

## KONSERVASI PAMELO [*Citrus maxima* (Burm.) Merr.] DENGAN PENURUNAN KONSENTRASI MEDIUM DAN SUKROSA

### Conservation of Pummelo [*Citrus maxima* (Burm.) Merr.] by Reducing the Medium and Sucrose Concentration

Kartika Ning Tyas<sup>1</sup>, Slamet Susanto<sup>2</sup>, Iswari S. Dewi<sup>3</sup> dan Nurul Khumaida<sup>2</sup>

<sup>1</sup>) Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI  
Jln. Ir. H. Juanda 13 Bogor 16003

<sup>2</sup>) Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB Jln Meranti,  
Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

<sup>3</sup>) Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian  
Jl. Tentara Pelajar No 3A, Cimanggu, Bogor 16111  
Email: kningtyas@gmail.com.

---

#### Abstract

Indonesia has high variety of pummelo [*Citrus maxima* (Burm.) Merr.], but only several cultivar are cultivated extensively. Others became vulnerable and the germplasm has to be conserved to prevent their extinction. One of the conservation method is *in vitro* conservation using a slow growth technique. Factorial experiment was used in designing the experiment, the first factor was MS medium concentration, i.e. 1/2MS and MS. The second factor was sucrose concentration, i.e. 0; 1; 2; and 3%. The results showed that low concentration of MS medium and sucrose reducing the leaf number and shoot length but increasing the root number and length. Based on inhibition of growth, the most reducing growth was planlet on MS without sucrose.

**Keywords :** *Citrus maxima*, *in vitro* conservation, pummelo, slow growth

## Abstrak

Indonesia memiliki plasma nutfah jeruk pamelo [*Citrus maxima* (Burm.) Merr.] yang beragam, tetapi hanya beberapa kultivar yang dibudidayakan secara luas. Kultivar yang tidak dibudidayakan dapat terancam kepunahan. Salah satu cara konservasi secara *in vitro* adalah menggunakan teknik pertumbuhan lambat. Dalam penelitian ini pertumbuhan lambat dilakukan dengan cara menurunkan konsentrasi media MS dan sukrosa. Tujuan penelitian adalah mengkaji pertumbuhan tunas jeruk bali pada media konservasi dengan menurunkan konsentrasi media MS dan sukrosa. Percobaan dilakukan secara faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi media MS yang terdiri atas dua taraf yaitu 1/2MS dan MS. Faktor kedua adalah konsentrasi sukrosa, terdiri atas empat taraf, yaitu 0%, 1%, 2% dan 3%. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa interaksi media dan sukrosa menurunkan jumlah daun, tetapi dapat meningkatkan jumlah akar. Berdasarkan pertumbuhan dan penampilan planlet, planlet yang memiliki pertumbuhan paling lambat dan hijau adalah planlet yang tumbuh pada media MS tanpa sukrosa.

**Kata kunci :** *Citrus maxima*, konservasi *in vitro*, pamelo, pertumbuhan lambat

## PENDAHULUAN

Pamelo {*Citrus maxima* (Burm.) Merr} atau jeruk besar adalah tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan. Jeruk ini mempunyai karakter yang khas yaitu buahnya berukuran besar, memiliki rasa segar dan daya simpan lama sampai empat bulan (Susanto, 2004). Di samping itu, dalam setiap 100 g bahan dapat dimakan dari jeruk ini terkandung 89 g air; 0,5 g protein; 0,4 g lemak; 9,3 g karbohidrat; 49 IU vitamin A; 0,07 mg vitamin B1; 0,02 mg vitamin B2, 0,4 mg Niacin dan 44 mg vitamin C (Niyomdham, 1992), namun beberapa kultivar pamelo mengandung vitamin C sampai 105 mg per 100g bagian yang dapat dimakan (Ara *et al.*, 2008).

Indonesia merupakan salah satu tempat asal dan penyebaran pamelo (Niyomdham, 1992). Eksplorasi pada beberapa sentra produksi berhasil didata beberapa kultivar yang bersifat khas pada masing-masing sentra seperti

cv. Pangkep Merah, Pangkep Putih dan Maria Sigola-gola terdapat di Pangkep, Sulawesi selatan. Cv. Putih Manis (Giri Matang), Putih Asam, dan Merah Asam terdapat di Matang, Aceh. Cv. Srinjanya, Nambangan, Adas Duku, Jawa 1, Jawa 2, Bali Putih, Bali Merah 1, Bali Merah 2, Magetan dan Gulung terdapat di Magetan, Jawa Timur. Cv. Bageng terdapat di Pati. Sedang di Kudus diperoleh dua kultivar yaitu Muria Merah 2 berbiji dan Muria Merah 1 yang tidak berbiji (Susanto 2010). Beberapa kultivar yang disukai konsumen dibudidayakan secara luas, sedangkan kultivar lainnya dibudidayakan secara terbatas. Kekayaan plasma nutfah pamelo perlu dijaga kelestariannya untuk pengembangan masing-masing potensinya.

Konservasi pamelo dapat dilakukan di luar sentra produksi (*ex situ*) antara lain melalui konservasi *in vitro* (Whiters, 1985). Konservasi ini terutama diterapkan untuk tanaman berkayu yang memiliki biji rekalsitran dan berkembang

biak secara vegetatif (Rao, 2004; Towill, 2005). Pengurangan frekuensi subkultur dapat dilakukan untuk memperlambat pertumbuhan. Pertumbuhan kultur juga dapat diperlambat dengan menurunkan konsentrasi beberapa faktor esensial (Desbrunais *et al.*, 1992) misalnya dengan menurunkan konsentrasi hara dan sukrosa (Catană *et al.*, 2010).

Hara bagi tanaman berperan dalam pembentukan senyawa berkarbon (N, S), penyimpanan energi (P, Si, B), regulator osmotik (K, Ca, Mg, Cl, Mn, Na) dan reaksi redoks (Fe, Zn, Cu, Ni, Mo) (Taiz dan Zeiger, 2002). Konsentrasi sukrosa berpengaruh pada pembelahan dan pembentukan sel (Dewitte dan Muray 2002). Sukrosa berperan dalam menginduksi terjadinya siklus sel (Gahan, 2007), juga merupakan sumber energi dan sumber karbon. Penurunan konsentrasi hara dan sukrosa telah diterapkan pada konservasi *in vitro* Caryophyllaceae selama satu tahun (Catană *et al.*, 2010). Penggunaan teknik ini untuk konservasi pamelu perlu dikaji pengaruhnya terhadap pertumbuhan tunas pamelu.

## BAHAN DAN METODE

Percobaan konservasi *in vitro* dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan I, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB mulai Januari 2011 sampai Mei 2012. Peralatan yang digunakan adalah peralatan standar untuk penelitian kultur jaringan.

Media dasar yang digunakan adalah media MS (Murashige and Skoog, 1962). Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan faktorial dengan dua faktor yaitu penurunan konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa yang disusun secara acak lengkap. Konsentrasi

komposisi media MS terdiri dari dua taraf, yaitu 1/2MS dan MS. Pada media 1/2MS maka komposisi hara makro, mikro, vitamin dan bahan organik adalah setengah dari MS. Konsentrasi sukrosa terdiri dari empat taraf, yaitu 0; 1; 2 dan 3%, sehingga terdapat delapan kombinasi perlakuan. Setiap unit percobaan diulang tujuh kali.

Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas adventif pamelu 'Adas Duku' yang memiliki empat daun tanpa akar. Dua eksplan ditanam dalam 30 ml media sesuai perlakuan. Kultur kemudian diinkubasikan di ruang kultur pada suhu 27-29 °C dengan lama penyinaran 24 jam menggunakan lampu TL 18 watt (237–616 lux, diukur dengan Luxtron 4 in 1).

Pengamatan jumlah daun, panjang tunas dan awal munculnya akar dilakukan setiap bulan selama tujuh bulan tanpa sub kultur. Penampilan visual kultur, jumlah dan panjang akar diamati setelah tujuh bulan konservasi.

## ANALISIS DATA

Data kuantitatif dianalisis menggunakan uji F pada taraf 5%. Jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap hasil pengamatan maka dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* pada taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### **Pertumbuhan tunas dan daun pada konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa**

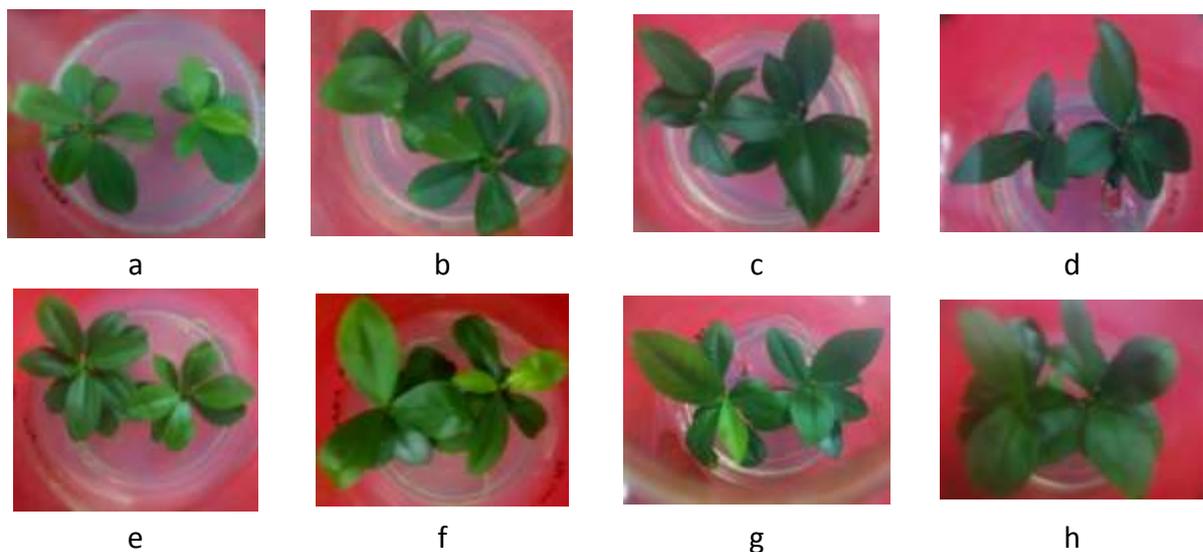
Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tunas pamelu tetap tumbuh pada semua media perlakuan sampai akhir pengamatan (tujuh

bulan setelah kultur). Tunas adventif yang digunakan sebagai eksplan dapat tumbuh menjadi planlet, mempunyai akar dan daun dengan bentuk normal dan berwarna hijau (Gambar 1). Pertumbuhan ditandai dengan peningkatan tinggi tunas dan penambahan jumlah daun (Gambar 2 dan 3).

Interaksi antara konsentrasi media MS dan sukrosa terhadap tinggi tunas hanya berpengaruh nyata pada 2, 3, 5, 6, dan 7 BSK (Tabel 1). Laju pertumbuhan tunas dan daun yang paling cepat dijumpai pada perlakuan media MS + sukrosa 3%. Pertumbuhan tunas yang paling lambat dijumpai pada perlakuan MS + sukrosa 0% (Gambar 2, Tabel 1), sedangkan pertumbuhan daun paling lambat dijumpai pada tunas yang tumbuh pada media 1/2MS + sukrosa 0%, diikuti tunas pada media MS + sukrosa 0% (Gambar 3). Tunas pada media

tanpa sukrosa tetap dapat tumbuh, namun dengan lambat. Hal ini disebabkan tanaman yang ditumbuhkan pada media tanpa sukrosa dapat bersifat autotrof. Kultur memenuhi kebutuhan karbon dan energinya dengan berfotosintesis memanfaatkan CO<sub>2</sub> hasil respirasi (Thorpe *et al.*, 2008).

Penambahan tinggi tunas pamele setelah tujuh bulan konservasi dipengaruhi oleh konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa, tetapi tidak dipengaruhi oleh interaksi antara keduanya (Tabel 2). Tunas yang tumbuh pada media 1/2MS lebih pendek dibandingkan dengan tunas yang tumbuh pada media MS (Tabel 4), yang disebabkan penurunan konsentrasi hara. Pada media yang miskin hara, tanaman akan melakukan efisiensi pada penyerapan, transpor dan penggunaan hara dalam pertumbuhannya (Marschner, 1995).



**Gambar 1.** Keragaan visual planlet yang berasal dari tunas adventif pamele 'Adas Duku' tujuh bulan setelah konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa (a. 1/2MS + sukrosa 0%, b. 1/2MS + sukrosa 1%, c. 1/2MS + sukrosa 2%, d. 1/2MS + sukrosa 3%, e. MS + sukrosa 0%, f. MS + sukrosa 1%, g. MS + sukrosa 2%, h. MS + sukrosa 3%.)

Tabel 1 Interaksi antara konsentrasi media MS dan sukrosa terhadap tinggi tunas pamelo 'Adas Duku' selama periode konservasi

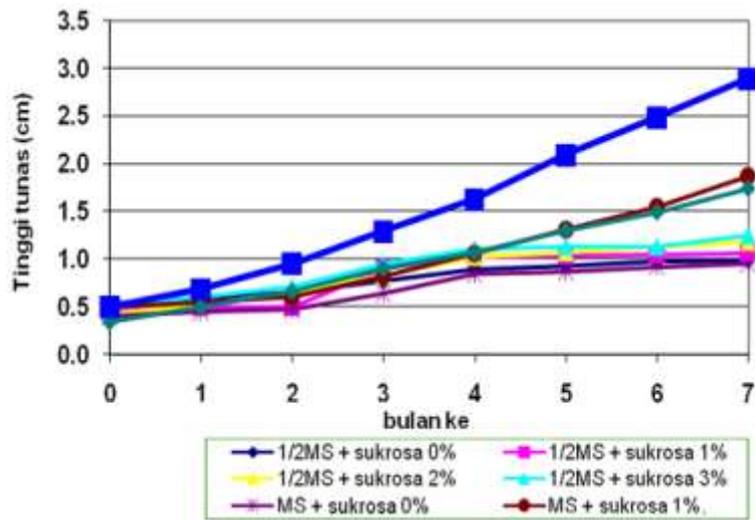
BSK	Konsentrasi media MS	Konsentrasi sukrosa (%)			
		0	1	2	3
	1/2MS	0.66b	0.49b	0.65b	0.71b
	MS	<b>0.47b</b>	0.61b	0.66b	<b>0.96a</b>
	1/2MS	0.78 bc	0.91b	0.83bc	0.96b
	MS	<b>0.64c</b>	0.82bc	0.91b	<b>1.29a</b>
	1/2MS	0.94bc	1.04bc	1.07bc	1.14bc
	MS	<b>0.87c</b>	1.31b	1.30b	<b>2.09a</b>
	1/2MS	0.98c	1.05bc	1.13bc	1.14bc
	MS	<b>0.92c</b>	1.55b	1.49b	<b>2.49a</b>
	1/2MS	0.99c	1.06c	1.18bc	1.26bc
	MS	<b>0.96c</b>	1.87b	1.74bc	<b>2.89a</b>

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap BSK tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT. BSK = bulan setelah kultur

Tunas pada media yang mengandung sukrosa 3% nyata lebih tinggi dibandingkan dengan tunas pada media tanpa sukrosa karena sukrosa diperlukan tanaman sebagai sumber energi dan sumber karbon (Javed dan Ikram, 2008), dan regulator pembelahan sel (Dewitte dan Murray, 2002). Sukrosa menginduksi siklus sel pada transisi dari fase G1 ke S (fase istirahat ke fase pembentukan DNA) yang merupakan bagian awal siklus sel (Gahan, 2007). Kekurangan sukrosa menyebabkan tanaman memperlambat siklus selnya atau menuju ke tahap G0 (fase diam) (Dewitte dan Murray, 2002), sehingga

pembelahan sel berjalan lambat atau tidak dapat terjadi.

Konsentrasi media, konsentrasi sukrosa dan interaksi keduanya berpengaruh pada penambahan jumlah daun (Tabel 2). Pembentukan daun terbanyak dijumpai pada planlet yang tumbuh pada media MS + sukrosa 3%. Proses pembentukan daun merupakan proses yang memerlukan energi, karbon dan nutrisi sehingga penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa menyebabkan pembentukan daun lebih lambat (Tabel 3).



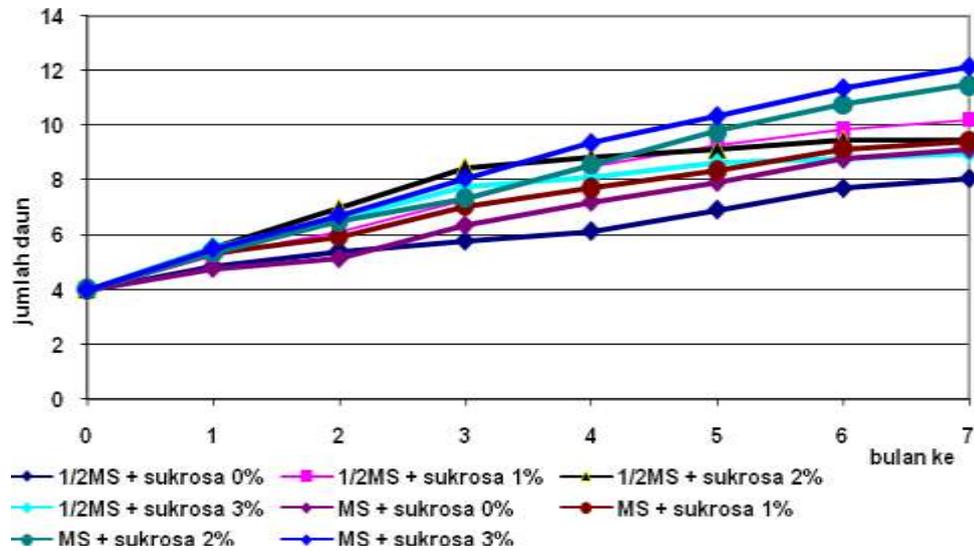
**Gambar 2.** Pertumbuhan tunas pameló 'Adas Duku' pada konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa

#### **Pembentukan dan pertumbuhan akar pameló pada konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa**

Tunas pameló dapat membentuk akar pada semua media perlakuan konservasi *in vitro* ini. (2002). Konsentrasi media MS, dan interaksinya dengan konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata terhadap waktu pembentukan dan jumlah akar (Tabel 2). Penurunan hara akan menyebabkan tanaman memperluas daerah penyerapan hara (Marschner, 1995) dengan membentuk akar dan

Pembentukan akar dapat terjadi tanpa induksi auksin eksogen diduga karena kandungan auksin endogen pada tunas pameló cukup tinggi. Induksi dan pembentukan akar memerlukan auksin (Davies, 2004; Srivastava, meningkatkan jumlah akar. Namun, pembentukan akar memerlukan energi dan rantai karbon sehingga planlet yang tumbuh pada media yang mengandung sukrosa lebih cepat membentuk akar dibandingkan planlet yang tumbuh pada media tanpa sukrosa.





**Gambar 3.** Pertumbuhan daun pamelu 'Adas Duku' pada konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa

**Tabel 2.** Rekapitulasi hasil sidik ragam pada peubah tunas pamelu yang dikonservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa setelah tujuh bulan konservasi

Peubah	Konsentrasi media MS	Konsentrasi Sukrosa	Media MS x Sukrosa
Penambahan jumlah daun	25,79**	11,60**	9,65**
Pemanjangan tunas	1,14**	0,37**	0,17tn
Panjang akar	193,51**	137,84**	55,25tn
Jumlah akar	0,06**	0,01tn	0,03*
Waktu muncul akar	0,49**	0,26tn	0,48**

Keterangan : \*\* = sangat nyata, \* = nyata, tn = tidak nyata

**Tabel 3.** Rekapitulasi hasil uji DMRT tunas pamelu pada konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa

Peubah yang diamati	Komposisi Media	Konsentrasi sukrosa (%)			
		0	1	2	3
Penambahan jumlah daun	1/2MS	4,07d	6,21bc	5,50cd	5,00cd
	MS	5,14cd	5,43cd	7,50b	8,14a
Jumlah akar	1/2MS	1,25abc	1,35a	1,30ab	1,27ab
	MS	1,22bc	1,16c	1,30ab	1,22bc

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap peubah tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Hal ini terlihat pada tunas yang tumbuh pada media 1/2MS lebih cepat membentuk akar dibandingkan pada media MS dan media yang mengandung sukrosa lebih tinggi lebih banyak jumlah akarnya (Gambar 4 dan Tabel 3). Pembentukan akar yang paling cepat dijumpai pada tunas yang tumbuh di media 1/2MS + sukrosa 2%, yaitu pada hari ke 18. Tunas yang memerlukan waktu inisiasi akar paling lama dijumpai pada media MS tanpa sukrosa, yaitu pada hari ke 103 (Gambar 4). Planlet yang

memiliki jumlah akar terbanyak dijumpai pada media 1/2MS + sukrosa 1%, sedangkan planlet di media MS + sukrosa 1% memiliki jumlah akar paling sedikit (Tabel 3).

Konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa mempengaruhi panjang akar planlet, tetapi interaksinya berpengaruh tidak nyata (Tabel 2). Akar planlet yang tumbuh pada media 1/2MS nyata lebih panjang dibandingkan akar planlet pada media MS (Tabel 5).

**Tabel 4.** Pengaruh tunggal penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa terhadap penambahan tinggi tunas pamelo pada tujuh bulan setelah konservasi

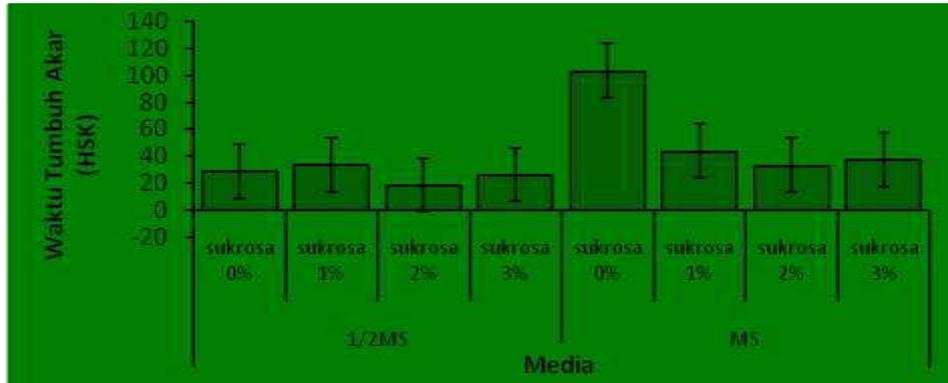
Perlakuan	Penambahan tinggi tunas (cm)
Konsentrasi media	
½ MS	0,64b
MS	1,43a
Konsentrasi sukrosa	
0%	0,51b
1%	0,99ab
2%	1,08ab
3%	1,56a

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan perlakuan yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Tanaman yang mendapat perlakuan penurunan konsentrasi hara akan memperluas daerah penyerapan hara dengan memperpanjang akarnya. Namun demikian, pemanjangan akar dipengaruhi oleh ketersediaan sumber energi dan sumber karbon yang ada pada media, sehingga akar akan lebih panjang pada media yang mengandung sukrosa lebih tinggi.

Hal ini terlihat pada akar planlet yang tumbuh pada media dengan konsentrasi sukrosa 0% nyata lebih pendek dibandingkan dengan akar planlet yang tumbuh pada media dengan konsentrasi sukrosa 2% dan 3%, namun tidak berbeda nyata dengan akar planlet yang tumbuh pada media yang mengandung sukrosa 1% (Tabel 5).





**Gambar 4.** Waktu tumbuh akar pameló ‘Adas Duku’ pada konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa.

**Tabel 5.** Pengaruh tunggal penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa terhadap panjang akar pameló pada tujuh bulan setelah konservasi

Perlakuan	Panjang akar (cm)
Konsentrasi media	
½ MS	12,91a
MS	9,19b
Konsentrasi sukrosa	
0%	6,96b
1%	10,23ab
2%	13,32a
3%	13,70a

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT.

**KESIMPULAN**

Pada percobaan konservasi dengan penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa selama tujuh bulan, tunas adventif pameló dapat menjadi planlet dan tetap tumbuh pada semua media konservasi sampai akhir pengamatan. Penurunan konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa dapat memperlambat pertumbuhan tunas pameló. Pertumbuhan tunas pameló yang paling terhambat, namun memiliki visual kultur yang tetap vigor dan hijau

adalah tunas yang tumbuh pada media MS tanpa sukrosa.

**SARAN**

Konservasi pameló dengan media MS tanpa sukrosa dapat diterapkan untuk mengurangi periode sub kultur dan merupakan metode konservasi yang hemat biaya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pertanian yang telah memberikan dana melalui Tim Penelitian KKP3T 2009 : Karakterisasi dan Konservasi *Ex situ* Sumberdaya Genetik Pamelon {*Citrus grandis* (L.) Osbeck} Asli Indonesia dan Kementerian Negara Riset dan Teknologi yang telah memberikan dana melalui Tim Penelitian Program Insentif Riset Terapan 2010 : Perbaikan Potensi Pembentukan Buah Jeruk Pamelon Tanpa Biji untuk Meningkatkan Daya Saing Buah Nasional.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ara, N., M.K. Bashar, M.K.Uddin, and K.M. Khalequzzaman. 2008. Evaluation of pummelo (*Citrus grandis* L.) cultivars in northern area of Bangladesh *Journal of Agricultural Research* 46: 65-75.
- Catană, R., E.M. Mitoi, F. Helepciuc, and I. Holobiuc. 2010. *In vitro* conservation under slow growth conditions of two rare plant species from Caryophyllaceae family. *Electronic Journal of Biology* 6: 86-91.
- Davies, P.J. 2004. The plant hormones : Their Nature, Occurrence, and Functions. In Davies, P.J. (ed). *Plant Hormones Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* Kluwer Academic Publisher. London. p 1-35.
- Desbrunais, A.B., M. Noirot, and A. Charrier. 1992. Slow growth in vitro conservation of coffee (*Coffea* spp.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 31:105-110.
- Dewitte, W. and J. Murray. 2002. Regulation of cell division in plants. In Mcmanus, M.T. and B.E. Veit (eds). *Meristematic Tissues in Plant Growth and Development*. Sheffield Academic Press. London. p 255-278.
- Gahan, P.B. 2007. Totipotency and the cell cycle. In Jain, S.M. and H. Häggman (eds). *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*. Springer. The Netherlands. p 3-14.
- Javed, F. and S. Ikram. 2008. Effect of sucrose induced osmotic stress on callus growth and biochemical aspect of two wheat genotypes. *Pakistan Journal of Botany* 40: 1487-1495.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plant*. Cambridge: Academic Press. 859 p.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Niyomdham, C. 1997. *Citrus maxima* (Burm.) Merr. In Verheij, E.W.M. and E. Coronel (eds). *Plant Resources of South-East Asia 2: Edible Fruits and Nuts*. Prosea Foundation. Bogor. hlm 153-157.
- Rao, N.K. 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology* 3: 136-145.
- Srivastava, L.M. 2002. *Plant Growth and Development, Hormon and Environment*. Academic Press. London. 772 p.

- Susanto, S. 2004. Perubahan kualitas buah jeruk besar (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) yang disimpan dan dibiarkan di pohon. *Hayati* 11: 25-29.
- Susanto, S. 2010. Laporan Penelitian Program Insentif Riset Terapan 2010: Perbaikan Potensi Pembentukan Buah Jeruk Pamelon Tanpa Biji untuk Meningkatkan Daya Saing Buah Nasional. Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB. Bogor. (tidak diterbitkan)
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc. New York. 672 p.
- Thorpe, T., C. Stasolla, E.C. Yeung, G-J de Klerk, A. Roberts, and E.F. George. 2008. The Components of Plant Tissue Culture Media II : Organic Additions, Osmotic and pH Effects, and Support Systems. In George, E.F., M.A. Hall and G-J. de Klerk (eds). *Plant Propagation by Tissue Culture* Vol. I *The Background*. Springer. Dordrecht. p 115–174.
- Towill, L.E. 2005. Germplasm preservation. In Trigiano, R.N. and D.J. Gray (eds). *Plant Development and Biotechnology*. CRC Press. New York. p 277-284.
- Whiters, L.A. 1985. Cryopreservation and storage of germplasm. In Dixon, D.A. (ed). *Plant Cell Culture*. IRL Press. Washington. p 169-190.