

# Praćenje rasta mikroreznica vinove loze u kulturi tkiva

---

**Madžar, Anđa**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:827213>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-01**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**PRAĆENJE RASTA MIKROREZNICA VINOVE LOZE U  
KULTURI TKIVA**

ZAVRŠNI RAD

Anđa Madžar

Zagreb, srpanj, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

Preddiplomski studij:  
Hortikultura

**PRAĆENJE RASTA MIKROREZNICA VINOVE LOZE U  
KULTURI TKIVA**

ZAVRŠNI RAD

Anđa Madžar

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Zvezdana Marković

Zagreb, srpanj, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Anđa Madžar**, JMBAG **0058220383**, izjavljujem da sam samostalno izradila završni rad pod naslovom:

**PRAĆENJE RASTA MIKROREZNICA VINOVE LOZE U KULTURI TKIVA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga završnog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj završni rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga završnog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI ZAVRŠNOG RADA**

Završni rad studentice **Anđe Madžar**, JMBAG **0058220383**, naslova

**PRAĆENJE RASTA MIKROREZNICA VINOVE LOZE U KULTURI TKIVA**

mentor je ocijenio ocjenom \_\_\_\_\_.

Završni rad obranjen je dana \_\_\_\_\_ pred povjerenstvom koje je prezentaciju ocijenilo ocjenom \_\_\_\_\_, te je student/ica postigao/la ukupnu ocjenu<sup>1</sup>

\_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. \_\_\_\_\_ mentor

\_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_ član

\_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_ član

\_\_\_\_\_

---

<sup>1</sup> Ocjenu završnog rada čine ocjena rada koju daje mentor (2/3 ocjene) i prosječna ocjena prezentacije koju daju članovi povjerenstva (1/3 ocjene).



## Sadržaj

<b>1. Uvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Pregled literature.....</b>	<b>3</b>
<b>3. Materijali i metode.....</b>	<b>6</b>
3.1. Pregled sorti korištenih u istraživanju.....	6
3.2. Izbor i priprema hranjive podloge.....	8
3.3. Uzorkovanje i sterilizacija biljnog materijala .....	10
3.4. Inokulacija, subkultivacija i uvjeti za uzgoj kultura <i>in vitro</i> .....	14
<b>4. Rezultati.....</b>	<b>16</b>
<b>5. Zaključak.....</b>	<b>20</b>
<b>6. Popis literature.....</b>	<b>21</b>
<b>Prilog 1. Popis kratica korištenih u tekstu.....</b>	<b>23</b>
<b>Prilog 2. Popis tablica, grafova i slika korištenih u tekstu.....</b>	<b>24</b>
<b>Životopis.....</b>	<b>26</b>

## Sažetak

Završnog rada studentice **Anđe Madžar**, naslova

### **PRAĆENJE RASTA MIKROREZNICA VINOVE LOZE U KULTURI TKIVA**

Vinova loza, kultura iznimnog značaja, proširena u svim dijelovima svijeta, već duži niz godina predmet je istraživanja u *in vitro* uvjetima radi rješavanja problema koje vinogradarstvo susreće u praksi. Za svaki pojedini genotip traži se metoda koja bi ubrzala multiplikaciju u kontroliranim uvjetima. Uzgoj kulture u *in vitro* uvjetima znači uzgoj u staklu, drugim riječima, podrazumijeva uzgoj biljaka u kontroliranim uvjetima pod konstantnom temperaturom i vlagom na hranjivim podlogama. Sastav hranjive podloge značajno utječe na rast i razvoj uzgajane kulture. Ovaj rad se temelji na istraživanju utjecaja pojedinih hranjivih podloga na rast mikroreznica vinove loze sorti: Chardonnay, Graševina, Grk i Pošip, te dva genotipa nastala križanjem dviju sorata: GRP-33 i DRP-7. Sorte se međusobno razlikuju u brzini rasta mikroreznica u *in vitro* uvjetima, a MS hranjiva podloga se pokazala pogodnija za rast od CP hranjive podloge. Analizom rezultata utvrđena je signifikantna razlika u visini mikroreznica između genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay u prvom pokusu, kao i između genotipova Grk, Pošip i Graševina u drugom pokusu. Usporedbom vrijednosti drugog parametra, broja nodija, nema značajnih razlika ni kod jedne od praćenih skupina genotipova.

**Ključne riječi:** *in vitro*, hranjiva podloga, regulator rasta



## Summary

Of the final work - student **Anđa Madžar**, entitled

### **MONITORING THE GROWTH OF VINE MICROCUTTINGS IN TISSUE CULTURE**

The grapevine, a culture of exceptional importance, expanded in all parts of the world, has been the subject of research *in vitro* for many years to solve the problems that viticulture encounters in practice. For each individual genotype, a method is sought that would accelerate multiplication under controlled conditions. Cultivation of culture *in vitro* means cultivation in glass, in other words, it implies cultivation of plants under controlled conditions under constant temperature and humidity on nutrient media. The composition of the nutrient medium significantly affects the growth and development of the cultivated culture. This work is based on the research of the influence of certain nutrient media on the growth of microcuttings of grapevine varieties: Chardonnay, Graševina, Grk and Pošip, and two genotypes created by crossing two varieties: GRP-33 and DRP-7. Varieties differ from each other in the growth rate of microcuttings *in vitro* conditions, and the MS nutrient medium proved to be more suitable for growth than the CP nutrient medium. Analysis of the results revealed a significant difference in the height of microcuttings between the genotypes GRP-33, DRP-7 and Chardonnay in the first experiment, as well as between the genotypes Grk, Pošip and Graševina in the second experiment. By comparing the values of the second parameter, the number of nodes, there are no significant differences in any of the monitored groups of genotypes.

**Keywords:** *in vitro*, nutrient medium, growth regulator



# 1. Uvod

Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) gospodarski je najvažnija vrsta roda *Vitis* (porodica *Vitaceae*), koja se razvila na području Europe i zapadne Azije. Njeni plodovi koriste se za ljudsku ishranu, bilo kao voće ili za preradu u vino, sušenje ili proizvodnju nekih drugih prehrambenih, pa i farmaceutskih proizvoda (Maletić i sur., 2015). To je višegodišnja drvenasta kultura za čije održavanje i širenje razlikujemo dva načina razmnožavanja, vegetativno i generativno.

Vegetativnim razmnožavanjem vjerno se prenose sva svojstva matične biljke na potomstvo, čime se zadržavaju sve gospodarski važne karakteristike. U vinogradarstvu se, za proizvodnju sadnica vinove loze (cijepova), najčešće koristi klasično vegetativno razmnožavanje, postupak zvan cijepljenje, koji se odvija u rasadniku. Osim ovoga načina, postoji i metoda *in vitro* razmnožavanja ili razmnožavanje kulturom tkiva, koja se osim za brzu multiplikaciju biljnog materijala, može koristiti i u oplemenjivanju, ozdravljanju biljnog sadnog materijala uz mogućnost dugoročne pohrane biljnog materijala u bankama gena (Marković i sur., 2021).

Kultura biljnog tkiva postala je sastavni dio istraživanja oplemenjivanja poljoprivrednih, hortikulturnih i drvenastih biljaka i važan dio biljne biotehnologije. Razmnožavanje kulturom tkiva relativno je nov postupak koji se zasniva na iskorištavanju rasta vrlo sitnih biljnih organa ili komadića tkiva u aseptičnim uvjetima. Često upotrebljavan termin „kultura *in vitro*“, znači kultura u staklu, jer se kulture drže u staklenim ili prozirnim plastičnim posudama (Jelaska, 1994).



Slika 1.1. Mikroreznice vinove loze *in vitro* (Laboratorij za kulturu tkiva)

Vegetativno razmnožavanje *in vitro* naziva se još i mikrorazmnožavanje jer se u početku dobivaju minijturni izdanci i biljčice. Ovim se postupkom biljke dobivaju mnogo brže nego tradicionalnim metodama. Iako, neke tehnike, kao što je razmnožavanje vegetacijskim vrškom, mogu biti lako primjenjive na velikom broju vrsta, druge su tehnike mikrorazmnožavanja poput regeneracije s pomoću protoplasta, ograničene na mali broj usko srodnih vrsta. Razvijenost tehnika *in vitro* za brzo vegetativno razmnožavanje, tržište iskorištava u svrhu: dobivanja biljaka bez patogenih klica, posebno virusa; čuvanja zdravih matičnih biljaka; poticanja genetičkih promjena i ostvarivanja „genetičkog inženjerstva“ te proizvodnje i izdvajanja vrijednih bioloških proizvoda koji se upotrebljavaju u bioreaktorima. Prvi u kulturi tkiva na vinovoj lozi radio je Morel 1941. godine, dok su Morel i Martin, 1952. godine, prvi koristili kulturu vrhova izdanaka za dobivanje biljaka oslobođenih od virusa. Godine 1969. kulturu nodija za vinovu lozu uspostavio je Galzy (Jelaska, 1994).

Godine 1962., Murashige i Skoog objavili su sastav hranjive podloge (po njima nazvan MS medij) na kojem se i danas najčešće uzgajaju različite vrste biljaka pa tako i vinove loze. Osim MS hranjive podloge, postoje mnoge druge hranjive podloge čiji sastav različito utječe na sposobnost regeneracije i brzinu multiplikacije kultura *in vitro*. Dodatak hormona rasta u sastav hranjive podloge, može pozitivno ili negativno utjecati na regeneraciju biljnog tkiva, kao i na brzinu rasta.

Cilj ovog rada je testirati utjecaj različitih hranjivih podloga na brzinu rasta mikroreznica vinove loze *in vitro*.

## 2. Pregled literature

Vinogradarstvo u Hrvatskoj smatra se jednim od važnijih elemenata poljoprivredne proizvodnje; u nekim područjima Hrvatske i jedina moguća grana poljoprivrede. Prema podacima Vinogradarskog registra, Hrvatska je 2023. godine imala 17.278 ha površine pod vinovom lozom, što je još uvijek daleko od površina iz „zlatnih dana hrvatskog vinogradarstva“ krajem 19. i početkom 20. stoljeća kada je u cijeloj Hrvatskoj bilo 170.000 ha vinogradarskih površina. Vinogradarski sortiment Republike Hrvatske čine tri najzastupljenije sorte: Graševina, Malvazija istarska i Plavac mali crni. Posljednjih godina, zahvaljujući brojnim turističkim manifestacijama i događanjima vinogradarsko-vinskog sadržaja, vinogradarstvo i vinarstvo postaje neizostavan dio kulturno-tradicijskog življenja na ovim prostorima (Maletić i sur., 2015).

Klasično vegetativno razmnožavanje ili cijepljenje, nije prva metoda koja se koristila u razmnožavanju vinove loze. Nekada se loza brzo i jednostavno razmnožavala pomoću reznica, no nakon pojave filoksere (trsne uši) u 19. stoljeću, cijepljenje je postalo najzastupljeniji način vegetativnog razmnožavanja vinove loze koji se prakticira i danas. Marković i sur. (2021) navode neke od prednosti razmnožavanja cijepljenjem: otpornost korijena vinove loze na filokseru, mogućnost odabira podloga koje su otpornije na nematode u tlu, nije potrebna visoka tehnologija ni skupocjeno opremljen laboratorij, dobivene sadnice su otpornije na okolinske uvjete jer ne trebaju prolaziti fazu prilagodbe kao biljke dobivene *in vitro* razmnožavanjem. Osim toga, na temelju istraživanja koja su proveli Andabaka i sur. (2011), utvrđena je uspješnost cijepljenja kao metode u revitalizaciji nestalih autohtonih sorata vinove loze: Plavina, Crljenak Kaštelanski, Debit i Babić.



Slika 2.1. Posljedica napada filoksere na listu vinove loze

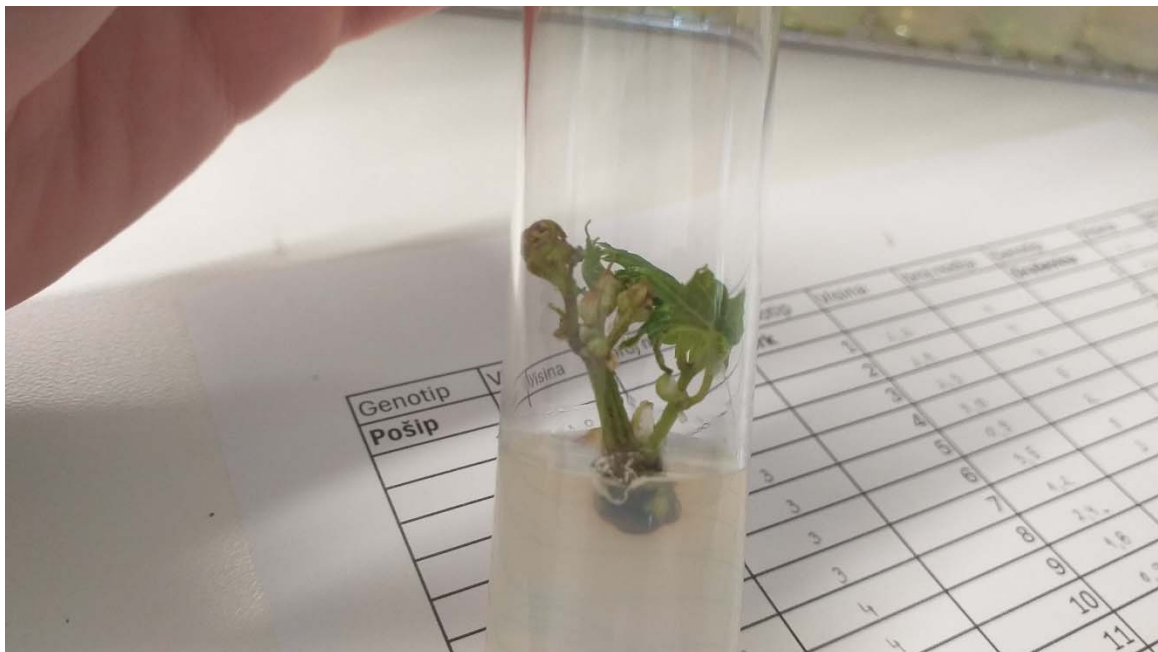
Izvor: [https://ovinu.info/vitis-vinifera-kako-je-prezivila-filokseru/#google\\_vignette](https://ovinu.info/vitis-vinifera-kako-je-prezivila-filokseru/#google_vignette)

Kultura biljnog tkiva je metoda koja se temelji na konceptu „stanične totipotentnosti“ koji je dokazan 1958. godine. Totipotentnost (lat. *totipotencia* = sposobnost za sve) je karakteristika stanice da zadržava mogućnost stvaranja svih tipova stanica odraslog organizma, da regenerira potpunu biljku (Marković i Preiner, 2011). Drugim riječima, stanica mora sadržavati sve podatke potrebne za rast i razmnožavanje organizma u sredini u kojoj živi da bi se smatrala totipotentnom (Jelaska, 1994). Godine 1838., njemački biolozi Schleiden i Schwann prvi su svojom „staničnom teorijom“ istaknuli totipotentnost diferenciranih stanica ističući ideju da je svaka stanica neovisna jedinica sposobna za razvoj u potpuno novi organizam. Prvi koji je uočio važnost totipotentnosti biljne stanice bio je Haberlandt 1902. godine kada je objavio mogućnost primjene toga svojstva. Neovisno jedan o drugome, Robbins i Kotte svojim su istraživanjima utvrdili da je za uspješan rast kulture biljnog tkiva potrebno osigurati sterilne uvjete bez prisutnosti mikroorganizama. White je 1934. prvi uspješno kultivirao komadić tkiva, dok je Ball 1946. dobio prvu kompletnu biljku iz kulture vegetacijskog vrška.

Od ranih 1960-ih, vinova loza bila je predmet istraživanja za razvoj idealnog postupka za razmnožavanje *in vitro*, kako bi se ubrzala proizvodnja vrhunskih odabranih biljaka, posebno puštenih iz novih klonskih i sanitarnih selekcija ili programa uzgoja. Ovisno o morfogenetskom procesu, tehnike razmnožavanja *in vitro* koristile su ili već postojeće meristeme ili pak tkiva bez već postojećih meristematskih struktura. Dvije najčešće i najbitnije metode za razmnožavanje vinove loze u kulturi tkiva su: metoda mikrorazmnožavanja pojedinačnim nodijskim segmentima (tzv. kultura nodalnih pupova) i metoda aksilarnog pupanja (grananja). Prva metoda temelji se na formiranju jedne ukorijenjene sadnice iz eksplantata (dio tkiva ili organ uzet s matične biljke u svrhu daljnje reprodukcije) nodija (Bouquet i Torregrosa, 2003). Kako bi povećali učinkovitost mikrorazmnožavanja, Jona i Webb (1978) predložili su drugu metodu pojačavanjem oslobađanja i proliferacije aksilarnih pupova s visokim razinama citokinina u mediju za rast. Prednost korištenja jedne ili druge metode je u tome što se početni izdanak već diferencirao *in vivo*. To znači da je za uspostavu potpune biljke potrebno samo izduživanje izdanaka i diferencijacija korijena. Ova metoda primjenjiva je u mnogim slučajevima (Bouquet i Torregrosa, 2003). Nozeran i Bancilhon (1972) navode kako s kulturom nodalnih pupova, u optimalnim uvjetima uzgoja, stopa razmnožavanja teoretski može doseći 3 milijuna biljaka iz jednog eksplantata u jednoj godini. Dok Chee i sur. (1984) iznose da se za proliferaciju aksilarnih pupova može očekivati proizvodnja od oko 75 milijuna biljaka u jednoj godini.

Eksplantati biljaka uzgajaju se *in vitro* na umjetnim hranjivim podlogama te će uspješnost kulture stanica, tkiva ili organa ovisiti o izboru pogodnog sastava hranjive podloge (Jelaska, 1994). Sve hranjive podloge, bez obzira na sastav, sadrže mineralne soli, ugljikohidrate, vitamine i regulatore rasta. U slučaju da anorganski dodaci (mineralne soli) nisu dovoljni za razvoj kalusnog tkiva, dodaju se aminokiseline kao i drugi organski dodaci.

Važno je da pH vrijednost podloge odgovara razvoju eksplantata. Optimalni pH podloge ovisi o metodi mikrorazmnožavanja i o sastavu podloge, a najčešće se kalibrira na 5.7 do 5.8. Hranjive podloge mogu biti čvrste ili tekuće (suspenzije). U sastavu hranjivih podloga često se nalazi i agar koji daje potrebnu čvrstoću, koja onda omogućuje nasađivanje tkiva eksplantata. Na taj način tkivo je u čvrstom dodiru s podlogom bez da je u nju u potpunosti uronjeno, što bi predstavljalo problem zbog manjka kisika. Podloge su većinom standardizirane, a prilagođavaju se prema svakoj vrsti, sorti i namjeni. Za *in vitro* uzgoj vinove loze tehnikom mikrorazmnožavanja nodijskim segmentima koriste se podloge: NN za inicijaciju rasta kalusa, WPM za multiplikaciju kalusa, MS za rast izdanka i MS za ukorijenjivanje izdanka (Marković i Preiner, 2011).



Slika 2.2. Primjer ispravno inokuliranog i razvijenog eksplantata vinove loze

Radi upravljanja organogenezom u kulturi *in vitro* u hranjivu podlogu dodaju se mnoge tvari koje djeluju na rast i razvitak biljnog organizma, među kojima važno mjesto zauzimaju biljni hormoni (Jelaska, 1994). Postoje dvije kategorije dodavanja regulatora rasta (fitohormona) u hranjivu podlogu: auksini i citokinini. Pokazalo se da mnoge biljne vrste i eksplantati očekivano odgovaraju na pogodan odnos između auksina i citokinina stvaranjem izdanaka i korijenja, ali i da u mnogim primjerima samo određena permisivna ravnoteža hormona dovodi do indukcije organogenoga tkiva (Jelaska, 1994). Auksin se koristi kod poticanja stvaranja kalusa (najčešće 2,4-diklorofenoskioktenu kis. ili 2,4 D). Kod kulture tkiva postavljene radi morfogeneze, koristi se kombinacija auksina (1-naftalenoctenu kis. ili NAA) i citokinina (najčešće korišteni hormon N6-benzilaminopurin ili BA) (Marković i sur., 2021).

### 3. Materijali i metode

U svrhu izrade Završnog rada, provedena su istraživanja u Laboratoriju za kulturu tkiva Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo, na Agronomskom fakultetu u Zagrebu.

#### 3.1. Pregled sorti korištenih u istraživanju

Istraživanje je provedeno na 4 sorte vinove loze: Chardonnay, Graševina, Grk i Pošip bijeli, te na dva genotipa nastala križanjem. Svaka od navedenih sorti ima određeni, veći ili manji, značaj na gospodarstvo Hrvatske te je svaka od njih cijenjena zbog svojih karakteristika, koje su kod nekih sorti izražene, kao i pojedini nedostaci koji se javljaju u proizvodnji ili preradi grožđa.

Chardonnay je jedna od najpopularnijih sorti u svijetu, rasprostranjena u svim klimatskim zonama, zahvaljujući svojoj izuzetnoj prilagodljivosti. Nastao je spontanim križanjem Pinot-a (c.) i Beline starohrvatske, što je i dokazano pomoću SSR markera. Iznimnih gospodarskih svojstava i prikladan za različite tehnologije u podrumu (Maletić, 2022).



Slika 3.1.1. Sorta Chardonnay u vinogradu Trentino

Izvor: <https://www.shutterstock.com/search/chardonnay-grapes> (Autor: Manuel Venturini)

Graševina predstavlja jednu od tri najzastupljenije sorte vinove loze u vinogradarskom sortimentu Hrvatske, zauzimajući oko 24 % ukupnih površina pod vinogradima RH (APPRRR, 2020). Dominirajući podregijama Slavonije i Hrvatskog Podunavlja, na pojedinim položajima daje iznadprosječnu kvalitetu zbog čega često



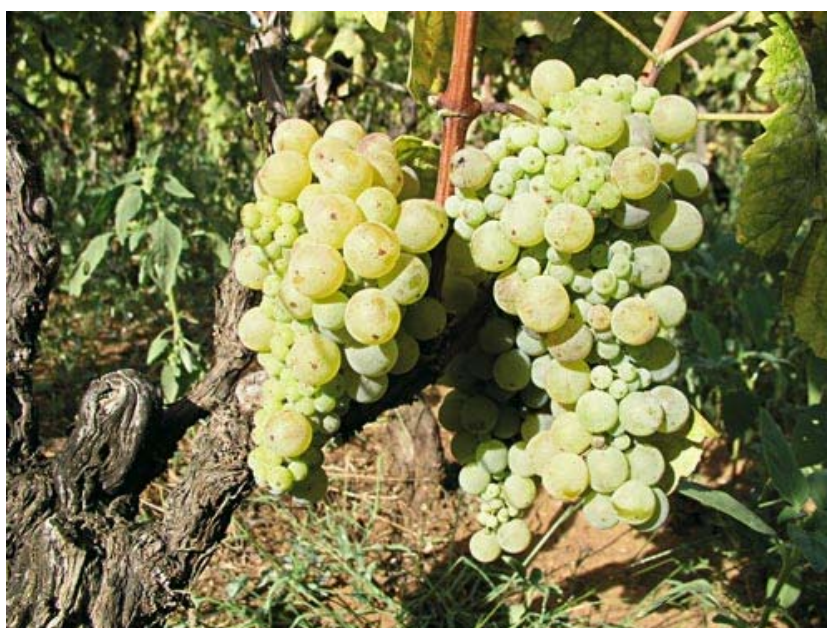
njezino podrijetlo mnogi vežu upravo uz taj prostor. Sorta je kasnog dozrijevanja i nije previše osjetljiva ni zahtjevna za uzgoj (Maletić, 2022).



Slika 3.1.2. Sorta Graševina

Izvor: <https://www.nacional.hr/en-primeur-2018-kusanje-mladih-grasevina-posipa-i-drugih-sorti/>

Grk je vrlo stara sorta nepoznatog podrijetla koja je najviše vezana za otok Korčulu, točnije područje Lumbarde, gdje se i danas najviše uzgaja. Uzgojna mana joj je prisutnost funkcionalno ženskog cvijeta, zbog čega joj je potreban oprašivač, a prinosi su neredoviti. Iz neoplodenih cvjetova razvija sitne gorkaste bobice (tzv. *pasoline*). Sorta je visokog kvalitativnog potencijala, nakuplja visoki sadržaj šećera uz vrlo dobru kiselost (Maletić i sur., 2015).



Slika 3.1.3. Sorta Grk

Izvor: <https://vinopedia.hr/grk-2/>

Pošip bijeli potomak je Bratkovine bijele i Zlatarice blatske, što je dokazano primjenom molekularnih markera, čineći ga jednom od autohtonih sorata porijeklom s Korčule. Mnoge dobre karakteristike kao što su visok rodni potencijal, rano dozrijevanje te visoka kakvoća mošta i vina omogućile su širenje ove sorte i u okolinski drugačija područja, zbog čega je danas jedna od poznatijih bijelih sorata Dalmacije (Maletić i sur., 2015).



Slika 3.1.4. Sorta Pošip

Izvor: <https://fabular.agency/hr/work/merga-victa-2/>

U ranijim istraživanjima na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo dobiveno je križanjem odabranih sorti nekoliko biljaka/potomaka sjemenjaka, koji su provjeravani na gene otpornosti. Križanje je provedeno sa sortom Grk i otpornom sortom Panonija (GRP) i sortom Dišeća ranina i Panonija (DRP). Odabrani sjemenjaci pod rednim brojem matične biljke, uvedeni su u kulturu tkiva, te su korišteni u testiranju rasta mikroreznica na različitim hranjivim podlogama (GRP-33 i DRP-7).

### **3.2. Izbor i priprema hranjive podloge**

Sastav podloge (medija) odlučujući je za rast. Prema različitim mjerilima, mnoge su podloge bile označene kao prave za optimalan stanični rast neke kulture; no taj rast često je ovisio o organskim dodacima. Pozitivno djelovanje tih dodataka upućivalo je na potrebe stanica za više dušika i drugih hranjivih tvari. U mnogim slučajevima, te se potrebe lako

ispunjavale povećanjem koncentracija anorganskih soli, posebno dušikovih spojeva, ali i šećera i vitamina. Upravo zato, podloga mora sadržavati odgovarajuće količine i odnose anorganskih tvari koje će zadovoljiti prehrabene i fiziološke potrebe stanica u kulturi. Ako je to postignuto, stanica neće zahtijevati organske dodatke kao što su aminokiseline, hidrolizat kazeina, ekstrakt kvasca ili kokosovo mlijeko. Podloga MS, inače najčešće korištena, razlikuje se od mnogih drugih podloga po visokom sadržaju nitrata, kalija i amonijevih iona (Jelaska, 1994).

Za pripremu 1 litre MS hranjive podloge (bez ikakvih hormona), staklenom čašom odmjerilo se 800 ml redestilirane vode, čija je čistoća postignuta višestrukom destilacijom. Također je preciznom vagom odvagano 4.4 g MS (Murashige i Skoog medij) hranjive podloge, 30 g saharoze, 1 mg/L PPM-a (antibiotika koji sprječava razvoj gljivica u mediju i uklanja bilo kakvu kontaminaciju) i 8 g agara. U čašu je najprije dodana MS hranjiva podloga u prahu te 1 mg/L PPM-a, nakon čega je čaša prebačena na magnetnu miješalicu do potpunog otapanja hranjive podloge. Nakon toga otopina je prebačena u menzuru u koju je dodana i preostala količina redestilirane vode do postizanja željenog volumena od 1000 ml. Otopina je ponovno vraćena u čašu na magnetnu miješalicu kako bi se uspostavio odgovarajući pH otopine, u ovom slučaju 5.80. Praćenje kretanja pH vrijednosti provodilo se uz pomoć pH-metra; kalibrirana elektroda pH-metra uronjena je u otopinu. U slučaju preniskog odnosno previsokog pH, po potrebi je kapaljkom dodana HCl (klorovodična kiselina) ili NaOH (natrijeva lužina). Nakon uspostave stabilnog pH, otopina se prebacila na električni grijač i u trenutku pojave prvih mjehurića, dodalo se prethodno izvagani agar, koji je izrazito bitan za očvršćivanje same otopine, i saharoze. Otopina se miješala staklenim štapićem do trenutka kada na stijenkama štapića više nisu bila vidljiva zrnca agara – točka završetka zagrijavanja koja označava potpuno otapanje i homogenizaciju svih dodanih sastojaka. Nakon toga se tekuća hranjiva podloga ostavila da se djelomično ohladi i onda se pomoću automatske pipete, u količini od 10 ml, prebacila u epruvetu. Ukrućivanje agara se javlja kod oko 40°C. Tako dugo dok se agar drži na vrućem, on se moći razlijevati, pipetirati ili se njime može puniti na neki drugi način (Jelaska, 1994). Pripremljena količina podloge dovoljna je za popunjavanje 2 stalka epruveta, odnosno ukupno 96 epruveta. Nakon punjenja epruveta, na vrh otvora utisnula se vata i epruveta se poklopila čepom, kako ne bi došlo do zračne kontaminacije. Tako pripremljene epruvete odnesene su na sterilizaciju u autoklav na temperaturu od 121°C. Autoklav je uređaj koji za sterilizaciju koristi vruću paru i povišeni tlak. Ako se ispravno odredi trajanje sterilizacije, vruća stlačena para može uništiti sve mikroorganizme. Prednosti sterilizacije autoklavom su brzina, jednostavnost i dodatno uništavanje virusnih čestica, dok su nedostaci mogućnost promjene pH podloge, katkada i razdvajanje sastojaka u podlozi, ili razgradnja nekih od sastavnih tvari čime one gube svoju djelotvornost (Jelaska, 1994). Završetkom sterilizacije i ukrućivanja, hranjive podloge korištene su za sadnju ili presađivanje eksplantata vinove loze u sterilnim uvjetima.

U navedenom istraživanju korištena su tri medija ili hranjive podloge za rast biljaka u kontroliranim uvjetima. U Laboratoriju za kulturu tkiva Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo, podloga koja se koristi kao standardna je MS podloga bez dodatka hormona, (Murashige i Skoog, 1962.), koja je ujedno i najčešće korištena podloga za rast biljaka u *in vitro* uvjetima. Prva podloga koja je korištena za inicijaciju rasta biljaka, tzv. početna kultura na koju su inokulirani nodijski odsječki je MS podloga s dodatkom 0,5 mg/L BAP-a (benziladeninpurina). Na njoj su nodijski isječki bili 4 tjedna, nakon kojih je napravljeno prvo mjerenje. Nakon toga, presađeni su na standardnu MS podlogu na kojoj su bili još narednih 4 tjedna, odnosno nakon 8 tjedana u kulturi su mjereni 2. put. CP odnosno Chée i Pool hranjiva podloga, napravljena je za brzu multiplikaciju vinove loze, pa je u ovom istraživanju korištena za usporedbu brzine rasta nodijskih odsječaka u *in vitro* uvjetima između sorata.



Slika 3.2.1. Pripremljena i pipetom jednolično raspoređena MS podloga (bez dodatka hormona)

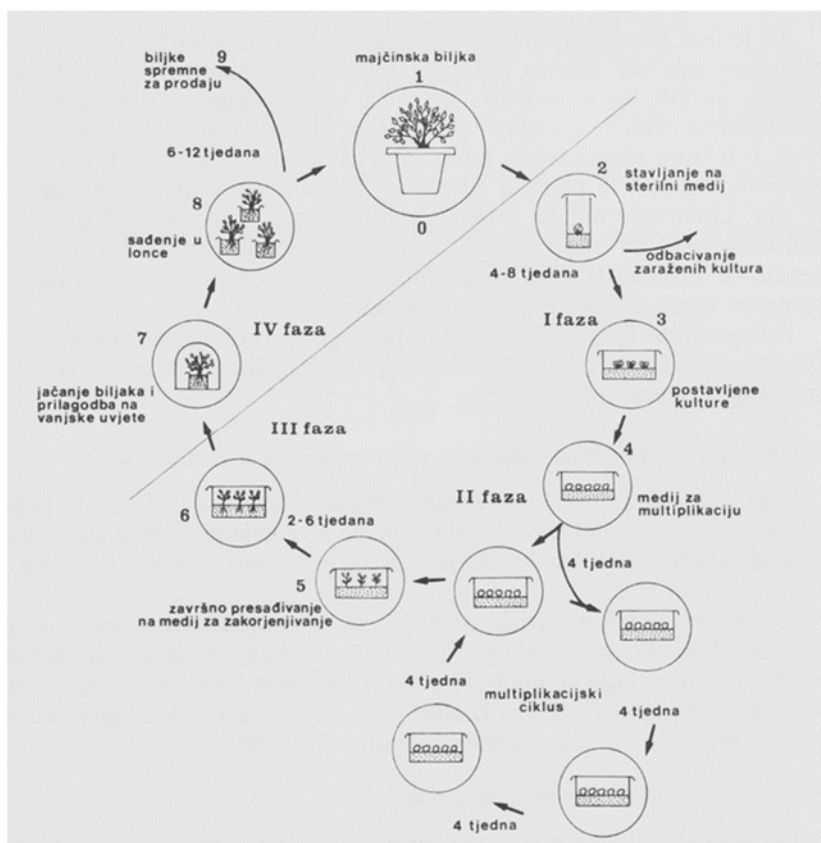
### 3.3. Uzorkovanje i sterilizacija biljnog materijala

Svi postupci u kulturi *in vitro* moraju se odvijati u strogo sterilnim uvjetima. Mikroorganizmi poput virusa, bakterija, kvasaca i gljivica onečišćuju kulture biljnog tkiva. Iz tog razloga tkivo vinove loze, od kojeg će biti uzet eksplantat, uranja se u 70 %-tni etanol na 30 sekundi (prema Jelaski (1994) 96 %-tni alkohol je prejak i izaziva jaku dehidraciju tkiva), zatim u otopinu 1% NaClO (natrij-hipoklorit) koja sadrži 0,2 % polisorbata 80 ili u Ca(ClO)<sub>2</sub> (kalcij-hipoklorit). Nakon toga materijal se izlaže vibracijama i

centrifugalnoj sili u roto-vibracijskom uređaju na 50 okretaja u minuti (rpm), na 20 minuta. Sterilizacija se također može izvršiti temeljnim pranjem eksplantata sapunom i steriliziranom vodom, nakon čega se uranja u 0.1 %-tnu otopinu živinog klorida na 10 minuta, a potom slijedi ispiranje sterilnom vodom 4-5 puta i brisanje (Marković i Preiner, 2011).

Sterilizirani i vodom isprani eksplantati polažu se na slojeve sterilnog filtarskog papira ili na staklenu površinu sterilnim pincetama (Marković i Preiner, 2011). Sterilizacija pinceta, skalpela i ostalog pribora korištenog prilikom prenošenja eksplantata na hranjivu podlogu odvija se paljenjem. Sav alat uranja se u 96 %-tni alkohol na nekoliko sekundi i potom spaljuje na plinskom ili alkoholnom plameniku (Jelaska, 1994). Kada sav alkohol ispari, alat se ostavlja da se ohladi otprilike 30 minuta, nakon čega je spreman za korištenje. Za kalibriranje veličine i volumena tkiva upotrebljava se milimetarski papir, sterilni bušači čepova ili se tkivo važe. Cijeli proces sterilizacije i kasnije presađivanja odvija se u laminaru, odnosno komori s protokom sterilnog zraka koja je izrađena tako da se zrak usisava s jedne strane i propuhuje kroz posebne filtere koji ne propuštaju sitne čestice veličine mikroorganizama. Nakon toga, čist i sterilan zrak ispuhuje se u radni dio komore u kojoj se obavlja rad. Time je osiguran sterilan prostor u laminaru, a budući da zrak za vrijeme rada neprekidno lagano struji iz unutrašnjosti komore prema van, radni prostor je zaštićen od ulaska nepoželjnih čestica poput prašine i bakterija, iz okoliša (Jelaska, 1994).

Sam postupak mikrorazmnožavanja može se raščlaniti u nekoliko faza, što u svojim radovima navode Murashige (1974), kao i Debergh i Maene (1981). Nulta faza obuhvaća sve postupke prije početka kulture *in vitro*, drugim riječima, pravilan postupak s početnim materijalom i njegovo čuvanje u zdravom stanju (čiste posude, zalijevanje samo vodom, dobra zdravstvena zaštita itd.). Važnost nulte faze očituje se u činjenici da će izvorno biljno tkivo, od kojega će biti uzeti eksplantati, zajedno sa postupkom kloniranja koji će se primijeniti imati kritičnu ulogu u uspješnom postavljanju mikrokloniranja. Slijedi I. faza, uvođenje u kulturu, koja se odnosi na sterilnu izolaciju eksplantata (dijela biljke koji se uzima za daljnju reprodukciju). Sljedeća, II. faza, označava umnožavanje ili reprodukciju te joj je glavna svrha postići razmnožavanje bez gubitka genetičke stabilnosti. III. faza ili priprema kultura za prijenos dobivenih biljčica u tlo uključuje pripremu izdanaka ili biljaka, dobivenih u II. fazi, za prijenos u tlo. Može uključivati: zaustavljanje stvaranja aksilarnih izdanaka ili početak izduživanja izdanaka, kao i poticanje stvaranja korijena. Posljednja, IV. faza, zapravo je sam prijenos biljaka iz epruvete u tlo te njihovo prilagođavanje na rast u vanjskim uvjetima (Jelaska, 1994).



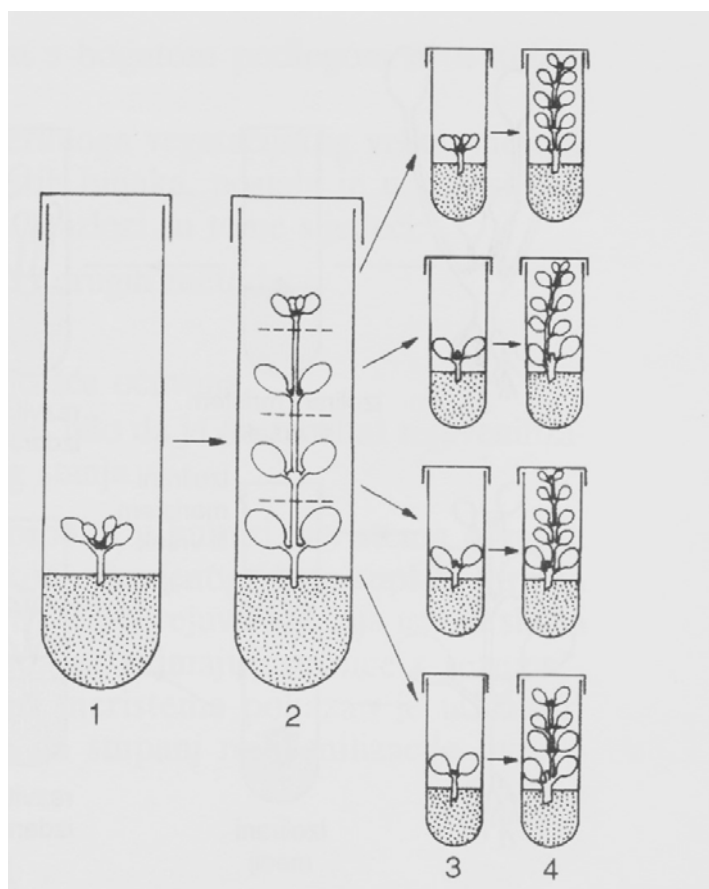
Slika 3.3.1. Faze vegetativnog razmnožavanja in vitro i vrijeme trajanja pojedine faze  
Izvor: Kultura biljnih stanica i tkiva, S. Jelaska (1994.)

Kultura nodijskog odsječka, danas je jedna od najvažnijih metoda mikrorazmnožavanja *in vitro*. Naziva se još i „kultura mikroreznica“ jer je slična klasičnom razmnožavanju reznicama. Ova metoda podrazumijeva izolaciju pupa zajedno s komadićem pripadajuće stabljike, kako je vidljivo na Slici 3.3.2., radi poticanja razvitka izdanka. Ovo je ujedno i najprirodnija metoda vegetativnog razmnožavanja biljaka *in vitro* jer se primjenjuje i *in vivo*. Svaki pup u pazušcu lista, a ujedno i vršni, mogu se odvojiti od biljke i kultivirati na hranjivoj podlozi radi poticanja njegova razvoja u izdanak. Pupovi u pazušcima listova novoformirane stabljike, ponovno mogu biti subkultivirani te se taj postupak može kontinuirano ponavljati. Kada se dobije dovoljno izdanaka, oni moraju biti zakorijenjeni i potom preneseni u tlo. Tehnika izdvajanja pupova i vegetacijskog vrška, u pravilu, ne traži dodavanje citokinina za prekid apikalne dominacije (kočenja rasta postranih pupova djelovanjem vršnog pupa stabljike). Također valja napomenuti da se, kako bi se smanjila mogućnost infekcije, preporučuje izolacija zatvorenih pupova. Stopa razmnožavanja ovisi o broju raspoloživih pupova. Metoda mikrorazmnožavanja pojedinačnim nodijskim segmentima (odsječcima) pokazala se kao najuspješnija metoda za primjenu na potomcima divlje loze (*Vitis rupestris*) (Jelaska, 1994). Kako je vinova loza drvenasta biljka umjerenih područja, važno je obratiti pozornost na pojavu dormantnosti, nakon izolacije *in vitro*. Neki od postupaka za ukidanje te dormantnosti su: izlaganje niskoj

temperaturi 0-5°C, zadovoljenje fotoperiodizma izlaganjem biljke 16-satnom dnevnom svjetlu i, ako je potrebno, tretiranje citokininima i giberelinima (Marković i Preiner, 2011).



Slika 3.3.2. Eksplantat pojedinačnog nodija sa jednim pupom i dijelom stabljike  
Izvor: Rapid micro-propagation of grapevine (cv. Agiorgitiko) through lateral bud development, E.Korkas i G. Banilas (2007.)



Slika 3.3.3. Shematski prikaz vegetativnog razmnožavanja metodom pojedinačnih nodijskih odsječaka  
Izvor: Kultura biljnih stanica i tkiva; S. Jelaska (1994.)

### 3.4. Inokulacija, subkultivacija i uvjeti za uzgoj kultura *in vitro*

Prenošenje eksplantata na hranjivu podlogu zove se inokulacija, a obavlja se pomoću ušice mikrobiološke igle, odnosno „eze“. Eksplantati zadržavaju svoju polarnost, što znači da gornja strana eksplantata najčešće mora biti i gornja strana u kulturi (Marković i Preiner, 2011). Veličina eksplantata ili presadnice važna je za rast tkiva zbog količine rezervnih supstanci ili rezane površine (stvaranje etilena). Pri rezanju eksplantata stvara se ranjena površina koja može izrazito utjecati na ponašanje eksplantata u uvjetima *in vitro*. Što je ranjena površina veća, to je bolje primanje hrane iz podloge, a istovremeno i mogućnost stvaranja etilena, koji ima važnu ulogu u regeneraciji, diobi stanica i morfologiji razvijenih organa *in vitro* (Jelaska, 1994). Izolirani eksplantati posađeni su na B-inicijalni medij (MS hranjiva podloga s dodatkom BAP hormona), kako bi navedeni hormon potaknuo rast početne kulture kao i rast nadzemnih i podzemnih dijelova biljke. Najpogodnija temperatura za rast i razvitak *in vitro* obično je 3 do 4°C viša nego *in vivo*. Budući da je temperatura u epruveti za 3 do 4°C viša od one u klima-komori, važno je voditi računa o toplinskom djelovanju zračenja i temperature u klima-komori kako bi se osigurali najpogodniji uvjeti za rast biljaka *in vitro*. Još uvijek se malo zna o utjecaju vlažnosti na rast kultura. Razlog tome je gotovo 100 %-tna relativna vlažnost u epruvetama (što pokazuje i kondenzacija vode na unutrašnjosti epruvete), pa vlažnost klima-komore može utjecati samo na gubitak vode iz epruveta (Jelaska, 1994). Raspoloživost vode za kulturu regulirana je koncentracijom agara. Kisik je važan za rast stanica i tkiva, a prozračivanje podloge postiže se trešnjom tekućih podloga i zatvaranjem posuda s kulturom na čvrstim podlogama, metalnim ili plastičnim poklopcima. Koncentracija ugljikovog dioksida u dobro zatvorenim posudama, često je dovoljna jer je podloga sa saharozom povoljan izvor ugljika. No, postoje i slučajevi gdje se ugljikov dioksid može dodati i u klima-komoru (Marković i Preiner, 2011). Nakon unosa biljnog materijala, inokulanti se održavaju u komorama rasta u kontroliranim uvjetima temperature (u rasponu od 24°C do 28°C), vlage zraka (55% do 60%) i uz potreban fotoperiod (12-satni ili 16-satni). Također se za spektralni sastav koriste bijele hladne fluorescentne lampe (Marković i Preiner, 2011).

Subkultivacija ili presađivanje je prenošenje kultura (presadnica, eksplantata) na drugu podlogu u svrhu daljnjeg razmnožavanja, zbog istrošenosti podloge, sušenja podloge (posebno ako su u njoj prisutne velike koncentracije soli i šećera), ispunjavanja prostora epruvete, promijene boje podloge i drugih razloga. Prije svega, epruveta se izvana sterilizira vatom ili papirom natopljenim 96 %-tnim etanolom. Zatim se, u laminaru, skida aluminijska folija (plastični ili neki drugi film) i nakon toga vadi se pamučni čep, odnosno vata iz epruvete. Eksplantat se vadi iz epruvete i stavlja u sterilnu Petrijevu zdjelicu ili na sterilni filtarski papir. Nakon što je tkivo potpuno izrezano i presadnica oblikovana, ona se prenosi na svježju hranjivu podlogu. Prilikom presađivanja, odabire se



samo ujednačeno, zdravo i vijabilno tkivo (Jelaska, 1994). Tijekom boravka eksplantata u komori rasta praćen je njihov rast i razvoj.

Nakon otprilike mjesec dana zabilježeno je i prvo mjerenje biljaka prilikom kojeg se ravnalom mjerila visina stabljike od baze do vrha te broj nodija vidljivih na samoj stabljici. Također je, kod prve skupine genotipova, GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, zabilježen i broj razvijenih stabljika, budući da se tijekom mjerenja primijetio povećan broj stabljika u odnosu na početak istraživanja. Drugo mjerenje provedeno je, ponovno, nakon mjesec dana, a prikupljeni statistički podaci provedeni su kroz ANOVA i Duncan test. ANOVA (analiza varijance) predstavlja skup statističkih modela i njihovih povezanih postupaka procjene koji se koriste za analizu razlika između srednjih vrijednosti (Wikipedija, 2024). Duncan test omogućuje mjerenje specifičnih razlika između parova srednjih vrijednosti (Statistics How To, 2024). Podaci su obrađeni u statističkom softveru XLSTAT (Lumivero 2024, SAD).

## 4. Rezultati

Radi usporedbe medija i genotipova na pojedinoj hranjivoj podlozi, provedeno je mjerenje genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay na podlogama MS i CP. Mjerenje je napravljeno nakon 4 i nakon 8 tjedana kako bi se prikupilo što više podataka za usporedbu. Osim navedenih genotipova, u kulturu tkiva, uneseni su i genotipovi Grk, Graševina i Pošip na MS hranjivu podlogu te su kod njih također, radi usporedbe, napravljena dva mjerenja. Radi lakšeg snalaženja, genotipovi GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, predstavljaju prvu skupinu genotipova, a Grk, Pošip i Graševina drugu skupinu. Tijekom istraživanja i prilikom provođenja mjerenja, praćena su dva parametra: visina mikrozreznice i broj nodija na stabljici, a kod prve skupine genotipova također je praćen i broj razvijenih stabljika.



Slika 4.1. Posljednje mjerenje parametara kod prve skupine genotipova (5.6.2024.)



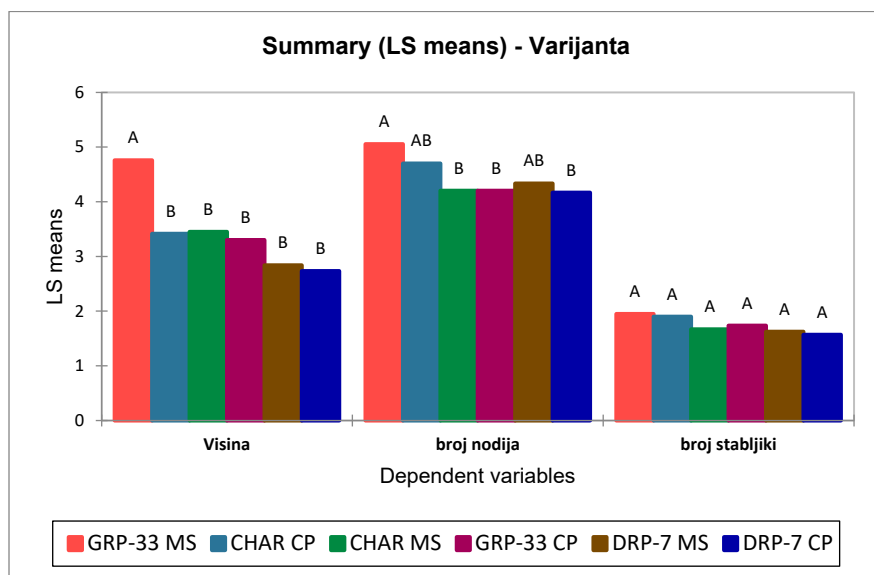
Slika 4.2. Posljednje mjerenje parametara druge skupine genotipova (17.6.2024.)

U Tablici 4.1. prikazani podaci odnose se na prvu skupinu genotipova, koji su rasli na MS i CP hranjivoj podlozi. Vidljivo je da su sorte signifikantno različite s obzirom na visinu mikroreznice, posebno GRP-33 uzgajan na MS podlozi, koji se izdvaja po najvišim izmjerenim vrijednostima visine mikroreznice. Osvrćući se na vrijednosti drugog parametra, odnosno broj nodija, u ovoj skupini genotipova nema signifikantnih razlika, no GRP-33 na MS podlozi, ponovno se izdvaja zbog značajno viših vrijednosti. Uz visinu i broj nodija, kod genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, praćen je i broj stabljika koje su se razvile nakon inokulacije, te je temeljem rezultata utvrđeno da navedeni genotipovi, uz ponovno nešto više vrijednosti genotipa GRP-33 na MS podlozi, nisu signifikantno različiti, što je i vidljivo u tablici.

Tablica 4.1. Analiza i usporedba srednjih vrijednosti parametara kod genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, na MS i CP hranjivim podlogama

Category	Visina	broj nodija	broj stabljiki
GRP-33 MS	4,758 a	5,053 a	1,947 a
CHAR CP	3,413 b	4,700 ab	1,900 a
CHAR MS	3,450 b	4,200 b	1,667 a
GRP-33 CP	3,300 b	4,200 b	1,733 a
DRP-7 MS	2,838 b	4,333 ab	1,625 a
DRP-7 CP	2,733 b	4,167 b	1,567 a
Pr > F(Model)	<0,0001	0,082	0,332
Significant	Yes	No	No
Pr > F(Varijanta)	<0,0001	0,082	0,332
Significant	Yes	No	No

Podaci iz Tablice 4.1. prikazani su i Grafom 4.1. na kojem je jasno vidljivo odstupanje genotipa GRP-33 u parametru visine mikroreznice, kao i nepostojanje signifikantnih razlika u preostala dva parametra.

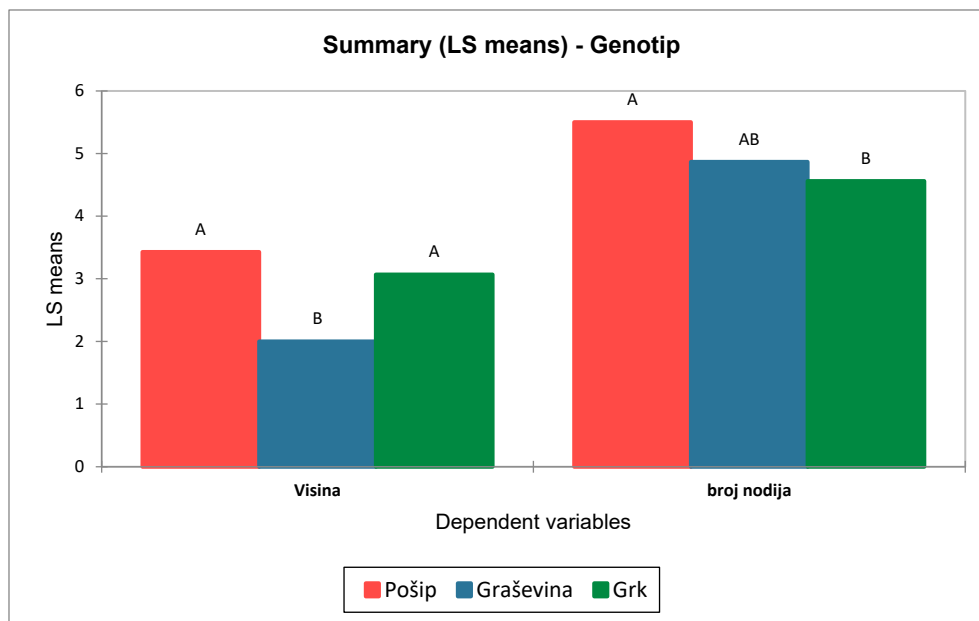


Graf 4.1. Usporedba srednje vrijednosti visine, broja nodija i broja stabljika kod genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, na MS i CP hranjivim podlogama

U Tablici 4.2. obrađeni su podaci koji se odnose na drugu skupinu genotipova, odnosno Grk, Pošip i Graševinu. Parametar visine je signifikantno svojstvo, dok parametar broja nodija nije signifikantno značajan. Usporedbom srednjih vrijednosti između sorata u visini mikroreznice, utvrđene su signifikantne razlike između Graševine, u odnosu na ostale dvije sorte, te se ona ističe po nešto nižim vrijednostima. U kategoriji broja nodija, analizom varijance i Duncan testom, utvrđeno je da se sorte Grk i Pošip značajno međusobno razlikuju, dok se niti jedna od njih ne razlikuje značajno sa sortom Graševina, a rezultati analize prikazani su i grafički Grafom 4.2., ispod tablice.

Tablica 4.2. Analiza i usporedba srednjih vrijednosti parametara kod sorti Grk, Pošip i Graševina na MS hranjivoj podlozi

Category	Visina	broj nodija
Pošip	3,427 a	5,500 a
Graševina	2,000 b	4,867 ab
Grk	3,068 a	4,560 b
Pr > F(Model)	0,000	0,077
Significant	Yes	No
Pr > F(Genotip)	0,000	0,077
Significant	Yes	No



Graf 4.2. Usporedba srednje vrijednosti visine i broja nodija kod sorti Grk, Pošip i Graševina na MS hranjivoj podlozi

## 5. Zaključak

Uzgoj eksplantata biljaka *in vitro* na umjetnim hranjivim podlogama, dati će različite rezultate, s obzirom na sastav pojedine hranjive podloge. Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati utjecaj različitih hranjivih podloga na rast i razvoj mikroreznica nekoliko sorti vinove loze. Temeljem dobivenih rezultata i analizom podataka ustanovljeno je sljedeće:

- 1) U testiranju dvije hranjive podloge (MS i CP) na genotipovima GRP-33, DRP-7 i Chardonnay uočene su signifikantne razlike u visini mikroreznica između genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, gdje se GRP-33 uzgajan na MS hranjivoj podlozi, značajno izdvaja po najvišim vrijednostima u visini biljke, broju nodija i broju stabljika. Među navedenim genotipovima, u broju nodija i broju stabljika nisu utvrđene signifikantne razlike temeljem provedene analize.
- 2) U rastu mikroreznica sorata Graševina, Grk i Pošip na MS hranjivoj podlozi visina biljke je signifikantno svojstvo dok broj nodija nije signifikatno svojstvo. Usporedbom srednjih vrijednosti u visini biljke, Graševina se značajno razlikuje od sorata Grk i Pošip, dok se u broju nodija signifikantno razlikuju sorte Grk i Pošip.
- 3) Na temelju rasta mikroreznica u kulturi tkiva, može se zaključiti da je standardna MS hranjiva podloga pogodna za uvođenje, te održavanje početnih kultura u *in vitro* uvjetima za većinu sorata.

## 6. Popis literature

1. Banilas G., Korkas E. (2007). Rapid micro-propagation of grapevine (cv. Agiorgitiko) through lateral bud development. e-Journal of Science & Technology (e-JST).
2. Bouquet A., Torregrosa L. (2003). Micropropagation of the Grapevine (*Vitis* spp.)
3. Chee R., Pool R. M., Bucher D. (1984). A method for large scale in vitro propagation of *Vitis*. New York's Food and Life Sciences Bulletin. Number 109. ISSN 0362-0069.
4. Jelaska S. (1994). Kultura biljnih stanica i tkiva. Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu. Školska knjiga.
5. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I., Preiner D., Zdunić G., Bubola M., Stupić D., Andabaka Ž., Marković Z., Šimon S., Žulj Mihaljević M., Ilijaš I., Marković D. (2015). Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
6. Maletić E. (2022). Hrvatske sorte vinove loze. PowerPoint prezentacija.
7. Maletić E. (2022). Sorte vinove loze – svjetske sorte. PowerPoint prezentacija
8. Marković Z., Preiner D. (2011). Biotehnologija u vinogradarstvu. Pregledni rad. Glasnik zaštite bilja 1/2011.
9. Marković Z., Milković M., Karoglan Kontić J., Preiner D. (2021). Usporedba klasičnog i *in vitro* razmnožavanja vinove loze. Prethodno priopćenje. Glasnik zaštite bilja 5/2021.

## Internet izvori

1. Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju. Podaci iz Vinogradarskog registra za 2023. godinu.  
<https://www.apprrr.hr/registri/> (pristupljeno 15. travanj, 2024.)
2. Analysis of variance. Wikipedia.  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Analysis\\_of\\_variance](https://en.wikipedia.org/wiki/Analysis_of_variance) (pristupljeno 21. lipanj 2024.)
3. Duncan's Multiple Range Test (MRT). Statistics How To.  
<https://www.statisticshowto.com/duncans-multiple-range-test/> (pristupljeno 21. lipanj, 2024.)
4. XLSTAT (Lumivero 2024, SAD) Statistical Software for Excel.  
<https://www.xlstat.com/en/>



## Prilog 1. Popis kratica korištenih u tekstu

<b>MS</b>	Murashige i Skoog hranjiva podloga (medij)
<b>SSR markeri</b>	<i>Simple Sequence Repeat</i> markeri
<b>GRP</b>	šifra trsa nastalog križanjem sorti Grk i Panonija
<b>DRP</b>	šifra trsa nastalog križanjem sorti Dišeća ranina i Panonija
<b>HCl</b>	klorovodična kiselina
<b>NaOH</b>	natrijev hidroksid (natrijeva lužina)
<b>PPM</b>	<i>Plant Preservation Mixture</i>
<b>BAP</b>	benziladeninpurin
<b>NaClO</b>	natrijev hipoklorit
<b>Ca(ClO)<sub>2</sub></b>	kalcijev hipoklorit
<b>CP</b>	Chée i Pool hranjiva podloga (medij)
<b>ANOVA</b>	<i>Analysis of variance</i> (analiza varijance)

## Prilog 2. Popis tablica, grafova i slika korištenih u tekstu

### Tablice

Tablica 4.1. Analiza i usporedba srednjih vrijednosti parametara kod genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, na MS i CP hranjivim podlogama.....	17
Tablica 4.2. Analiza i usporedba srednjih vrijednosti parametara kod sorti Grk, Pošip i Graševina na MS hranjivoj podlozi.....	18

### Grafovi

Graf 4.1. Usporedba srednje vrijednosti visine, broja nodija i broja stabljika kod genotipova GRP-33, DRP-7 i Chardonnay, na MS i CP hranjivim podlogama.....	18
Graf 4.2. Usporedba srednje vrijednosti visine i broja nodija kod sorti Grk, Pošip i Graševina na MS hranjivoj podlozi.....	19

### Slike

Slika 1.1. Mikroreznice vinove loze in vitro (Laboratorij za kulturu tkiva).....	1
Slika 2.1. Posljedica napada filoksera na listu vinove loze; Izvor: <a href="https://ovinu.info/vitis-vinifera-kako-je-prezivjela-filokseru/#google_vignette">https://ovinu.info/vitis-vinifera-kako-je-prezivjela-filokseru/#google_vignette</a> (pristupljeno 10. lipanj, 2024.).....	3
Slika 2.2. Primjer ispravno inokuliranog i razvijenog eksplantata vinove loze.....	5
Slika 3.1.1. Sorta Chardonnay u vinogradu Trentino; Izvor: <a href="https://www.shutterstock.com/search/chardonnay-grapes">https://www.shutterstock.com/search/chardonnay-grapes</a> (pristupljeno 10. lipanj, 2024.)....	6
Slika 3.1.2. Sorta Graševina; Izvor: <a href="https://www.nacional.hr/en-primeur-2018-kusanje-mladih-grasevina-posipa-i-drugih-sorti/">https://www.nacional.hr/en-primeur-2018-kusanje-mladih-grasevina-posipa-i-drugih-sorti/</a> (pristupljeno 10. lipanj, 2024.).....	7
Slika 3.1.3. Sorta Grk; Izvor: <a href="https://vinopedia.hr/grk-2/">https://vinopedia.hr/grk-2/</a> (pristupljeno 10. lipanj, 2024.).....	7
Slika 3.1.4. Sorta Pošip; Izvor: <a href="https://fabular.agency/hr/work/merga-victa-2/">https://fabular.agency/hr/work/merga-victa-2/</a> (pristupljeno 10. lipanj, 2024.).....	8
Slika 3.2.1. Pripremljena i pipetom jednolično raspoređena MS hranjiva podloga (bez dodataka hormona).....	10
Slika 3.3.1. Faze vegetativnog razmnožavanja in vitro i vrijeme trajanja pojedine faze; Izvor: <i>Kultura biljnih stanica i tkiva</i> , S. Jelaska (1994.).....	12
Slika 3.3.2. Eksplantat pojedinačnog nodija sa jednim pupom i dijelom stabljike; Izvor: <i>Rapid micro-propagation of grapevine (cv. Agiorgitiko) through lateral bud development</i> , E.Korkas i G. Banilas (2007.).....	13

Slika 3.3.3. Shematski prikaz vegetativnog razmnožavanja metodom pojedinačnih nodijskih odsječaka; Izvor: Kultura biljnih stanica i tkiva; S. Jelaska (1994.).....	13
Slika 4.1. Posljednje mjerenje parametara kod prve skupine genotipova (5.6.2024.).....	16
Slika 4.2. Posljednje mjerenje parametara druge skupine genotipova (17.6.2024.).....	16

## Životopis

### Osobni podaci:

Ime i prezime: Anđa Madžar  
Datum i mjesto rođenja: 03.11.2001., Zagreb  
Država: Hrvatska  
Adresa: Vrinice 101E, 10 040 Dubrava  
Telefon: 095 / 883 - 7594  
E-mail: amadzar3@gmail.com

### Obrazovanje:

Institucija: Osnovna škola Sesevetska Sopnica  
Vrijeme: 2008.-2016.  
Institucija: Opća gimnazija Sesvete  
Vrijeme: 2016.-2020.  
Institucija: Agronomski fakultet Zagreb  
Smjer: Hortikultura (Prije-diplomski studij)  
Vrijeme: 2021.-2024.

### Dodatna znanja:

Strani jezici: Engleski jezik (B2)  
Informatičko znanje: Osnovno poznavanje Microsoft Office programa