

## Ydinkasvipankki kasvigeenivaraohjelman osana

Marjatta Uosukainen<sup>1)</sup>, Jaana Laamanen<sup>1)</sup> ja Anna Nukari<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> MTT Kasvintuotannon tutkimus, Antinniementie 1, 41330 Vihtavuori, etunim.sukunimi@mtt.fi

### Tiivistelmä

Maa- ja metsätalousministeriön varmennettua lisäys- ja taimituotantoa koskeva asetus uudistettiin vuonna 2006. Tarkoituksena oli päivittää varmennetun taimituotannon ohjeet Suomessa ottaen huomioon nykyaikaiset kasvintuhoojien puhdistus- ja testausmenetelmät, kasvien muuttuneet lisäys- ja ylläpitomenetelmät sekä parantaa kustannustehokkuutta luopumalla tarpeettomista menettelyistä lisäämättä aineiston uudelleen saastunnan vaaraa. Työn ensisijainen tavoite oli kuitenkin edistää kasvinsuojelustrategian toteutumista.

Merkittävin muutos aikaisempaan verrattuna oli kryosäilytyksen (kylmäsäilytys nestemäisessä työssä -196°C) hyväksyminen varmennetun taimituotannon lisäysaineiston ylläpito- ja puhdistusmenetelmäksi. Ydinkasviaineistoa voidaan uuden asetuksen mukaan käyttää varmennettuna lisäysaineistona ilman aikarajoitusta niin kauan kun sitä ylläpidetään kryosäilytyksessä.

MTT ylläpitää Laukaassa ydinkasvien ja ydinkasvievhodokkaiden kokoelmaa, joka kattaa lähes 300 suomalaista tai Suomessa menestyväksi todettua marja-, hedelmä- tai viherrakentamisen kasvilajiketta. Ydinkasvit ovat kasvintuhoojista puhtaaksi testattuja ja geneettisiltä ominaisuuksiltaan tunnettuja puutarhakasveja. Perinnöllisiltä ominaisuuksiltaan ja sisäiseltä laadultaan ne ovat tällä hetkellä viljelyssä olevaa arvokkainta kasviaineistoa. Suuri osa ydinkasvihuollossa olevista lajikkeista on arvostettu myös Suomen kansallisessa kasvigeenivaraohjelmassa säilytettäväksi kasvikannoiksi. Täten ydinkasvipankki on myös osa kansallista puutarhakasvien geenivarantoa. Kasvintuhoojista vapaaksi puhdistettuna ja testattuna ydinkasviaineisto täyttää geenivarasäilytykseen valittujen kasvien kansainväliset laadullisetkin normit.

Kansantaloudellisesti on järkevää yhdistää geenivarojen säilytys ja ydinkasvipankki. Molemmissa tehtävissä on vaatimuksena aineistoa koskevien tietojen huolellinen tallentaminen tietokantoihin. Myös kasviaineiston perinnöllisten ominaisuuksien arvioinnissa, ylläpidossa ja pitkäaikaissäilytyksessä käytetään samoja menetelmiä, kuten aitoustestaukset, mikrolisäys ja kryosäilytys. Ydinkasvien puhdistusohjelmia ja varmennetussa taimituotannossa eri kasvilajeille annettuja laatuvaatimuksia on syytä soveltaa myös geenivaraohjelman säilytettävälle kasvikannoille.

Kasvilajikkeiden elinkierto noudattaa vakiintunutta kaavaa: jalostajalta ydinkasvihuoltoon, aktiiviseen taimituotantoon, kaupallisen kiinnostavuuden väheneminen ja lopulta siirto säilytettäväksi geenivaraksi. Geenivaraksi siirretty kasvi on arvokas uusien lajikkeiden jalostuksessa, mutta ajoittain vanhat viljelykasvit palaavat takaisin kaupalliseen tuotantoon. Mikäli kasvi on kryosäilytetty ja siirretty geenivarasäilytykseen ydinkasviluokiteltuna, se voidaan ottaa takaisin varmennettuun taimituotantoon ilman uudelleentestausta.

Ydinkasvipankeissa kasvit ovat aktiivisessa käytössä, mutta geenivarasäilytyksessä suurena vaarana on kokoelmien museoituminen. Aktiivisesti käytetyissä kokoelmissa aineistojen hallinnassa tarvittavia tietokantoja ja menetelmiä päivitetään jatkuvasti ja kokoelmien ylläpidossa tarvittava osaaminen on ajan tasalla. Kokoelmien passiivinen ylläpito saattaa pahimmillaan vaarantaa jopa kokoelmien säilymisen päivitysten laiminlyöntien ja osaamisen katoamisen seurauksena.

Yhdistämällä aktiiviset ja passiiviset kokoelmien osat, geenivarat ovat ylläpidossa, mutta aineiston luokitus ja käyttötapa vain muutetaan paperilla tarpeen mukaan. Uusista tekniikoista etenkin kryosäilytyksen hyödyntäminen sekä varmennetun taimituotannon ydinkasvien ylläpidossa ja geenivarojen pitkäaikaissäilytyksessä on mahdollistanut erittäin kustannustehokkaan toimintatavan. Tästä syystä on taloudellista yhdistää puutarhakasvien pitkäaikainen geenivarasäilytys ja varmennettu lisäysaineistotuotanto.

### Asiasanat

Asetus, geenivarat, mansikka, puutarhakasvit, vadelma, valiotaimi, viherrakentamisen kasvit, ydinkasvit

### Johdanto

Varmennetun taimituotannon periaatteet luotiin Euroopassa ja Iso-Britanniassa torjumaan virustautien aiheuttamia vakavia satovähennyksiä sekä estämään sienitautien ja ankerointien leviämistä (Harper ym.

1986). Mansikka oli ensimmäisiä varmennettuun taimituotantoon otettuja puutarhakasvilajikkeita (Boxus & Larvor 1987). Euroopan kasvinsuojelun yhteistyöstä vastaava järjestö, European Plant Protection Organisation (EPPO) on laatinut suosituksia, joita on noudatettu varmennetun taimituotannon kehittämisessä. Varmennetun taimituotannon lainsäätö, tuotannon valvonta ja varmentaminen on valtion viranomaisten tehtävä.

Tanska oli Skandinaviassa ensimmäinen maa, joka alkoi soveltaa varmennettua tuotantojärjestelmää puutarhakasvien taimituotannossa (Thomsen 1987). Tanskalaisten laatimat ohjeistukset olivat mallina myös Norjassa, Suomessa ja Ruotsissa, kun kasvinsuojeluviranomaiset sopivat keskenään yhteispohjoismaiset menettelyohjeet varmennetulle taimituotannolle vuonna 1990 ja niihin laajennusosan vuonna 1992 (Pohjoismaainen ministerineuvosto 1990, 1992).

Menettelyohjeita laadittaessa perusolettamuksena oli, että ydinkasviaineistot säilytettäisiin ja valiotaimet tuotettaisiin avomaalla, missä lisäysaineiston uudelleensaastumisriski oli korkea. Tästä syystä ydinkasviaineiston testausta ja uusimista koskevat säännöt olivat tiukat. Vaikka *in vitro* menettelyä alettiin soveltaa lisäysaineistojen tuotannossa varsin aikaisessa vaiheessa (Boxus & Larvor 1987), säännöt säilyivät muuttumattomina. Esimerkiksi mansikan ydinkasviaineistot tuli uusida ja uudelleen testata joka neljäs vuosi, vadelmat ja herukat joka kahdeksas vuosi. (Plantedirektorate 1999, Norwegian agricultural inspection service 2001, Statens jordbruksverk 2004, Maa- ja metsätalousministeriö 2003). Tämän seurauksena ydinkasvien ja valiotaimien tuotanto- ja ylläpitokustannukset muodostuivat korkeiksi.

Suomen ydinkasvipankki perustettiin vuonna 1976. Maa- ja metsätalousministeriö (MMM) määräsi silloisen Maatalouden tutkimuskeskuksen (MTTK, nykyinen Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus MTT) vastaamaan puutarhakasvien tauti- ja tuholaisvapaan ja geneettisesti aidoksi todetun ydinkasviaineiston (PDG) ylläpidosta ja valiotaimiluokan lisäysaineiston tuottamisesta taimistoille. Vuosina 1976-2003 varmennettu lisäysaineiston ylläpito ja taimituotanto kattoi vain tärkeimmät marjakasvit, mansikan, vadelman, herukat ja karviaiset (Uosukainen & Kurppa 1988). Vuonna 2003 MMM antoi varmennettua taimituotantoa koskevan asetuksen, jossa soveltamisalaksi määrättiin kaikki marja- ja hedelmäkasvit sekä kaksi- ja monivuotiset koristekasvit (Maa- ja metsätalousministeriö 2003). Tämä päätös moninkertaisti ydinkasveina säilytettävien kasvien lukumäärän. Korkeiden ylläpitokustannusten takia oli pian ilmeistä, että asetusta oli käytännössä mahdotonta toteuttaa. Tästä syystä vuonna 2004 MMM antoi MTT:lle toimeksiannon laatia ehdotus varmennetussa taimituotannossa noudatettavien menettelyjen uusimiseksi. Yhteispohjoismaisten sääntöjen laatimisen jälkeen kasvien tautipuhdistus ja testausmenetelmät olivat kehittyneet ja nykyaikaisia menetelmiä hyödynnettiin aineistojen ylläpidossa ja lisäyksessä. Sääntöjen uudistamisessa tavoitteena oli alentaa kasvikohtaisia kustannuksia ja parantaa toiminnan kustannustehokkuutta kuitenkin siten, että kasvien uudelleensaastunnon riski ei lisääntyisi. Kasvinsuojelustrategian toteutuminen tuli kuitenkin säilyttää ensisijaisena tavoitteena.

## Aineisto ja menetelmät

Työ käynnistettiin suorittamalla kasvintuhoojien tartuntariskin arviointi kullekin ydinkasvihuollossa olevalle kasvilajille. Riskiarviointi pohjautui ydinkasvihuollossa tehtyihin havaintoihin ja kasvinsuojeluviranomaisten raportteihin ydinkasvinhuollon ja valiotaimituotannon valvonnasta vuosina 1986-2005. Samalla arvioitiin uusien tekniikoiden, kuten kryosäilytys ja DNA-pohjainen aitoustestaus, tuomat hyödyt. Uusi tuotantomalli suunniteltiin MTT:ssä ja ehdotus uudeksi asetukseksi tehtiin MMM:lle.

## Tulokset ja tulosten tarkastelu

Periaatteessa ydinkasveja voidaan säilyttää kenttäkokeissa suojaetuilla alueilla. Uudelleensaastumisriskin minimoimiseksi MTT:n ydinkasvikokeelmassa Laukaassa on ylläpidossa käytetty yhdistettyä kasvihuone- ja *in vitro*-säilytysstrategiaa. Kokemukset yli 20 vuoden ajalta osoittivat, että valittu menettely oli tehokkaasti suojannut lisäysaineistoa tauti- ja tuholaisstartunnoilta etenkin *in vitro*-säilytyksen ansiosta (Taulukko 1). Mikrolisäystä on käytetty valiotaimituotannossa 1980-luvulta lähtien. Mahdollisen somaklonaalisen muuntelun estämiseksi lisäystuotannossa on perättäisten lisäyskertojen määrä rajoitettu etenkin marjakasveilla. Marjakasvien mikrolisätyksen valiotaimien aitous on määräysten mukaan tarkastettu kenttäkokein.

Erityisesti mansikan aitouskokeikäntö on ollut työläs ja kallis. Mikrolisätylle aineistolle tehtiin vuosittaiset aitouskokeet yli 20 vuoden ajan. Aineistolle tehtyjen morfologisten ja fenologisten

havaintojen perusteella ei lisätyssä aineistossa todettu näkyviä muutoksia. Yksi etiketöintivirheestä johtunut lajikesekeannus todettiin. Molekyylimarkkereihin pohjautuvaa DNA-testausta on myös kokeiltu mansikalla (Antonius-Klemola 1999). Tämä testaustapa oli huomattavasti tarkempi, nopeampi ja kustannustehokkaampi kuin kenttähavainnointi. Hintavertailu mansikan testauksissa osoitti, että kenttäkokeen kustannus oli kuusinkertainen DNA-testauksiin verrattuna. Lisäksi DNA-testin tulos saatiin viikon kuluessa, mutta kenttäkokeen tulosten saaminen kesti 18 kk (Taulukko2).

Taulukko 1. – Ydinkasvien uudelleensaastumisriski *in vitro* viljelmissä ja eristyskasvihuoneissa. Riskiarvio perustui suomalaisen ydinkasviaineiston ylläpidossa vuosina 1986-2005 tehtyihin havaintoihin. Riskin arvioinnissa käytetyt luokat olivat: 0 (ei riskiä), + (alhainen riski), ++ (riski todennäköinen), +++ (suuri riski).

Tuhoojan tyyppi	<i>In vitro</i> viljelmissä	Eristyskasvihuoneessa
Bakteerit	+	+
Sienet	+	+++
Fytoplasma	0	+
Virus	0	+
Kirvat		
Ankeroiset	0	++
Punkit	0	0
Ripsiäiset	+	+++
Muut hyönteiset	0	+++
	0	++

Taulukko 2. – DNA-testauksen ja kenttäkokeen kustannusten ja testauksen vaatiman ajan vertailut mansikkalajikkeen aitouden todentamisessa.

Testausmenetelmä	Hinta/lajike (€)	Testaukseen kuluva aika (kuukausia)
- DNA-testit	400	0,2
- Morfologinen testaus kentällä	2400	18,0

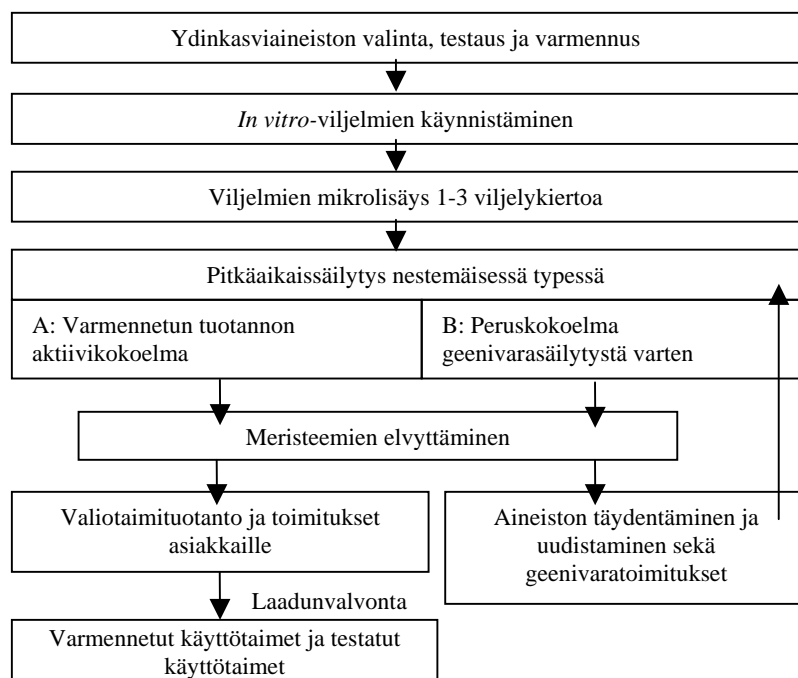
MTT:ssä käynnistyi yhteistyössä Helsingin yliopiston kanssa kryosäilytystutkimus MMM:n ja kasvigeenivaraohjelman rahoittamana vuonna 2004. Tutkimusprojektissa kartoitettiin kryomenetelmän hyödyntämismahdollisuutta vadelman viruspuhdistuksessa ja geenivarojen säilytyksessä (Wang ym. 2005, 2007). Samalla tutkittiin mahdollisuutta kryosäilyttää vadelman ydinkasviaineistoa. Nämä tutkimukset osoittivat, että vadelman ydinkasvihuoltoon oli mahdollista yksinkertaistaa sekä säilytyksen että valiotaimituotannon käynnistämistä koskevilta osin ja periaatetta voidaan soveltaa myös muilla ydinkasvihuollossa ja valiotaimituotannossa olevilla kasveilla (Kuva 1).

Uuden, vastahyväksytyn ydinkasviaineiston välitön siirtäminen kryosäilytykseen minimoi tauti- ja tuholaisaastunnan riskin ja geneettisen muuntelun todennäköisyyden. Jos kryosäilytettävän aktiivikokoelman näytemäärä arvioidaan niin suureksi, että se riittää lisäysaineistoksi lajikkeen elinkaareissa oletetun kaupallisen tuotannon ajaksi, ylläpidetyn aineiston etäisyys jalostajan alkuperäisestä yksilöstä säilyy sukupolvina mitattuna alkuperäisellä tasolla. Perinteisessä kenttäsäilytyksessä kasvullisesti lisätyillä lajikkeilla kloonattujen sukupolvien lukumäärä kasvaa koko ajan aineistoa uusittaessa. Tämä altistaa kloonatun lajikkeen asteittaisen muuntumisen ja lajikkeen sisäisten rinnakkaisten kloonien synnyn. Mitä kauemmin lajike on tuotannossa, sitä suuremmaksi kasvaa geneettisen muuntelun todennäköisyys ja lajikeaitouden varma tunnistus vaikeutuu. Näin tapahtuu etenkin lyhytikäisillä kasvilajeilla, joiden alkuperäistä siemenyksilöä ei pystytä säilyttämään.

Uusi strategia, johon oli sisällytetty kryosäilytys, suunniteltiin MTT:ssä. Ehdotettu menettely sisällytettiin MMM:n uuteen asetukseen /9/2006) varmennetusta lisäys- ja taimiaineistosta (Maa- ja metsätalousministeriö 2006). Uuden menettelytavan mukaan, lisäysaineisto siirretään kryosäilytykseen sen jälkeen, kun asetuksessa määrätty kasvintuhojien testausohjelma on suoritettu, tulos tarkistettu ja kasvinsuojeluviranomaiset ovat antaneet aineistolle ydinkasvihyväksynnän (Kuva. 1). Hyväksytyn periaatteen mukaan kasvien tauti- ja tuholaisaastuntariski on kryosäilytyksessä olematon ja aika

pysähtyy. Niin kauan kuin aineisto on kryptotankissa, sen testaustulos ei vanhene ja kryosäilytettyä ydinkasviaineistoa voidaan käyttää varmennetussa tuotannossa lisäyslähteenä ilman aikarajoitusta ja uusintatestauksia. *In vitro* viljelmät valiotaimituotantoa varten voidaan ottaa suoraan kryosäilytyksestä ilman tarvetta siirrostaa uusia meristeemejä kasvihuoneessa tai kentällä kasvatetuista emokasveista.

Kryotekniikka sisällytettiin myös Suomen kansallisen kasvi geenivaraohjelman säilytysmenetelmäksi puutarhakasveilla. (Aaltonen ym. 2006a, 2006b).



Kuva 1. Kryosäilytysmenetelmän soveltaminen suomalaisten puutarhakasvien ydinkasviaineiston ja geenivarojen pitkäaikaissäilytyksessä.

### Johtopäätökset

Kryotekniikan hyödyntäminen ja menetelmän yhdistäminen uusiin testimenetelmiin kasvintuhoojien testaamisessa ja DNA-tunnistusmenetelmiin aitouden valvonnassa parantavat turvallisuutta ydinkasvien säilyttämisessä verrattuna 1980-luvulla omaksuttuihin ja hyväksytyihin menettelyihin. Aineiston geneettinen pysyvyys varmennetaan minimoimalla peräkkäisten solukkoviljelykiertojen lukumäärä sekä ennen kryosäilytystä että sen jälkeen. Kryosäilytyksessä, etenkin nestetyypen kaasufaasissa, kasvien terveyden säilyminen on turvattu ja DNA-testein geneettisen aitouden valvonta on nopeampaa tarkempaa kuin kenttätestauksissa. Kloonikokoelmat kentällä ja uudelleentestausmenetelmät eivät enää ole tarpeellisia. Tämä alentaa ydinkasviaineiston ylläpitokustannuksia. Kryosäilytyksen ansiosta on mahdollista ylläpitää huomattavasti laajempaa varmennetun tuotannon lisäysaineistokokoelmaa kuin perinteisillä menetelmillä. Myös valiotaimituotannon käynnistämässä ja ylläpidossa voidaan saavuttaa suurempi joustavuus, koska tuotannon aikataulut eivät enää ole riippuvaisia vuodenaikasta. Kryotekniikkaa voidaan myös käyttää kryoterapiana ja se on nopea ja tehokas menetelmä, kun se yhdistetään meristeemiviljelyyn ja lämpökäsittelyyn viruspuhdistuksessa (Wang ym. 2003, 2007).

Kryosäilytysmenetelmän soveltaminen varmennetun taimituotannon ydinkasviuollossa yksinkertaistaa myös ydinkasvipankin ja geenipankin yhteistyötä. Ydinkasviuollossa olevan kasvin kiinnostavuuden vähetessä kaupallisessa taimituotannossa, lajike voidaan siirtää tuholaispuhdistettuna ja testattuna geenipankin ydinkokoelmaan. Kasvinkannan säilyttäessä kryptotankissa ydinkasvistatuksensa, se voidaan tarvittaessa aktivoida takaisin kaupalliseen tuotantoon ilman ylimääräisiä toimenpiteitä ja kustannuksia. Kasvintuhoojista vapaaksi puhdistettuna ja testattuna ydinkasviaineisto täyttää geenivarasäilytykseen valittujen kasvien kansainväliset laadullisetkin normit (Reed ym. 2004).

Geenivarasäilytyksessä kokoelmien museoituminen saattaa vaarantaa aineistojen säilymistä. Museoituneet kokoelmat koetaan kustannustehokkuutta tavoittelevassa hallintomallissa pelkästään menoerinä, joiden ylläpidossa tarvittaviin työkaluihin ja osaamiseen ei välttämättä resursoida. Aktiivisten

kokoelmien tietokantoja ja menetelmiä päivitetään jatkuvasti ja kokoelmien ylläpidossa tarvittava osaaminen kehittyy jatkuvasti. Kokoelmien museoituminen saattaa pahimmillaan vaarantaa jopa aineistojen säilymisen päivitysten laiminlyöntien ja osaamisen katoamisen seurauksena.

Yhdistämällä aktiiviset ja passiiviset kokoelmien osat huolehditaan myös harvoin tarvittavien aineistojen ylläpidosta. Kryosäilytyksen hyödyntäminen varmennetun taimituotannon ydinkasvien ylläpidossa, valiotaimituotannossa ja geenivarojen pitkäaikaissäilytyksessä on mahdollistanut Suomessa erittäin kustannustehokkaan toimintatavan.

## Kirjallisuus

- Aaltonen M., Antonius K., Hietaranta T., Karhu S., Kinnanen H., Kivijärvi P., Nukari A., Sahramaa M., Tahvonen R. & Uosukainen M.** 2006a. Suomen kansallisten kasvigeenivarojen pitkäaikaissäilytysohjeet. Hedelmä- ja marjakasvit. Maa- ja elintarviketalous/Kasvintuotanto 89. Jokioinen, 158 s. Verkkójulkaisu: (<http://www.mtt.fi/met/pdf/met89.pdf>).
- Aaltonen M., Antonius K., Juhanoja S., Järvelin V., Laamanen J., Nukari A., Peränen R., Sahramaa M., Uosukainen M. & Uusitalo M.** 2006b. Suomen kansallisten kasvigeenivarojen pitkäaikaissäilytysohjeet. Viherrakentamisen kasvit. Maa- ja elintarviketalous/Kasvintuotanto 91. Jokioinen, 253 s. Verkkójulkaisu: (<http://www.mtt.fi/met/pdf/met91.pdf>).
- Antonius-Klemola K.**, 1999 - Molecular markers in *Rubus* (Rosaceae) research and breeding. *J. Hort. Sci. & Biotechn.* 74: 149-160.
- Boxus P. & Larvor P.** 1987. *In vitro* culture of strawberry plants. Brussels, Luxemburg, Commission of the European communities, Biological sciences, report EUR 10871, 100 s.
- Harper P.C., Fordyce, W.A. & Rankin P.A.** 1986. Constraints upon the use of micropropagation for the Scottish strawberry certification scheme, ss. 205-210. Teoksessa: L.A. Whithers ja P.G. Alderson (toimittajat.) *Plant tissue culture and its agricultural applications*. London, Butterworths, 526 s.
- Maa- ja metsätalousministeriö** 2003. Maa- ja metsätalousministeriön asetus varmennetusta lisäys- ja taimiaineistosta. 24.3. 2003. Asetus Nro 18/2003. Dnro 1388/01/2003. Helsinki, 25 s.
- Maa- ja metsätalousministeriö** 2006. Maa- ja metsätalousministeriön asetus varmennetusta lisäys- ja taimiaineistosta. 14.2. 2006. Asetus Nro 9/2006. Dnro 3766/01/2005. Helsinki, 39 s.
- Norwegian Agricultural Inspection Service** 2001. Guidelines for the certified production of horticultural crops. December 2001. 17 s.
- Plantedirektoratet** 1999. Bekendtgørelse om planter. Bekendtgørelse nr. 576 af 7. juli 1999. Fødevareministeriet, Plantedir. J. no. 1998-0044-31. 68 s.
- Pohjoismainen ministerineuvosto (Nordisk ministerråd)** 1990. Faellesnordiske regler for produktionen af kerne, elite og certificerede planter. - Projekt: Samordnet plantecertificering, no. 65.57.07. Maatilahallitus. Helsinki, ss. 32.
- Pohjoismainen ministerineuvosto (Nordisk ministerråd)** 1992. Supplement til faellesnordiske regler for produktionen af kerne, elite og certificerede planter. Projekt: Samordnet plantecertificering, nro: 65.08.06. Helsinki, 8 s.
- Reed, B.M., Engelman, F., Dulloo, M.E. & Engels, J.M.M.** 2004. Technical guidelines for the management of field and *in vitro* germplasm collections. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 7. International Plant Genetic Resources Institute, Rome Italy. 106 s.
- Statens Jordbruksverk** 2004. Statens jordbruksverks föreskrifter om trädgårdsväxternas sundhet m.m. beslutade den 20 oktober 2004. SJVFS 2004:79. Saknr T 42. Jönköping, 36 s.
- Thomsen A.** 1987. Production of virus-free strawberry by meristem culture in Denmark, pp. 39-40. Teoksessa: P. Boxus ja P. Larvor (toimittajat.) *In vitro* culture of strawberry plants. Brussels, Luxemburg, Commission of the European communities, Biological sciences, report EUR 10871, 100 s.
- Uosukainen M. & Kurppa A.** 1988. Production of healthy planting material. *Ann. Aric. Fenniae* 27: 209-218. *Seria Phytopathologia* n:o 106.
- Wang Q., Mawassi M., Li P., Gafny R., Sela I. & Tanne E.** 2003. Elimination of grapevine virus A (GVA) by cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of *Vitis vinifera* L. *Plant Sci.* 165: 321-327.
- Wang Q., Laamanen J., Uosukainen M. & Valkonen J.P.T.** 2005. Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of raspberry (*Rubus idaeus* L.) by encapsulation-vitrification and encapsulation-dehydration. *Plant Cell Rep.* 24: 280-288.
- Wang Q., Laamanen J., Nukari, A., Uosukainen M. & Valkonen J.P.T.** 2007. Terveitä kasveja kryoterapialla. *Kasvinsuojelulehti* 40(3): 77-81.