

Анализ изменчивости растений-регенерантов лаванды сорта Степная с использованием ISSR маркеров*

С. С. БАБАНИНА, Н. А. ЕГОРОВА, М. С. ЗАГОРСКАЯ

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, ул. Киевская, 150, Симферополь, Республика Крым, 295453, Российская Федерация

Резюме. Исследования проводили с целью выявления вероятной соматоклональной изменчивости у полученных в культуре каллусных тканей растений-регенерантов *Lavandula angustifolia* сорта Степная с использованием ISSR маркеров для идентификации новых генотипов. Материалом для исследования служили 14 растений-регенерантов, развившихся из каллуса сорта Степная – 265-8, 265-3, 265-16, 402-6, 3205-4, 947-2, 265-13, 265-15, 580-1, 402-9, 3205-11, 3732, 1479-2, 265-19. Для оценки генетической дивергенции соматоклональных вариантов от исходного сорта использовали 11 ISSR праймеров компании «Евроген» (Россия) – HB13, HB15, ISSR2, ISSR3, Lav1, Lav2, Lav3, Lav4, Lav5, Lav6, Lav7. Праймер Lav6 не подходит для выбранной выборки образцов, так как с его использованием удалось амплифицировать только один фрагмент длиной 706 пар нуклеотидов. Праймеры HB13, HB15, Lav2 и Lav5 не выявили полиморфизма между исходным сортом и растениями, появившимися в результате индукции соматоклональной вариативности. Использование других ISSR праймеров позволило получить полиморфизм в диапазоне от 41,7 % до 100 %. Генетическая изменчивость, обнаруженная у растений-регенерантов, как в сравнении с исходным сортом, так и между собой, служит подтверждением появления или элиминации аллелей в одном и том же локусе. В ходе индукции соматоклональной вариативности максимальные изменения в геноме произошли у соматоклона St265-13, генетическая дистанция, рассчитанная по Нею и Ли, между ним и исходным сортом составила $GD=0,0326$, наименьшие – у регенеранта St265-8 ($GD=0,0028$). С использованием кластерного анализа на основании матрицы генетических дистанций выявлены максимально сходные между собой группы регенерантов. Полученные данные свидетельствуют о появлении соматоклональной вариативности при регенерации растений из каллусных культур лаванды, что может быть использовано при создании исходного селекционного материала.

Ключевые слова: лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.), растения-регенеранты, ISSR-анализ, соматоклональная вариативность.

Сведения об авторах: С. С. Бабанина, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник (e-mail: svetlana.babanina@bk.ru); Н. А. Егорова, доктор биологических наук, зав. лабораторией; М. С. Загорская, младший научный сотрудник.

Для цитирования: Бабанина С. С., Егорова Н. А., Загорская М. С. Анализ изменчивости растений-регенерантов лаванды сорта Степная с использованием ISSR маркеров // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. № 3. С. 17–21. doi: 10.53859/02352451_2024_38_3_17

* работа выполнена в рамках госзадания Министерства образования и науки РФ FNZW-2022-0008 (122101300035-2).

Variability analysis of regenerated lavender plants of the Stepnaya variety using ISSR markers

S. S. Babanina, N. A. Yegorova, M. S. Zagorskaya

Crimea Research Agricultural Institute, ul. Kievskaya, 150, Simferopol', Respublika Krym, 295453, Russian Federation

Abstract. Studies were carried out to identify probable somaclonal variability in callus tissues of regenerated *Lavandula angustifolia* plants (Stepnaya variety) obtained in culture using ISSR markers to identify new genotypes. The material for the study was 14 regenerated plants developed from callus of the Stepnaya variety – 265-8, 265-3, 265-16, 402-6, 3205-4, 947-2, 265-13, 265-15, 580-1, 402-9, 3205-11, 3732, 1479-2, 265-19. To assess the genetic divergence of somaclonal variants from the original variety, 11 ISSR primers from Eurogen (Russia) were used – HB13, HB15, ISSR2, ISSR3, Lav1, Lav2, Lav3, Lav4, Lav5, Lav6, Lav7. Primer Lav6 is not suitable for the selected set of samples, since it was used to amplify only one fragment with a length of 706 nucleotide pairs. Primers HB13, HB15, Lav2 and Lav5 did not reveal polymorphism between the original variety and the plants resulting from the induction of somaclonal variability. The use of other ISSR primers allowed us to obtain polymorphism in the range from 41.7% to 100%. Genetic variability found in regenerated plants, both in comparison with the original variety and among themselves, serves as confirmation of the appearance or elimination of alleles at the same locus. During the induction of somaclonal variability, the maximum changes in the genome occurred in somaclon St265-13, the genetic distance, calculated according to Nei and Lee, between it and the original variety was $GD = 0.0326$, the smallest – in the regenerant St265-8 ($GD = 0.0028$). Using cluster analysis based on a matrix of genetic distances, groups of regenerants that were most similar to each other were identified. The data obtained indicate the appearance of somaclonal variability during the regeneration of plants from lavender callus cultures, which can be used in the creation of initial breeding material.

Keywords: angustifolia lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), regenerating plants, ISSR analysis, somaclonal variability

Author Details: S. S. Babanina, Cand. Sc. (Agr.), senior research fellow (e-mail: svetlana.babanina@bk.ru); N. A. Yegorova, D. Sc. (Biol.), head of laboratory; M. S. Zagorskaya, junior research fellow.

For citation: Babanina SS, Yegorova NA, Zagorskaya MS. [Variability analysis of regenerated lavender plants of the Stepnaya variety using ISSR markers]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2024;38(3):17–21. Russian. doi: 10.53859/02352451_2024_38_3_17

Лаванда *angustifolia* Mill. – ценное ароматическое и лекарственное растение, имеющее много направлений применения в различных отраслях народного хозяйства и медицине. На сегодняшний день в реестр селекционных достижений (<https://gossortrf.ru/publication/reestry.php>), допущенных к использованию, внесено 14 сортов лаванды (эфиромасличной). Тем не менее, требования к современным сортам непрерывно модифицируются, что вызывает необходимость создания новых сортов. Исходный селекционный материал служит источ-

ником наследственной изменчивости – основы для искусственного отбора [1].

С развитием биотехнологии и молекулярно-генетических методов оценки и изучения геномов растительных организмов у исследователей появились новые способы расширения частоты и спектра генетической изменчивости, а также ускорения селекционного процесса [2].

Эффективный инструмент увеличения генетического разнообразия растений – индукция соматоклональной изменчивости при культивировании изоли-

рованных клеток и тканей *in vitro*. Среди полученных в асептической культуре растений-регенерантов могут появляться соматоклональные варианты, которые существуют как генетически стабильные формы и передают по наследству ценные селекционные признаки [3, 4].

Изменения, возникшие в результате культивирования *in vitro*, могут оставаться незамеченными, поскольку структурные изменения в геноме не всегда влияют на его биологическую активность в такой степени, что это может проявиться в фенотипе [5]. Однако среди множества признаков, подвергающихся соматоклональной изменчивости, есть те, которые могут найти практическое применение в селекции для увеличения генетического разнообразия, дополняя традиционные методы гибридизации и мутагенеза *in vivo* [3]. Анализ растений, полученных в результате непрямого или прямого морфогенеза *in vitro*, посвящено довольно много работ, большинство из которых касается морфологических и хозяйственно ценных признаков регенерантов [6, 7, 8].

Однако именно анализ ДНК, который напрямую характеризует геном, а не его фенотипические проявления, может дать устойчивые характеристики растения, нейтральные по отношению к среде и в наибольшей степени практически пригодные для идентификации и различия генотипов [9]. Такой анализ позволит подтвердить генетические изменения, произошедшие в геноме в ходе создания соматоклональных вариантов.

Разработаны разные молекулярные методы, позволяющие выявлять различия в последовательности ДНК между близкородственными геномами, например, между исходными растениями и соматоклонами. К ним относят метод ПЦР с использованием RAPD, RLFP, ISSR, SSR маркеров и др. Использование этих молекулярных маркеров для выявления вариаций на уровне геномной ДНК подтверждено во многих работах [10, 11, 12].

Цель исследования – выявление вероятной соматоклональной изменчивости у полученных в культуре каллусных тканей растений-регенерантов *L. angustifolia* сорта Степная с использованием ISSR маркеров для идентификации новых генотипов.

Условия, материалы и методы. Материалом для исследования служили 14 образцов растений-регенерантов, полученных из каллусных культур 2 пассажа лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) сорта Степная – №№ 265-8, 265-3, 265-16, 402-6, 3205-4, 947-2, 265-13, 265-15, 580-1, 402-9, 3205-11, 3732, 1479-2, 265-19. Анализируемые образцы ранее были размножены (с использованием традиционного черенкования) и отобраны из 100 полученных *in vitro* регенерантов после изучения в полевых условиях, как более перспективные для дальнейшей селекционной работы [6]. Выделенные образцы регенерантов использовали для анализа ДНК с целью обнаружения возможных генетических изменений.

Из листьев лаванды (смесь из 5 растений) экстрагировали геномную ДНК с использованием адаптированного метода CTAB [Doyle J. J. *Isolation of plant DNA from fresh tissue* // *Focus*. 1990. Vol. 12. P. 13–15.; 13].

В исследовании использовали 11 ISSR праймеров компании «Евроген» (Россия), которые были выбраны на основе литературных данных – HB13, HB15 [14, 15], ISSR2, ISSR3 [16], Lav1, Lav2, Lav3, Lav4, Lav5, Lav6, Lav7 [17] (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика используемых в работе ISSR праймеров (последовательность, температура отжига)

Праймер	Последовательность	Температура отжига, °C
HB 13	GAG GAG GAG GC	38,0
HB 15	GTG GTG GTG GC	38,0
ISSR 2	GTG GTG GTG GTG GTG GTG A	57,0
SSR 3	GTG GTG GTG GTG GTG GTG T	57,0
Lav1	GAC AGA CAG ACA GAC A	49,0
Lav2	GAC GAC GAC GAC GAC GAC	49,0
Lav3	GAG AGA GAG AGA GAG AT	54,3
Lav4	CAC ACA CAC ACA AC	49,0
Lav5	AGG AGG AGG AGG AGG AGG	60,0
Lav6	GAG AGA GAG AGA CC	54,3
Lav7	CTC TCT CTC TCT CTC TTG	50,0

Для проведения ПЦР использовали SmarTaq ДНК полимеразу («Диалат, ЛТД», Россия).

Амплификацию проводили на амплификаторе C1000 (Bio-Rad, США) при следующих условиях: 1 цикл – денатурация при 94 °C в течение 3 минут; 35 циклов – 94 °C в течение 30 секунд, отжиг в диапазоне от 38 до 60 °C в течение 30 секунд, элонгация при 72 °C в течение 1 минуты; 1 цикл – завершающая элонгация при 72 °C в течение 10 минут.

После амплификации продукты разделяли методом горизонтального электрофореза в 2,0 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. В качестве буферной среды геля использовали трис-ЭДТА-боратно-буферную систему с составом 0,09 М Трис, 0,09 М H₃BO₃, 0,003 М ЭДТА (pH 8,3) (*Current protocols in molecular biology* / P. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, et al. New York: Wiley, 1997. 630 p.).

Для визуализации продуктов ПЦР фотографировали гели в ультрафиолетовом спектре. Вычисление молекулярной массы продуктов амплификации проводили с помощью программного пакета «TotalLab TL 120» путем обработки фотографий. В качестве маркера для определения размеров амплифицированных фрагментов использовали ДНК-маркер Step 100 Long. Для определения степени родства генотипов между собой использовали генетическую дистанцию, рассчитанную по Nei и Lee в программе philip-3.69. Построение дендрограммы, демонстрирующей генетическую дивергенцию соматоклональных вариантов от исходного сорта, выполняли в пакете программ Philip-3.69 (статистическую значимость проверяли, используя бутстреп-анализ), используя матрицу генетических дистанций, метод объединения – UPGMA,

Результаты и обсуждение. Установлено, что при использовании праймера Lav6 амплифицировался только один мономорфный фрагмент длиной 706 пар нуклеотидов (п.н.), поэтому считаем этот праймер не пригодным для выбранного сорта. Для праймеров HB13, HB15, Lav2 и Lav5 не установлено полиморфизма между исходным сортом и растениями-регенерантами. С их использованием амплифицировалось 8...10 мономорфных бэндов. При постановке ПЦР с другими ISSR праймерами отмечали полиморфизм от 41,7 % до 100 % (табл. 2). Такие различия в структуре полос указывают на высокую степень полиморфизма между соматоклонами и исходным сортом. С использованием 6 праймеров подтверждена соматоклональная изменчивость у полученных из каллусных культур растений *L. angustifolia* всех предполагаемых соматоклональных вариантов.

Таблица 2. Характеристики полиморфизма ДНК растений-регенерантов, полученных из каллуса сорта Степная с использованием ISSR-праймеров

Праймер	Число ампликонов, шт.			Полиморфизм, %	Длина амплифицированных фрагментов, п.н.		Количество регенерантов, отличающихся от исходного сорта
	всего	моно-морфных	поли-морфных		min	max	
HB13	9	9	0	0,0	186	1754	0
HB15	8	8	0	0,0	346	1240	0
ISSR2	11	3	8	72,7	243	1679	12
ISSR3	12	7	5	41,7	335	2624	10
LAV1	8	0	8	100,0	383	2247	13
LAV2	8	8	0	0,0	265	1035	0
LAV3	10	3	7	70,0	148	1597	11
LAV4	10	2	8	80,0	306	3100	13
LAV5	10	10	0	0,0	186	1145	13
LAV7	8	2	6	75,0	148	3188	11

Чрезвычайно высокий уровень вариаций, обнаруженный у регенерантов из каллусов 2 пассажа, вероятно, связан с тем, что до вовлечения в процесс генетического анализа, они прошли предварительный скрининг и отбор для выявления отличий от исходного сорта по фенотипическим признакам [6].

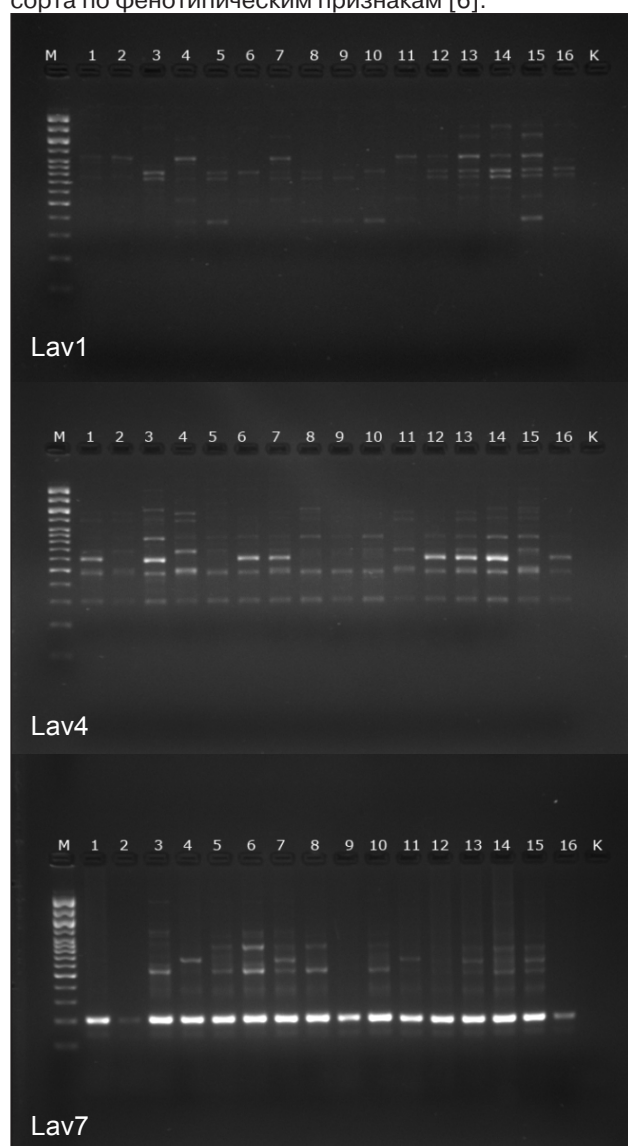


Рис. 1. Электрофореграммы 14 образцов регенерантов, с использованием ISSR праймеров: а) Lav1; б) Lav4; в) Lav7; М – маркер молекулярной массы, 1 – исходный сорт Степная, 2 – 265-8, 3 – 265-3, 4 – 265-16, 5 – 402-6, 6 – 3205-4, 7 – 947-2, 8 – 265-13, 9 – 265-15, 10 – 580-1, 11 – 402-9, 12 – 3205-11, 13 – 3732, 14 – 1479-2, 15 – 265-19, 16 – сорт Степная, К – контроль реактивов.

В основном у изученных регенерантов амплифицировалось дополнительные 1...6 бэндов, однако у некоторых соматоклонов, напротив, отмечали отсутствие 1...2 полос на электрофореграмме, по сравнению с исходным сортом. На рисунке 1 представлены электрофореграммы регенерантов лаванды сорта Степная, в сравнении с исходным сортом с праймерами LAV1, LAV4 и LAV7, при использовании которых установлены различия между наибольшим количеством регенерантов от исходного материнского растения.

Результаты показали, что у растений-регенерантов произошли генетические изменения. Аналогичные данные, свидетельствующие о генетическом полиморфизме, были обнаружены у полученных *in*

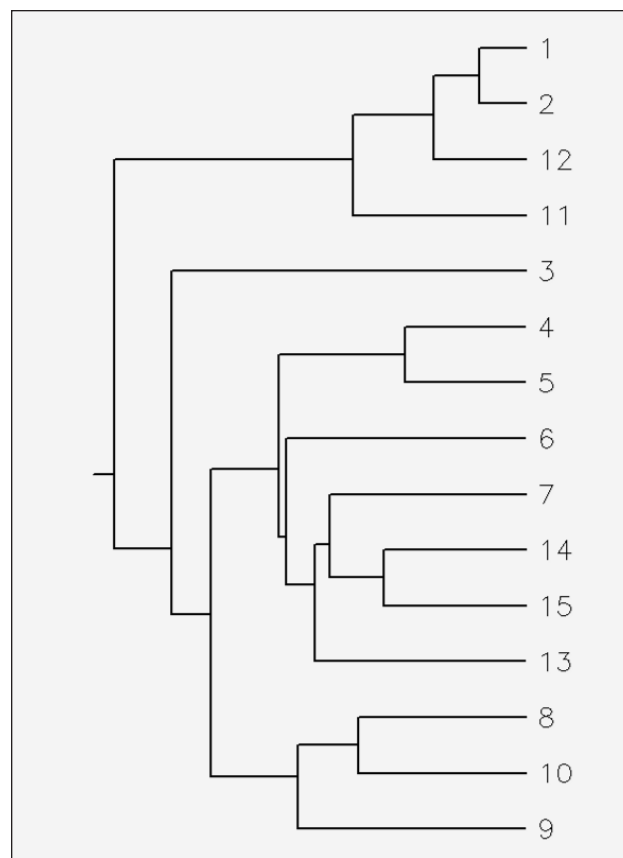


Рис. 2. Дендрограмма, демонстрирующая генетическое родство регенерантов, полученных из каллуса сорта лаванды Степная (на основании матрицы генетических дистанций Nei и Lee, UPGMA): 1 – исходный сорт Степная; 2 – Ст265-8; 3 – Ст265-3; 4 – Ст265-16; 5 – Ст402-6; 6 – Ст3205-4; 7 – Ст947-2; 8 – Ст265-13; 9 – Ст265-15; 10 – Ст580-1; 11 – Ст402-9; 12 – Ст3205-11; 13 – Ст3732; 14 – Ст1479-2; 15 – Ст265-19.

Таблица 3. Квадратная матрица оригинальных генетических дистанций между растениями-регенерантами и растениями исходного сорта лаванды Степная, рассчитанные по Nei и Lee

Название	Название													
	265-8	265-3	265-16	402-6	3205-4	947-2	265-13	265-15	580-1	402-9	3205-11	3732	1479-2	265-19
Степная	0,003	0,029	0,016	0,013	0,023	0,024	0,033	0,022	0,030	0,010	0,004	0,017	0,027	0,029
265-8		0,032	0,016	0,014	0,023	0,027	0,033	0,022	0,027	0,007	0,007	0,020	0,031	0,030
265-3			0,024	0,022	0,018	0,014	0,019	0,032	0,026	0,036	0,024	0,022	0,017	0,021
265-16				0,007	0,016	0,013	0,023	0,018	0,020	0,017	0,017	0,011	0,018	0,015
402-6					0,014	0,015	0,018	0,018	0,015	0,018	0,015	0,016	0,018	0,015
3205-4						0,014	0,016	0,019	0,013	0,027	0,018	0,014	0,012	0,018
947-2							0,015	0,028	0,020	0,031	0,031	0,014	0,011	0,013
265-13								0,013	0,010	0,037	0,028	0,026	0,016	0,011
265-15									0,015	0,024	0,020	0,024	0,026	0,020
580-1										0,032	0,028	0,023	0,020	0,015
402-9											0,014	0,024	0,035	0,034
3205-11												0,015	0,023	0,028
3732													0,011	0,013
1479-2														0,009

vitro регенерантов *Cymbopogon winterianus* [18], *Capsicum chinense* Jacq. [5], *Amorphophallus rivieri* Durieu [19] и др.

Для выявления расхождения соматоклональных вариантов от растений исходного сорта Степная выполнена кластеризация на основе генетических дистанций (табл. 3), рассчитанных по Nei и Lee (рис. 2).

Дендрограмма представлена двумя основными кластерами. Первый кластер сформировали соматоклональные варианты Ст365-8 (самый близкородственный к исходному сорту), Ст3205-1, Ст402-9.

Второй кластер сформировали 3 субкластера. Первый субкластер второго кластера сформировал один генотип – соматоклональный вариант Ст265-3. Второй субкластер был наиболее многочисленный, объединивший 7 полученных из каллусов растений. Между ними и растениями исходного сорта Степная генетическая дистанция (GD) составляла 0,134...0,2936.

В ходе индукции соматоклональной вариативности максимальные изменения произошли у соматоклона Ст265-13, между ним и растениями исходного сорта выявлен показатель GD в 0,326.

Выводы. Впервые с использованием ISSR праймеров оценен уровень полиморфизма ДНК у регенерантов, полученных из каллусов сорта Степная, – по 6 из 10 праймеров величина этого

показателя достигала 41,7...100 %. Генетическая изменчивость, обнаруженная у соматоклонов, как в сравнении с растениями исходного сорта, так и между собой, служит подтверждением появления или элиминации аллелей в одном и том же локусе. В ходе индукции соматоклональной вариативности максимальные изменения в геноме произошли у соматоклона Ст265-13, между ним и исходным сортом генетическая дистанция, рассчитанная по Nei и Lee составила GD=0,0326, наименьшие – у регенеранта Ст265-8 (GD=0,0028). С использованием кластерного анализа на основании матрицы генетических дистанций выявлены максимально сходные между собой группы соматоклонов.

Чрезвычайно высокий уровень вариаций, обнаруженный у соматоклональных вариантов, по-видимому, обусловлен тем, что до вовлечения регенерантов в генетический анализ они прошли предварительный скрининг и отбор для выявления отличия от исходного сорта по фенотипическим признакам.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности применения разработанного биотехнологического протокола индукции растений-регенерантов из каллусных культур лаванды для получения соматоклональных вариантов, которые могут быть использованы для расширения генетической изменчивости в селекционном процессе.

Литература.

1. Селекция лаванды узколистной для промышленного производства в Крыму: монография / А. П. Меркурьев, В. С. Паштецкий, В. И. Немтинов и др. Симферополь: Диалог, 2017. 206 с.
2. Чесноков Ю. В., Косолапов В. М. Генетические ресурсы растений и ускорение селекционного процесса. М.: Угрешская типография, 2016. 172 с.
3. Somaclonal variations and their applications in horticultural crops improvement / H. Krishna, M. Alizadeh, D. Singh, et al. // 3 Biotech. 2016. Vol. 6. Article 54. doi: 10.1007/s13205-016-0389-7.
4. Щенникова И. Н., Шуплецова О. Н., Кокина Л. П. Биотехнология в создании сортов ярового ячменя // Российская сельскохозяйственная наука. 2022. № 3. С. 28–32.
5. Somaclonal variation in Habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) as assessed ISSR molecular markers / J. Bello-Bello, A. L. Iglesias, S. Aviles, et al. // HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science. 2014. Vol. 49. P. 481–485. doi: 10.21273/hortsci.49.4.481.
6. Егорова Н. А. Биотехнология эфиромасличных растений: создание новых форм и микроразмножение *in vitro*. Симферополь: Автограф, 2021. 315 с. doi: 10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4.
7. Bidabadi S. S., Jain S. M. Cellular, molecular, and physiological aspects of *in vitro* plant regeneration // Plants. 2020. Vol. 9. No. 6. Article 702. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/6/702> (дата обращения: 11.02.2024). doi: 10.3390/plants9060702.
8. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // Engineering. 2019. Vol. 5. No. 1. P. 50–59. doi: 10.1016/j.eng.2018.11.006.
9. The role of somaclonal variation in plant genetic improvement: A systematic review / M. d. S. Ferreira, A. d. J. Rocha, F. d. S. Nascimento, et al. // Agronomy. 2023. Vol. 13. Article 730. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4395/13/3/730> (дата обращения: 14.02.2024). doi: 10.3390/agronomy13030730.
10. Характеристика морфологических и хозяйственно ценных признаков форм дикой и сортов культурной сои ВНИИ сои и их идентификация методом микросателлитного анализа / С. И. Лаврентьева, О. Н. Бондаренко, А. А. Блинова и др. // Российская сельскохозяйственная наука. 2023. № 3. С. 9–13.

11. Мухордова М. Е. Выявление доноров короткостебельности у образцов озимой пшеницы с помощью ДНК маркеров и диаллельного анализа // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 4 (56). С. 73–79.
12. Martinez-Velasco I., Arzate-Fernandez A. M. Analysis of the somaclonal variation in two in vitro regenerated Agave species // *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2022. Vol. 25. Article 050. doi: 10.56369/tsaes.3709.
13. Загорская М. С. Некоторые аспекты выделения геномной ДНК из растений лаванды разного происхождения // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: материалы V международной научно-практической конференции. Симферополь: Ариал, 2020. С. 177–179. doi: 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-90.
14. Ahmed S., Al-Sodany Y. Authentication of ecological, biochemical and molecular features for some Lamiaceae species from Saudi Arabia // *Egypt. J. Bot.* 2019. Vol. 59. P. 581–594. doi: 10.21608/ejbo.2019.6144.1246.
15. Efficiency of RAPD and ISSR markers in assessment of genetic diversity in some *Catharanthus roseus* L. cultivars grown in Egypt / M. M. Ibrahim, T. H. S. Abou El-Nasr, N. S. Abdel-Samea, et al. // *World Applied Sciences Journal*. 2013. Vol. 26. No. 11. P. 1407–1415. doi: 10.5829/idosi.wasj.2013.26.11.13581.
16. Jedrzejczyk I., Rewers M. Genome size and ISSR markers for *Mentha* L. (Lamiaceae) genetic diversity assessment and species identification // *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 120. P. 171–179. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.04.062.
17. Effects of nanoparticles treatments and salinity stress on the genetic structure and physiological characteristics of *Lavandula angustifolia* Mill. / S. Talebi, M. Askary, R. Amiri, et al. // *Brazilian journal of biology*. 2022. Vol. 82. Article e261571. doi: 10.1590/1519-6984.261571.
18. Dey T., Saha S., Ghosh P. D. Somaclonal variation among somatic embryo derived plants – Evaluation of agronomically important somaclones and detection of genetic changes by RAPD in *Cymbopogon winterianus* // *South African Journal of Botany*. 2015. Vol. 96. P. 112–121. doi: 10.1016/j.sajb.2014.10.010.
19. Jian-Bin H., Qiong L., Jing L. ISSR analysis of somaclonal variation in callus-derived plants of *Amorphophallus rivieri* Durieu // *Acta biologica cracoviensia. Series botanica*. 2011. Vol. 53/1. P. 120–124. doi: 10.2478/v10182-011-0017-0.

References

1. Merkur'ev AP, Pashtetskii VS, Nemtinov VI, et al. *Seleksiya lavandy uzkolistnoi dlya promyshlennogo proizvodstva v Krymu: monografiya [Breeding of Lavandula angustifolia for industrial production in Crimea: Monograph]*. Simferopol' (Russia): Diaipi; 2017. 206 p. Russian.
2. Chesnokov YuV, Kosolapov VM. *Geneticheskie resursy rastenii i uskorenie selektsionnogo protsesssa [Plant genetic resources and acceleration of the breeding process]*. Moscow: Ugreshskaya tipografiya; 2016. 172 p. Russian.
3. Krishna H, Alizadeh M, Singh D, et al. Somaclonal variations and their applications in horticultural crops improvement. *3 Biotech*. 2016;6: Article 54. doi: 10.1007/s13205-016-0389-7.
4. Shchennikova IN, Shupletsova ON, Kokina LP. [Biotechnology in the development of spring barley varieties]. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka*. 2022;(3):28-32. Russian.
5. Bello-Bello J, Iglesias AL, Aviles S, et al. Somaclonal variation in Habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) as assessed ISSR molecular markers. *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science*. 2014;49:481-5. doi: 10.21273/hortsci.49.4.481.
6. Egorova NA. *Biotehnologiya efiromaslichnykh rastenii: sozdanie novykh form i mikrorazmnozhenie in vitro [Biotechnology of essential oil plants: Development of new forms and micropropagation in vitro]*. Simferopol' (Russia): Avtograf; 2021. 315 p. Russian. doi: 10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4.
7. Bidabadi SS, Jain SM. Cellular, molecular, and physiological aspects of in vitro plant regeneration. *Plants [Internet]*. 2020 [cited 2024 Feb 11];9(6): Article 702. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/6/702>. doi: 10.3390/plants9060702.
8. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*. 2019;5(1):50-9. doi: 10.1016/j.eng.2018.11.006.
9. Ferreira MdS, Rocha AdJ, Nascimento FdS, et al. The role of somaclonal variation in plant genetic improvement: A systematic review. *Agronomy [Internet]*. 2023 [cited 2024 Feb 14];13: Article 730. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4395/13/3/730>. doi: 10.3390/agronomy13030730.
10. Lavrent'eva SI, Bondarenko ON, Blinova AA, et al. [Characteristics of morphological and economically valuable traits of wild and cultivated soybean varieties of the All-Russian Research Institute of Soybean Breeding and their identification by microsatellite analysis]. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka*. 2023;(3):9-13. Russian.
11. Muxhordova ME. [Identification of donors of short stemness in winter wheat samples using DNA markers and diallelic analysis]. *Vestnik Ul'yanovskoi gosudarstvennoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*. 2021;(4):73-9. Russian.
12. Martinez-Velasco I, Arzate-Fernandez AM. Analysis of the somaclonal variation in two in vitro regenerated Agave species. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2022;25: Article 050. doi: 10.56369/tsaes.3709.
13. Zagorskaya MS. [Some aspects of genomic DNA isolation from lavender plants of different origins]. In: *Sovremennoe sostoyanie, problemy i perspektivy razvitiya agrarnoi nauki: materialy V mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii [Current state, problems and prospects for the development of agricultural science: Materials of the V international scientific and practical conference]*. Simferopol' (Russia): Aerial; 2020. p. 177-9. Russian. doi: 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-90.
14. Ahmed S, Al-Sodany Y. Authentication of ecological, biochemical and molecular features for some Lamiaceae species from Saudi Arabia. *Egypt. J. Bot.* 2019;59:581-94. doi: 10.21608/ejbo.2019.6144.1246.
15. Ibrahim MM, Abou El-Nasr THS, Abdel-Samea NS, et al. Efficiency of RAPD and ISSR markers in assessment of genetic diversity in some *Catharanthus roseus* L. cultivars grown in Egypt. *World Applied Sciences Journal*. 2013;26(11):1407-15. doi: 10.5829/idosi.wasj.2013.26.11.13581.
16. Jedrzejczyk I, Rewers M. Genome size and ISSR markers for *Mentha* L. (Lamiaceae) genetic diversity assessment and species identification. *Industrial Crops and Products*. 2018;120:171-9. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.04.062.
17. Talebi S, Askary M, Amiri R, et al. Effects of nanoparticles treatments and salinity stress on the genetic structure and physiological characteristics of *Lavandula angustifolia* Mill.. *Brazilian journal of biology*. 2022;82: Article e261571. doi: 10.1590/1519-6984.261571.
18. Dey T, Saha S, Ghosh PD. Somaclonal variation among somatic embryo derived plants – Evaluation of agronomically important somaclones and detection of genetic changes by RAPD in *Cymbopogon winterianus*. *South African Journal of Botany*. 2015;96:112-21. doi: 10.1016/j.sajb.2014.10.010.
19. Jian-Bin H, Qiong L, Jing L. ISSR analysis of somaclonal variation in callus-derived plants of *Amorphophallus rivieri* Durieu. *Acta biologica cracoviensia. Series botanica*. 2011;53/1:120-4. doi: 10.2478/v10182-011-0017-0.