read, 2007). Zamenom veštačkih uslova gajenja u klimatizovanim prostorijama, sa prirodnim uslovima u mrežanicima, može se smanjiti cena proizvodnje biljaka i za 22%.

Tipični profil proizvodnje kulturom tkiva pokazuje da 40% odlazi na opremu, 10% za materijal, 20% za režiju i 30% za prodaju i administrativne aktivnosti (Walker, 1986). Racionalizacija proizvodnje podrazumeva i dobru organizaciju rada. Tako, u dobro organizovanoj laboratoriji, Ahloowalia & Savangikar (2002), npr. preporučuju da se u Laminar Air Flow kabinetima ne radi duže od 4 sata, kao i da su žene kao radnice efikasnije, pa se tako može smanjiti nezaposlenost (po polu) u nekim oblastima, što takođe donosi određene benefite državi.

*Medijumi.* Prema Prakash (1993) u ceni proizvodnje kulturom tkiva hemijske komponente medijuma učestvuju sa 15%, a od toga gelirajući agensi, kao što je agar čine 70% cene, dok ostale komponente imaju mali uticaj na formiranje cene. Isti autor preporučuje upotrebu nekih alternativnih gelirajućih supstanci koje su jeftinije, a daju dobre rezultate, kao što su kukuruzni škrob, griz, škrob iz krompira, pirinčani prah. Međutim, dodavanje ovih agenasa može imati i negativni uticaj, jer često sadrže neke inhibitorne substance za morfogenezu ili reduciraju rastenje kultura.

Osim agara, i saharoza, kao izvor ugljenika, može znatno doprineti ceni proizvoda koja se može umanjiti upotrebom kristal šećera, što smanjuje cenu medijuma od 78–87%. Sharma & Singh (1995) su dobili veoma dobre rezultate razvijajući „low cost“ mikropropagaciju đumbira (*Zingiber officinale*) korišćenjem upravo običnog kristal šećera i ekstrakta krompira sa dekstrozom, umesto saharoze, kao i izostavljanjem agara iz medijuma. Na značajno smanjenje cene koštanja mikropropagacije biljne vrste *Cantella asiatica*, korišćenjem kristal šećera, protočne vode umesto destilovane (za pripremu medijuma) i izostavljanjem agara (korišćenjem tečnog medijuma), ukazali su i Raghu et al. (2007). Kodym & Zapata-Arias (2001) su za 90% smanjili cenu troškova mikropropagacije banane korišćenjem kristal šećera, umesto saharoze, skroba iz žitarica i krompira, umesto Gelrite i agara, i uslove prirodnog svetla, umesto veštačkog.

Mogu se koristiti i tečni medijumi za određene specifične kulture, odnosno za kalusne kulture, klastere ćelija, somatske embrione, mada često mogu iza-

zvati pojavu hiperhidričnosti koja je nepoželjna pojava za mikropropagaciju.

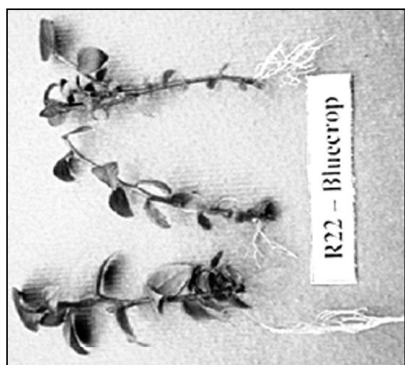
*Ostale supstance/komponente medijuma.* Za komercijalnu mikropropagaciju se mogu koristiti i jedinjenja/komponente manje čistoće. Najskuplja jedinjenja su regulatori rastjenja, ali s obzirom da se koriste u manjim količinama to mnogo ne utiče na cenu medijuma. U nekim specifičnim medijumima razvijenim za orhideje (Pervin, 1997) korišćen je uspešno samo pepton, inositol, ekstrakt banane i kokosovo mleko, što je u potpunosti zamenilo mikro soli i vitamine i znatno smanjilo cenu medijuma.

Destilovana voda koja se koristi za pripremu medijuma je takođe skupa komponenta u ceni medijuma. Ako je tekuća/protočna voda veće čistoće, bez prisustva teških metala i kontaminanata, može zameniti destilovanu vodu, kao i flaširana voda (negazirana).

Priprema medijuma je takođe posao koji traži puno vremena. Danas postoje mnogi medijumi već spremni, sastavljeni u prahu da se rastvore u vodi, ali su za komercijalne laboratorije isti skupi. Prema Prakash et al. (2002) velike komercijalne laboratorije dnevno pripreme od 200–500 l medijuma. Obično se disperguju u posude pomoću pumpi ili drugih vrsta automatskih disperzora, jer ručno punjenje po satu ne može biti veće od 200 posuda.

*Tipovi posuda za gajenje kultura.* Za komercijalnu mikropropagaciju najefikasnije je koristiti staklene posude, teglice („baby food jars“), PVC posude koje se koriste za industrijsku proizvodnju hrane u koje može da stane 15–20 eksplantata, kao i posude od polipropilena, polikarbonata, polistirena ili drugih materijala koje mogu da se autoklaviraju. Poželjne su transparentne posude sa širokim grlom zbog olakšane manipulacije i sa zapušačima ili poklopcima modifikovanim zbog aeracije (postavljanjem malog sunđera u otvor na sredini zapušača). Gde postoji mogućnost mogu se koristiti i posude za jednokratnu upotrebu koje se sterilisu gama zracima, kao deo industrijske opreme.

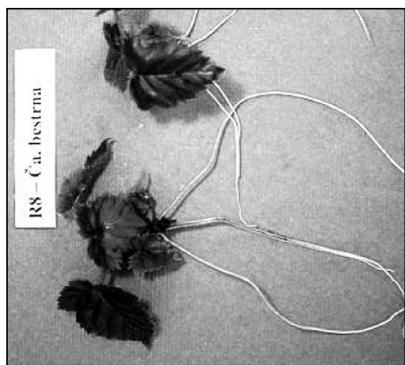
Vrste zapušača zavise od širine grla posude i mogu biti od pamučnog materijala (gaza), plastični, aluminijumske folije, PVC, ili silikonski. Najvažnije je da posude budu dobro zatvorene da spreče infekcije, ali i da omogućavaju aeraciju zbog izmene gasova O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>, vodene pare, ali i eliminacije etilena koji se nakuplja tokom gajenja. Najbolju aeraciju, ali ujedno i sprečavanje razvoja infekcija daju zapušači od papirne vate obloženi gazom, ali za komercijalnu laboratoriju nisu pogodni jer zahtevaju dosta vremena za pravljenje.



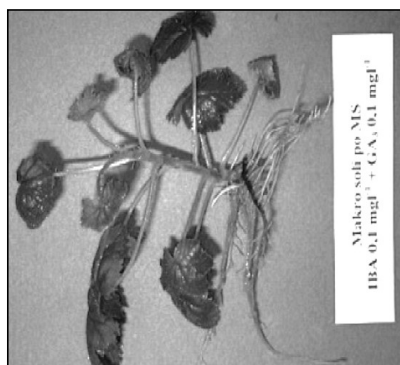
Sorta borovnice Bluecrop  
*Blueberry 'Bluecrop'*



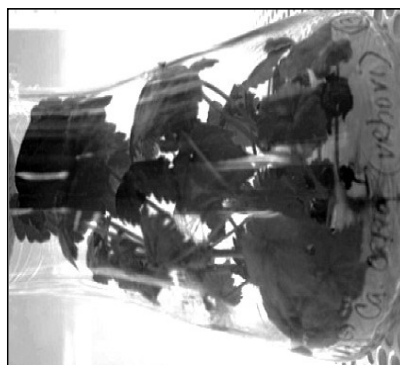
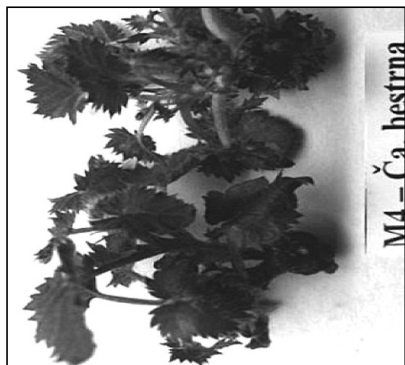
Sorta maline Willamette  
*Raspberry 'Willamette'*



Sorta kupine Čačanska bestma  
*Blackberry 'Čačanska Bestma'*



Sorta crne ribizle Čačanska crna  
*Black currant 'Čačanska Crna'*





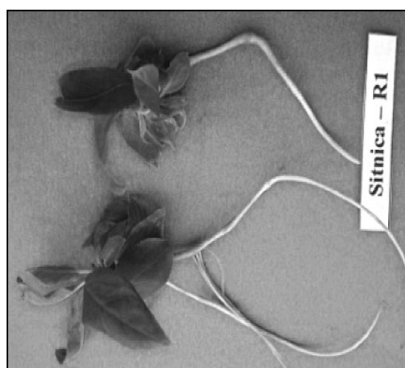
Sorta šljive Krina  
*Plum 'Krina'*



Podloga za šljivu, Fereley Jaspi  
*Plum rootstock, Fereley Jaspi*



Sorta šljive Boranka  
*Plum 'Boranka'*



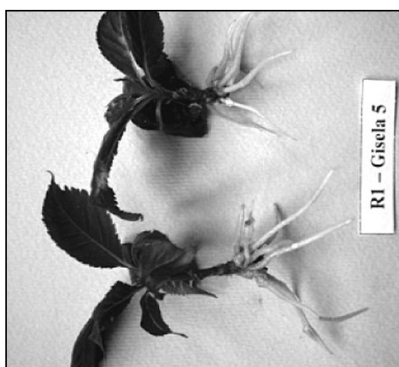
Autohtona sorta šljive Sitnica  
*Autochthonous plum cultivar 'Sitnica'*

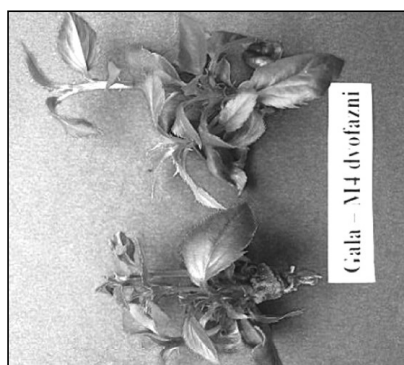


Podloga za trešnju i višnju, Gisela 5  
*Sweet and sour cherry rootstock, Gisela 5*



Autohtona sorta šljive Crvena ranka  
*Autochthonous plum cultivar 'Crvena Ranka'*

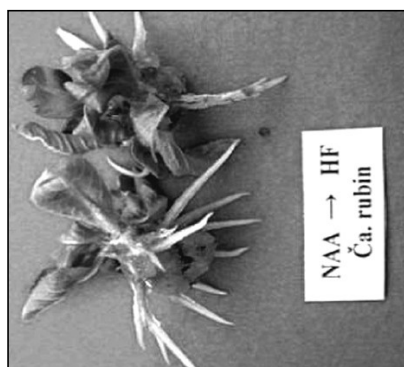




Sorta jabuke Gala  
*Apple 'Gala'*



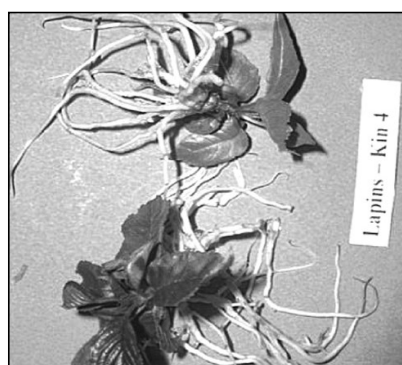
Sorta jagode Clery  
*Strawberry 'Clery'*



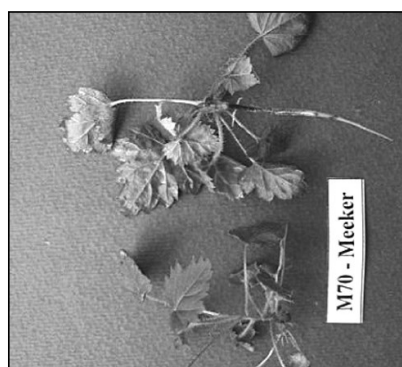
Sorta višnje Čučanski rubin  
*Sour cherry 'Čučanski Rubin'*



Podloga za krušku, Pyrodwarf  
*Pear rootstock, Pyrodwarf*



Sorta višnje Lapins/Sour cherry 'Lapins'



Sorta maline Meeker  
*Raspberry 'Meeker'*



Podloga za šljivu, džavarika  
*Plum rootstock, cherry plum*

Slika 1. Neke podloge i sorte voćaka razmnožene mikropropagacijom u laboratoriji Instituta za voćarstvo, Čačak (originalna fotodokumentacija Đ. Ružić *et al.*)  
*Fig. 1. Some rootstocks and fruit cultivars propagated by micropropagation in the lab of Fruit Research Institute, Čačak (original photodocumentation by Đ. Ružić *et al.*)*

## Potrebna oprema za sprovođenje metode mikropropagacije

Potrebna oprema varira u zavisnosti od tipa kultura i potrebnih kapaciteta. Oprema mora biti smeštena u prostorijama gde se najviše koristi. Jedna kompaktna laboratorija mora da ima osnovne tri prostorije i staklaru.

*Prostorija za pripremu medijuma.* Autoklav; analitička vaga; vaga tehnička; pH-metar; magnetna mešalica; rešo ili plamenik; aparat za destilaciju vode; sušnica; frižider sa zamrzivačem; kolica za prenos posuda sa medijumom; police za odlaganje posuda i hemikalija.

*Prostorija za prenos/transplantaciju eksplantata.* Laminar Flow kabinet (praktičniji je horizontalni sa 2 radna mesta); stalak za odlaganje tegli sa medijumom tokom rada; plamenik ili „bead“ sterilizator; stereo mikroskop (binokular); laboratorijske stolice; šejker (opciono); invertni mikroskop (opciono).

*Prostorija za gajenje/rastenje kultura „Growth room“.* Fitotron se može koristiti za početak rada, odnosno manji broj kultura; višespratne police sa međurednim razmakom do 75 cm; hladne fluorescentne lampe sa belim svetlom (ili nekim drugim spektrom svetla po potrebi) za veštačko svetlo; tajmer sa tačno određenim vremenskim razmakom za paljenje i gašenje svetla (simulacija dan/noć i svitanje); klima jedinica za regulisanje zadate temperature.

*Staklara.* Aktivni prostor za aklimatizaciju, sa sistemom za zagrevanje i hlađenje, stolovima za gajenje biljaka; „Mist“ jedinice za orošavanje biljaka.

*Ostali potrošni materijal.* Hemikalije za pripremu medijuma; posude za gajenje kultura; petri kutije za transplantaciju ili sterilisan aluminijumski papir/podmetači; skalpeli i skalpelodržači; staklene pipete ili plastične koje mogu da se autoklaviraju; digitalne automatske pipete; nastavci za digitalne automatske pipete; pincete različitih veličina; menzure i čaše različitih veličina; „millipore“ filteri; puferi; različiti supstrati, kao što su treset, perlit, pesak i dr; saksije/kontejneri za aklimatizaciju ožiljenih biljaka.

## Mogućnosti primene mikropropagacije u voćarstvu u uslovima naše zemlje

U institutu za voćarstvo u Čačku su razvijeni brojni protokoli, pa je kroz eksperimente (1986–2014) razmnoženo 23.957 biljaka/voćaka. Neke vrste voćaka koje su korišćene kao model biljke u istraživanjima u

laboratoriji Instituta za voćarstvo, Čačak, u različitim fazama mikropropagacije, su prikazane na slici 1.

## Zaključak

Mikropropagacija se uz predložene uštede i racionalizaciju može primeniti i u našim uslovima, za adekvatne vrste voćaka, koristeći već razvijene protokole i brojna naučna istraživanja, razvijena u inostranim, ali i našim naučnim institucijama. Postojanje velikih laboratorija za komercijalnu mikropropagaciju u svetu nesumnjivo ukazuju da su one pronašle ekonomsku računicu, odnosno da su profitabilne.

„Low cost“ opcije mogu znatno uticati na cenu proizvodnje mikropropagacijom, uz dobijanje biljaka istog/dobrog kvaliteta, što se postiže efikasnijim i boljim korišćenjem resursa.

Potrebno je od početka pažljivo planirati izgradnju potrebnih objekata i nabavku opreme, ali i planirati odgovarajući/pravi izbor konstituenta medijuma, posuda za gajenje i uslova gajenja uz korišćenje alternativnih pristupa, što sve može smanjiti cenu proizvodnje.

Ako se uzmu u obzir samo neke od prednosti koje nosi ova metoda vegetativnog razmnožavanja (brzo razmnožavanje klonova i dobijanje uniformnog sadnog materijala – uvođenje u proizvodnju novih sorti i hibrida; pogodna je za biljke koje se teško razmnožavaju drugim načinima vegetativnog razmnožavanja; mogu se dobiti biljke oslobođene od virusa – termoterapija i kultura meristema, ili hemoterapija; koristi se za dugo čuvanje klonskog materijala – „Cold storage“ i krioprezervacija; postupak razmnožavanja se sprovodi tokom cele godine u laboratorijskim uslovima; lako je prenošenje materijala na velike razdaljine; može se dobiti veliki broj biljaka od jednog početnog eksplantata – proizvodnja je neograničena i bez mogućnosti zaraze), onda svaka racionalizacija nalazi opravdanje primene ove savremene biotehnologije sa ciljem intenziviranja voćarske proizvodnje.

Kultura biljnog tkiva i posebno mikropropagacija će i dalje biti komponenta fundamentalnih do primenjenih, novih futurističkih tehnologija, ali za/u korist čovečanstva.

Zato je još uvek aktuelna i opominjuća mudra izreka Jawaharlal Nehru-a (1947), prvog premijera Indije: „Sve može da čeka, ali ne i poljoprivreda“ (‘*Everything can wait, but not agriculture*’).



## Zahvalnica/Acknowledgements

Ova istraživanja su finansijski podržana od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS (kontinuirana istraživanja na projektima: БТР.5. 04. 0514.Б, TR TR-6866, TR-20013, TR-31064).

## Literatura

- Ahloowalia B.S., Savangikar V.A.N. (2002): Low cost options for energy and labour. In: 'Low cost options for tissue culture technology in developing countries'. Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Vienna, pp. 83–86.
- Boxus P. (1998): Plant biotechnology applied to horticultural crops. World Conference on Horticultural Research, Rome (Italy), pp. 1–17.
- Cerović R., Ružić Đ. (1987): Micropropagation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) cv. Šumadinka. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 9: 151–157.
- Cerović R., Ružić Đ. (1989): Micropropagation of strawberry cvs Čačanska rana and Senga Sengana. Pomological-biochemical characteristics of micropropagated plants. *Acta Horticulturae*, 265: 353–358.
- De Fossard R.A. (1997): Notes on Tissue Culture. Web site: [www.defossard.2.htm](http://www.defossard.2.htm).
- Debergh P.C. (1998): Quality issue in a tissue culture laboratory. In: 'Plant Biotechnology and *In Vitro* Biology in the 21<sup>st</sup> Century', Altman A. et al. (eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, pp. 625–628.
- Haberlandt G. (1902): Kulturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. *Sitzber Kaiser Akad. Wiss. Berlin Math. Naturw. Kl., Abt. I*, pp. 69–92.
- Kodym A., Zapata-Arias F.J. (2001): Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 66: 67–71.
- Pervin S. (1997): Studies on large scale plantlet development in different orchid species and hybrids *in vitro* culture. MSc Thesis University Dhaka (cit. po Prakash et al., 2002. Culture media and containers. In: 'Low cost options for tissue culture technology in developing countries'. Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Vienna, pp. 29–40).
- Prakash S. (1993): Production of ginger and turmeric through tissue culture methods and investigations into making tissue culture propagation less expensive. Ph.D. Thesis, Bangalore University (cit. po Prakash et al., 2002. Culture media and containers. In: 'Low cost options for tissue culture technology in developing countries'. Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Vienna, pp. 29–40).
- Prakash S., Hoque M.I., Brinks T. (2002): Culture media and containers. In: 'Low cost options for tissue culture technology in developing countries'. Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Vienna, pp. 29–40.
- Raghu A.V., Martin G., Priya V., Geetha S.P., Balachandran I. (2007): Low cost alternatives for the micropropagation of *Centella asiatica*. *Journal of Plant Science*, 2(6): 592–599.
- Read P.E. (2007): Micropropagation: past, present and future. *Acta Horticulturae*, 748: 17–27.
- Ružić Đ. (1982): Mikrorazmnožavanje šljive cv. Požegača *in vitro*. *Jugoslovensko voćarstvo*, 16, 61/62: 35–41.
- Ružić Đ., Rosati P., Marino G. (1984): Effeto dei fitoregolatori nella micropropagazione dell' ibrido pesco x mandorlo GF 677. *Rivista della Ortoflorofrutticoltura Italiana*, 5: 413–422.
- Ružić Đ., Cerović R. (1985): Uticaj fitoregulatora na fazu ožiljavanja šljive cv Požegače metodom kulture tkiva *in vitro*. *Jugoslovensko voćarstvo*, 19: 383–388.
- Ružić Đ., Cerović R. (1987): Radicazione di Colt micropropagato *in vitro* e *in vivo*. *Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura*, 12: 73–75.
- Ružić Đ. (1993): *In vitro* rooting and subsequent growth of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) plants *ex vitro*. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 1, 1: 1–8.
- Ružić Đ., Sarić M., Cerović R., Čulafić Lj. (2000): Relationship between the concentration of macroelements, their uptake and multiplication of cherry rootstock Gisela 5 *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63: 9–14.
- Ružić Đ., Sarić M., Cerović R., Čulafić Lj. (2001): Changes in macroelement content of the media and in sweet cherry Inmil GM 9 shoots during *in vitro* culture. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 76, 3: 295–299.
- Ružić Đ., Cerović R. (2002): Primena mikropropagacije voćaka *in vitro* u komercijalne svrhe. *Zbornik naučnih radova sa XVI savetovanja agronoma, veterinarina i tehnologa, Padinska Skelela*, 8, 1: 213–224.
- Ružić Đ., Sarić M., Cerović R., Čulafić Lj. (2003/4): Contents of macroelements and growth of sweet cherry rootstock *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 47, 3: 463–465.
- Ružić Đ., Lazić T. (2006): Micropropagation as means of rapid multiplication of newly developed blackberry and black currant cultivars. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 71, 4: 149–153.
- Ružić Đ., Cerović R., Vujović T. (2007): Primena savremenih *in vitro* metoda kod vrste roda *Prunus* L. *Voćarstvo*, 41, 157/158: 63–70.
- Ružić Đ., Vujović T. (2007): Protokol za brzo razmnožavanje šljive (*Prunus domestica* L.) mikropropagacijom *in vitro*. *Voćarstvo*, 41, 157/158: 79–85.
- Ružić Đ., Vujović T. (2008): The effects of cytokinin types and their concentration on *in vitro* multiplication of sweet cherry cv Lapins (*Prunus cerasus* L.). *Horticultural Science*, 35, 1: 12–21.
- Ružić Đ., Vujović T., Cerović R. (2008): Razmnožavanje autohtone šljive tip Sitnica (*Prunus domestica* L.) mikropropagacijom *in vitro*. *Voćarstvo*, 42, 163/164: 103–109.
- Ružić Đ., Vujović T., Nikolić D., Cerović R. (2011): *In vitro* growth responses of the 'Pyrodwarf' pear rootstock to cytokinin types. *Romanian Biotechnological Letters*, 16, 5: 6630–6637.

- Ružić Dj., Vujović T., Cerović R., Libiakova G., Gajdosova A. (2012): Micropropagation *in vitro* of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Berry Research*, 2: 97–103.
- Savangikar V.A.N. (2002): Role of low cost options in tissue culture. In: 'Low cost options for tissue culture technology in developing countries'. Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Vienna, pp. 11–15.
- Sharma T.R., Singh B.M. (1995): Simple and cost-effective medium for propagation of ginger (*Zingiber officinale*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 65: 506–508.
- Thorpe T.A. (1981): *Plante tissue culture (methods and application in agriculture)*. Academic Press, London, N.Y.
- Vujović T., Ružić Đ., Milenković S. (2007): Uvođenje nove podloge za šljivu, Fereley Jaspi, u proizvodnju certificiranog sadnog materijala metodom mikropropagacije *in vitro*. *Voćarstvo*, 41, 157/158: 71–77.
- Vujović T., Ružić Dj., Cerović R. (2012): *In vitro* shoot multiplication as influenced by repeated subculturing of shoots of contemporary fruit rootstocks. *Horticultural Science (Prague)*, 39, 3: 101–107.
- Vujović T., Ružić Đ., Cerović R. (2013): Mikropropagacija *in vitro* sorte višnje Čačanski rubin (*Prunus cerasus* L.). *Voćarstvo*, 47, 183/184: 109–119.
- Walker K.A. (1986): Automation of *in vitro* plant propagation: Has its time finally arrived? *Genetic Engineering News*, July-August, p. 52.
- Williams R.R. (1995): The chemical microenvironment. In: 'Automation and environment control in plant tissue culture', Aitken-Christie J., Kozai T., Smith M.A.L. (eds.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 405–439.
- Winkelmann T., Geier T., Preil W. (2006): Commercial *in vitro* plant production in Germany in 1985–2004. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 86: 319–327.

## **IN VITRO MICROPROPAGATION OF FRUITS – ECONOMIC EFFICIENCY OF APPLICATION**

**Đurđina Ružić<sup>1</sup>, Radosav Cerović<sup>2</sup>, Tatjana Vujović<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Fruit Research Institute, Kralja Petra I 9, 32000 Čačak, Republic of Serbia*  
*E-mail: djinaruzic@gmail.com*

<sup>2</sup>*University of Belgrade, Innovation Centre at Faculty of Technology and Metallurgy, Karnegijeva 4, 11120 Belgrade, Republic of Serbia*

### **Abstract**

Aspects of rationalization and the introduction of so-called ‘low cost’ technology of micropropagation and wider applicability for commercial purposes in the field of pomology, were investigated in this paper. The application of micropropagation in terms of cost-effectiveness and applicability in our conditions, from there presentation of successful international commer-

cial laboratories for *in vitro* micropropagation, possible methodological and economic recommendations, conditions of growing plants, to necessary equipment and good practices, were discussed.

**Key words:** micropropagation *in vitro*, fruit species, commercial use