

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ РАСТЕНИЙ ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ (*Lavandula angustifolia* Mill.) ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ*

С. С. Бабанина, кандидат сельскохозяйственных наук, **Н. А. Егорова**, доктор биологических наук, **И. В. Ставцева**, кандидат сельскохозяйственных наук, **С. Ф. Абдурашитов**, кандидат биологических наук

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,
295453, Республика Крым, Симферополь, ул. Киевская, 150
E-mail: svetlana.babanina@bk.ru

*Цель исследования – оценить генетическую стабильность сортов лаванды при длительном клональном микроразмножении с использованием RAPD и ISSR маркеров. Материалом для исследования служили три сорта лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) крымской селекции – Вдала, Синева, Степная. Биологическими объектами были исходные выращенные в фитоблоке донорные растения, а также микропобеги после 6 и 16 субкультивирований при размножении *in vitro*. В работе использовали 2 RAPD (OPA 10, OPO 13) и 4 ISSR праймера (HB 13, HB 15, ISSR 1, ISSR 2, ISSR 3). У изученных сортов по основным морфометрическим параметрам развития экплантов (количество и длина побегов, число узлов на побегах и коэффициент размножения) достоверных различий после 6 и 16 субкультивирований не выявлено. По морфологии микропобегов всех изученных сортов после разных сроков культивирования между собой так же не отличались. С использованием 7 маркеров идентифицировано наличие 62 локусов. Все праймеры, используемые в работе, были полиморфны (41,7...88,9%), а продукты амплификации надежно идентифицировали выбранные для исследования сорта лаванды. Длина амплифицированных фрагментов варьировала от 378 до 2177 пар нуклеотидов. Микропобеги, полученные при использовании клонального микроразмножения после 6 и 16 субкультивирований, по генетическому профилю оказались идентичными исходным сортам лаванды. В результате показана возможность длительного (как минимум, в течение 16 субкультивирований) клонального микроразмножения сортов лаванды узколистной при сохранении их генетической стабильности.*

GENETIC STABILITY OF LAVENDER (*Lavandula angustifolia* Mill.) PLANTS OBTAINED DURING LONG-TERM CLONAL MICROPROPAGATION

S.S. Babanina, N.A. Yegorova, I.V. Stavtseva, S.F. Abdurashitov

Crimea Research Agricultural Institute,
295453, Respublika Krym, Simferopol', ul. Kievskaya, 150,
E-mail: svetlana.babanina@bk.ru

*The aim of the study was to evaluate the genetic stability of lavender cultivars during long-term clonal micropropagation using RAPD and ISSR markers. The material for the study was three lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) cultivars of the Crimean breeding – 'Vdala', 'Sineva', 'Stepnaya'. The biological objects were the original donor plants (grown under controlled conditions), as well as microshoots after 6 and 16 subcultivations during *in vitro* propagation. We used two RAPD (OPA 10, OPO 13) and four ISSR primers (HB 13, HB 15, ISSR 1, ISSR 2, ISSR 3). It was not found significant differences on the number and length of shoots, the number of nodes on the shoot and the multiplication index after 6 and 16 subcultivations for all cultivars. According to the morphology, the microshoots of the three studied cultivars after different periods cultivation also did not differ from each other. Using 7 markers, we identified 62 loci. All primers used in the work were polymorphic (41.7...88.9%), and the amplification products reliably identified lavender cultivars. The length of the amplified fragments varied from 378 to 2177 base pairs. The microshoots, obtained using clonal micropropagation after 6 and 16 subcultivations, were identical in genetic profile to the original lavender cultivars. As a result, the possibility of long-term (at least 16 subcultivations) micropropagation of lavender was shown, while maintaining their genetic stability.*

Ключевые слова: лаванда узколистная, микроразмножение *in vitro*, субкультивирование, генетическая стабильность, RAPD, ISSR анализ.

Key words: english lavender, *in vitro* micropropagation, subcultivation, genetic stability, RAPD, ISSR analysis.

Род *Lavandula* включает 39 полиморфных видов, среди которых для эфиромасличного производства наиболее интересна лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.). Основные компоненты эфирного масла этого растения – линалолактат (30...50%) и линалоол (10...20%), минорные – гераниол, нерол, лимонен и др. Соцветия лаванды содержат кумарины, дубильные вещества, смолы, флавоноиды, фитостерины, антоцианы и органические кислоты [1]. Такой химический состав дает возможность использовать продукты переработки лаванды в медицине как успокаи-

вающее и спазмолитическое средство, в парфюмерно-косметической, пищевой промышленности и др. [2].

Повышение эффективности селекции и семеноводства лаванды в ряде случаев связано с использованием клонального микроразмножения, которое позволяет быстро тиражировать ценные генотипы (селекционные и коллекционные образцы, гибриды, растения-регенеранты и др.), получать качественный оздоровленный посадочный материал перспективных сортов, а также выступает основой создания генетических коллекций *in vitro*. В литературе достаточно

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

широко представлены сведения о различных аспектах микроразмножения *L. angustifolia* или других видов этого рода [3, 4, 5]. Большинство публикаций касается оптимизации питательных сред и условий культивирования для основных этапов размножения *in vitro* [6, 7, 8]. При этом авторы обращают внимание на эффективность клонального микроразмножения в зависимости от генотипа, типа и происхождения экспланта, длительности культивирования и ряда других факторов [9, 10, 11].

Одной из важнейших проблем при разработке и использовании различных клеточных технологий, в частности микроразмножения [12, 13], считают анализ генетической стабильности полученных в культуре *in vitro* растений [14, 15]. Культивирование растительных клеток, тканей и органов *in vitro* связано с рядом физиологических, эпигенетических и генетических изменений [16], приводящих к снижению регенерационного потенциала, появлению оводненных побегов, индукции соматической изменчивости и другим нежелательным при микроразмножении процессам [17, 18, 19].

Разные виды растений подвержены подобным изменениям в различной степени. Так, в исследованиях A.R. Parob с соавторами с использованием ISSR маркеров показано, что при микроразмножении *Ficus carica* полиморфизм находится на уровне 2,13 % [20]. При получении меристемных растений сахарного тростника частота полиморфизма для 98 локусов RAPD составила 6,93 % [21], при микроразмножении *in vitro* 14 образцов *Dictyospermum ovalifolium* – 3,92 %, что указывает на наличие геномной изменчивости, хотя и низкого уровня [18]. В нескольких работах с клубникой показано, что микрорастения, полученные с использованием культуры ткани *in vitro*, более подвержены генетическим вариациям в полевых условиях, по сравнению с размножаемыми обычным способом [22, 23].

Вариации, индуцированные в процессе культивирования *in vitro*, можно определить на морфологическом, цитологическом, биохимическом и молекулярном уровнях с использованием разных методов, например, изоферментного анализа. Однако при его использовании существует ряд ограничений, в частности, этот метод позволяет определять изменения только в белок кодирующих последовательностях, существует зависимость от модифицирующих условий среды и онтогенетических изменений [24].

Поэтому наиболее стабильные характеристики растительного материала, пригодные для идентификации генотипов, в том числе их вероятного отклонения при субкультивировании, обеспечивает только анализ ДНК. В связи с этим в ходе микроразмножения *in vitro* целесообразно осуществлять скрининг генетической однородности с использованием современных молекулярных методов [16]. Для решения этой задачи интересны и, по мнению ряда ученых, наиболее информативны многокомпонентные маркерные системы, к числу которых относят Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) и Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) маркеры [25]. Изменения в RAPD/ISSR-профиле могут быть вызваны потерей/приобретением бэнда при отжиге из-за точечных мутаций, вставкой или удалением последовательностей или транспозицией элементов [21, 26].

Цель исследования – оценить генетическую стабильность сортов лаванды узколистной при длительном клональном микроразмножении с использованием RAPD и ISSR маркеров.

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

Праймер	Нуклеотидная последовательность праймера (5'→3')	Температура отжига, °C
RAPD		
OPA 10	GTGATCGCAG	32,0
OPO 13	GTCAGAGTCC	32,0
ISSR		
HB 13	(GAG) ₃ GC	38,0
HB 15	(GTG) ₃ GC	38,0
ISSR 1	(GAC) ₆	52,8
ISSR 2	(GTG) ₆ A	57,0
ISSR 3	(GTG) ₆ T	57,0

Методика. Работу проводили в Научно-исследовательском институте сельского хозяйства Крыма. В качестве материала для исследования выбраны три сорта лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) селекции института – Вдала, Синева, Степная. Биологическими объектами служили исходные растения, выращенные в условиях зарытого грунта, а также микрорастения, размноженные *in vitro* после 6 и 16 субкультивирований.

При клональном размножении *in vitro* лаванды использовали ранее разработанную методику [8, 9]. Эксплантами служили меристемы с 2-мя листовыми примордиями (0,3...0,4 мм), которые культивировали на модифицированной среде Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением 1,0 мг/л кинетина и 0,5 мг/л гибберелловой кислоты (ГК₃) (Sigma, США). При дальнейшем размножении использовали сегменты стебля с узлом (5...7 мм), полученные при микрочеренковании микропобегов, которые культивировали на среде МС с 0,5 мг/л кинетина и 0,1 мг/л ГК₃. Микрочеренкование проводили каждые 30...35 сут. Экспланты культивировали при 24...26 °C, относительной влажности воздуха 70 %, освещенности 2...3 клк с 16-часовым фотопериодом. В конце цикла выращивания определяли длину и число побегов, количество узлов на побеге и другие параметры. При определении коэффициента размножения количество образующихся на экспланте побегов умножали на

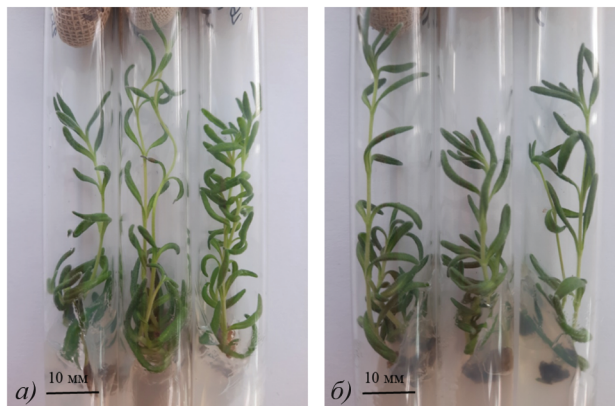


Рис. 1. Микропобеги лаванды сорта Степная, полученные после 6 (а) и 16 (б) субкультивирований при микроразмножении *in vitro*.

Табл. 2. Влияние количества субкультивирований и сорта на развитие экплантов на 2-м этапе клонального микроразмножения лаванды узколистной

Сорт	Число субкультивирований	Число побегов, шт./эксплант	Длина побега, мм	Количество узлов, шт./побег	Коэффициент размножения
	16	2,0±0,2	22,4±2,0	3,1±0,3	6,3±0,6
Синева	6	2,9±0,4	13,9±1,4	2,6±0,2	7,8±0,7
	16	2,3±0,3	19,7±1,7	3,2±0,3	7,4±0,8
Степная	6	1,7±0,2	18,5±1,5	3,0±0,3	5,1±0,5
	16	1,3±0,2	26,7±2,2	3,9±0,3	5,0±0,6

число узлов на побеге. Опыты проведены в 3-х кратной повторности, в каждом варианте анализировали не менее 20 экплантов.

Геномную ДНК экстрагировали из листьев растений лаванды адаптированным СТАВ методом [27, 28, 29]. В работе использовали 2 RAPD и 4 ISSR праймера (Евроген, Россия) (табл. 1), отобранных по литературным данным [25, 30]. При постановке ПЦР использовали TaqDNA Polymerase (QiaGen, Германия).

Аmplification проводили на амплификаторе С1000 (Bio-Rad, США) при следующих условиях: 1 цикл – денатурация при 94 °С – 3 мин.; 35 циклов – 94 °С – 30 с, отжиг – 32...60 °С – 30 с, элонгация – 72 °С – 1 мин; 1 цикл – дорепликация, 72 °С – 10 мин.

Табл. 3. Характеристики RAPD- и ISSR-полиморфизма в исследованной выборке сортов лаванды и их потомства при микроразмножении (количество образцов n = 9)

Молекулярный маркер	Число ампликонов, шт.			Полиморфизм, %	Длина амплифицированных фрагментов, п.н.	
	все-го	моно-морфных	поли-морфных		min	max
OPO 10	6	1	5	83,3	728	1846
OPO 13	8	1	7	87,5	463	1514
HB 13	10	2	8	88,9	430	2177
HB 15	7	2	5	71,4	422	1069
ISSR 1	12	7	5	41,7	407	1588
ISSR 2	7	2	5	71,4	564	1192
ISSR 3	12	7	5	41,7	378	2008

Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 2,0 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. В качестве буферной среды геля использовали трис-ЭДТА – боратно-буферную систему – 0,09 М Трис, 0,09 М H₃BO₃, 0,003 М ЭДТА (pH 8,3) [31].

Визуализацию продуктов ПЦР осуществляли на трансиллюминаторе ТСП-20 МС с последующим фотографированием гелей. В качестве маркера для определения размеров амплифицированных фрагментов использовали ДНК маркер Step 100 Long. Все ПЦР реакции осуществляли 2 раза в независимых экспериментах.

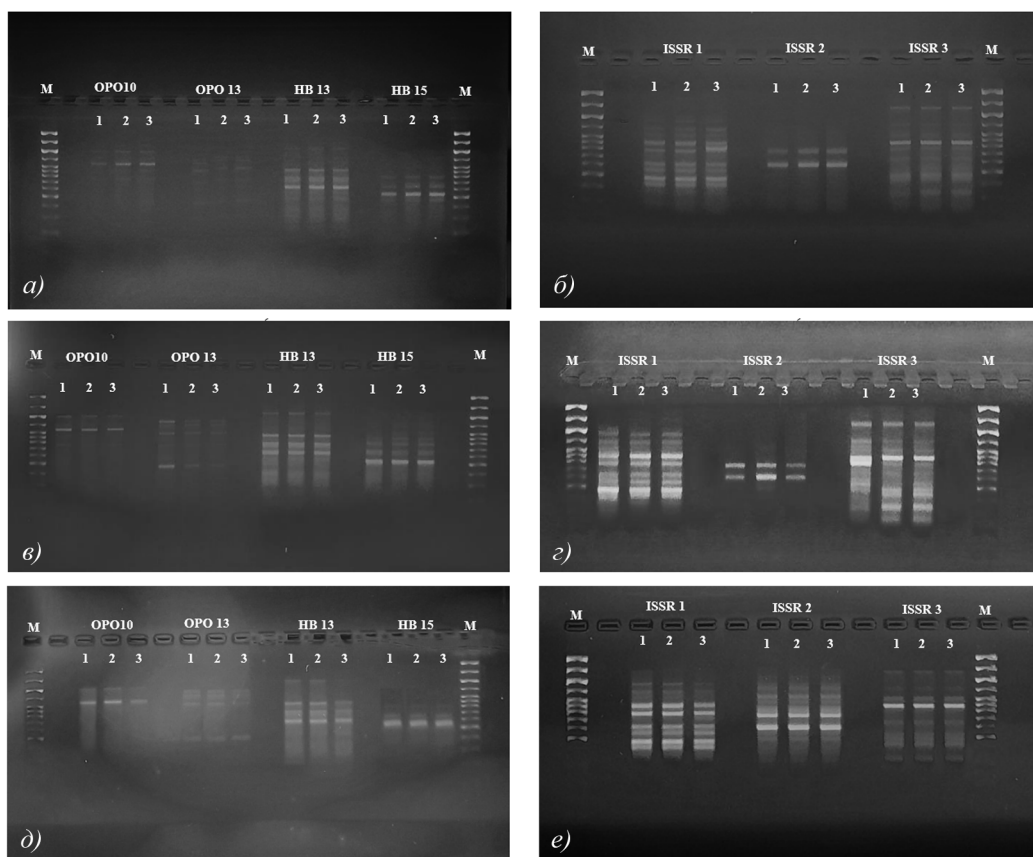


Рис. 2. Электрофореграммы генетических профилей сортов лаванды Вдала (а, б), Синева (в, з) и Степная (д, е) с использованием RAPD и ISSR маркеров: М – маркер молекулярной массы, 1 – растение исходного сорта, 2 – микропобеги после 6 субкультивирований, 3 – микропобеги после 16 субкультивирований.

Расчет молекулярной массы продуктов амплификации проводили с помощью программы GelAnalyzer.

Регистрацию результатов ПЦР-анализов осуществляли путем построения бинарных матриц по каждому локусу, в которых указывали «присутствие» (1) или «отсутствие» (0) фрагментов с одинаковой молекулярной массой на электрофореграмме. Построение дендрограммы осуществляли в программе STATISTICA 10 на основании бинарной матрицы: метод объединения – UPGMA, мера близости – эвклидово расстояние.

Результаты и обсуждение. При введении меристем лаванды в асептическую культуру наблюдали формирование основного побега и дополнительных почек и побегов. Для дальнейшего размножения проводили микрочеренкование полученных побегов и переносили их на свежую питательную среду. При микроразмножении лаванды можно использовать как микрочеренкование побегов, так и индукцию множественного побегообразования, что позволяет повысить коэффициент размножения [9]. На втором этапе клонального микроразмножения при культивировании микрочеренков из них развивались 1...2 пазушных и адвентивных микропобега длиной 13,2...26,7 мм. Ранее было показано, что у сортов *L. angustifolia* при микроразмножении в

течение 9-и субкультивирований количество побегов и коэффициент размножения увеличивались к 3...4-му субкультивированию, а затем наблюдалась некоторая стабилизация этих параметров [4]. В рассматриваемом эксперименте использовали более длительное микроразмножение, вплоть до 16-и субкультивирований. Результаты исследования свидетельствуют, что в пределах одного сорта достоверные различия между микропобегами после 6 и 16 субкультивирований по основным параметрам (количество и длина побегов, число узлов на побеге и коэффициент размножения) отсутствуют (табл. 2). При визуальном анализе по морфологии микропобеги одного сорта разных сроков культивирования также между собой не отличались (рис. 1). Это свидетельствует о возможности достаточно длительного (почти 2 года) микроразмножения лаванды без снижения основных параметров развития меристемных культур.

Важнейшая задача при микроразмножении *in vitro* – сохранение генотипа исходных сортов, которое можно подтвердить методом анализа ДНК. С использованием многокомпонентных маркерных систем на изученной выборке генотипов амплифицировалось от 6 (ОРО 10) до 12 (ISSR 1 и 3) фрагментов. С использованием 7 маркеров идентифицировано наличие

Табл. 4. Генотипирование сортов лаванды и растений, полученных при микроразмножении *in vitro*

Вдала			Синева			Степная		
исходный	6 субкультивирований	16 субкультивирований	исходный	6 субкультивирований	16 субкультивирований	исходный	6 субкультивирований	16 субкультивирований
ОРО 10								
1846, 1576, 1065, 880, 728	1846, 1576, 1065, 880, 728	1846, 1576, 1065, 880, 728	1576, 1207, 1065, 879, 728	1576, 1207, 1065, 879, 728	1576, 1207, 1065, 879, 728	1576, 1065	1576, 1065	1576, 1065
ОРО 13								
1220, 1090, 730, 590, 463	1220, 1090, 730, 590, 463	1220, 1090, 730, 590, 463	1373, 1220, 1090, 999, 730, 463	1373, 1220, 1090, 999, 730, 463	1373, 1220, 1090, 999, 730, 463	1514, 1373, 1090, 590	1514, 1373, 1090, 590	1514, 1373, 1090, 590
НВ 13								
1843, 1001, 750, 662, 590, 515, 430	1843, 1001, 750, 662, 590, 515, 430	1843, 1001, 750, 662, 590, 515, 430	1843, 1001, 814, 750, 662, 590, 515	1843, 1001, 814, 750, 662, 590, 515	1843, 1001, 814, 750, 662, 590, 515	2177, 1001, 879, 814, 750	2177, 1001, 879, 814, 750	2177, 1001, 879, 814, 750
НВ 15								
788, 654, 479, 422	788, 654, 479, 422	788, 654, 479, 422	1069, 937, 788, 654, 560	1069, 937, 788, 654, 560	1069, 937, 788, 654, 560	937, 788, 654	937, 788, 654	937, 788, 654
ISSR 1								
1588, 1401, 1148, 1001, 836, 735, 591, 539, 498, 445, 407	1588, 1401, 1148, 1001, 836, 735, 591, 539, 498, 445, 407	1588, 1401, 1148, 1001, 836, 735, 591, 539, 498, 445, 407	1401, 1148, 836, 735, 591, 539, 498, 445	1401, 1148, 836, 735, 591, 539, 498, 445	1401, 1148, 836, 735, 591, 539, 498, 445	1401, 1148, 1001, 836, 735, 638, 591, 539, 498	1401, 1148, 1001, 836, 735, 638, 591, 539, 498	1401, 1148, 1001, 836, 735, 638, 591, 539, 498
ISSR 2								
743, 596	743, 596	743, 596	743, 596	743, 596	743, 596	1192, 979, 883, 743, 701, 596, 564	1192, 979, 883, 743, 701, 596, 564	1192, 979, 883, 743, 701, 596, 564
ISSR 3								
2008, 1322, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 415	2008, 1322, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 415	2008, 1322, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 415	1854, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415, 378	1854, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415, 378	1854, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415, 378	1891, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415	1891, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415	1891, 1140, 927, 810, 682, 577, 482, 458, 415

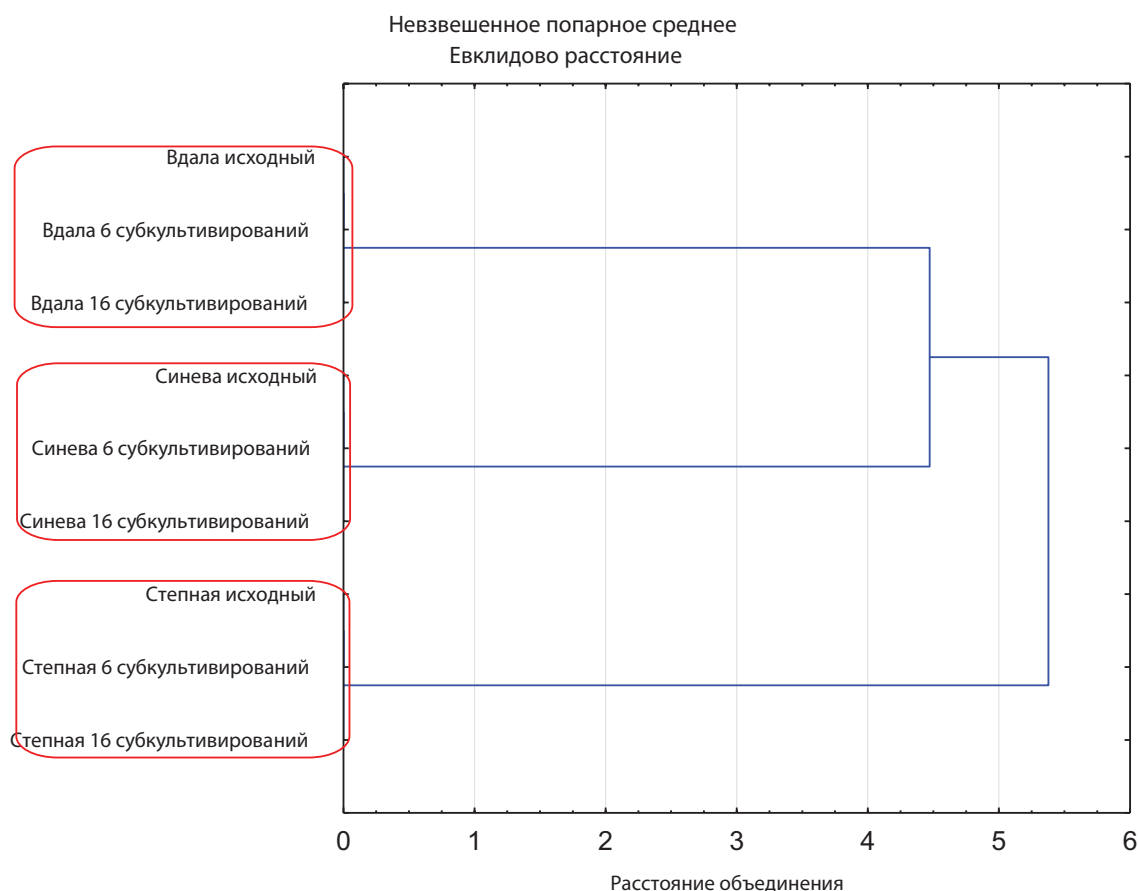


Рис. 3. Дендрограмма 9 образцов лаванды на основе данных, полученных в ходе ПЦР-анализа.

62 локусов, из которых доля полиморфных ампликонов варьировала от 41,7 % для праймера ISSR 1 до 88,9 % для праймера НВ 13 (табл. 3). Длина амплифицированных фрагментов составляла от 378 до 2177 пар нуклеотидов.

Все используемые в работе праймеры оказались полиморфными, продукты амплификации надежно идентифицировали выбранные для исследования сорта лаванды (табл. 4). На основании этого сделано заключение о пригодности рассматриваемых многокомпонентных маркерных систем для оценки полиморфизма, в том числе возникающего при клональном микроразмножении.

Микропобеги сортов лаванды Вдала, Синева и Степная после 6 и 16 субкультивирования по генетическому профилю были идентичны исходному сорту (см. табл. 4, рис. 2). Так, количество амплифицированных бэндов и их длина у микроразмноженных растений не отличались от исходных. Например, для исходных и микроразмноженных в течении 6 и 16 субкультивирований растений сорта Вдала с используемыми в работе праймерами всего установлено 43 бэнда, Синева – 43, Степная – 39. Однако соотношение бэндов разной длины для каждого сорта было уникальным.

Аналогичные исследования проводят на разных культурах. Так, W. Al Khateeb с соавторами в своей работе [32] оценили генетическую стабильность при микроразмножении *Lavandula coronopifolia* Poir. и показали генетическое сходство между материнскими растениями и размноженными *in vitro* в течение

нескольких пассажей с использованием 15 ISSR маркеров. Генетическая стабильность между исходными сортами и размноженными *in vitro* установлена для *Thymus persicus* [33] с использованием 8 RAPD праймерами, *Capparis spinosa* L. и *Lavandula dentata* L. – с 15 RAPD праймерами [34].

Анализ дендрограммы, построенной с использованием бинарной матрицы и отражающей взаимоотношения между растениями лаванды исходных сортов и размноженными *in vitro* свидетельствует, что внутри каждой группы, получаемой в результате разделения объектов на кластеры, объекты более сходны между собой, чем с объектами из других групп (рис. 3). Исходные сорта Вдала, Синева и Степная не отделены на дендрограмме от образцов, полученных методом микроразмножения *in vitro* (представлены одной линией), что подтверждает их идентичность. Это еще раз наглядно отображает надежность разработанной методики клонального микроразмножения [8, 9].

Выводы. Используемые в работе доминантные многокомпонентные маркерные системы RAPD и ISSR надежно идентифицировали сорта лаванды крымской селекции. В результате исследования для изученных сортов (Вдала Степная и Синева) не установлены какие либо генетические изменения в ходе продолжительного микроразмножения *in vitro*.

Результаты исследований свидетельствуют о возможности длительного (как минимум, в течение 16 субкультивирований) клонального микроразмножения сортов лаванды узколистной. При этом в процессе размножения *in vitro* не происходило суще-

ственных изменений морфометрических параметров эксплантов и сохранялась генетическая стабильность изученных сортов.

Литература.

1. Эфирные масла и их качество / В. С. Папштейцкий, Л. А. Тимашева, О. А. Пехова и др. Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2021. 212 с.
2. The chromosome-based lavender genome provides new insights into Lamiaceae evolution and terpenoid biosynthesis / J. Li, Y. Wang, Y. Dong, et al. // *Horticulture Research*. 2021. Vol. 8. Article 53. URL: <https://academic.oup.com/hr/article/doi/10.1038/s41438-021-00490-6/6446685> (дата обращения: 1.06.2022). doi: 10.1038/s41438-021-00490-6.
3. Hamza A., El-Kafie O. A., Kasem M. Direct micropropagation of english lavender (*Lavandula angustifolia* Munstead) plant // *Journal of Plant Production*. 2011. Vol. 2. No. 1. P. 81–96. doi: 10.21608/jpp.2011.85464.
4. Morphogenetic, Physiological, and Biochemical Features of *Lavandula angustifolia* at Long-Term Micropropagation In Vitro / N. A. Yegorova, I. V. Mitrofanova, V. A. Brailko, et al. // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019. Vol. 66. No. 2. P. 326–334. doi: 10.1134/S1021443719010060.
5. Rapid and efficient protocol for clonal propagation of phenolic-rich *Lavandula multifida* / M. Zuzarte, A. M. Dinis, L. Salgueiro, et al. // *J. of Agricultural Science*. 2015. Vol. 7. No. 3. P. 8–17. doi:10.5539/jas.v7n3p8.
6. Micropropagation of lavender: a protocol for production of plantlets // J. Koefender, C. E. Manfio, J. N. Camera, et al. // *Horticultura Brasileira*. 2021. No. 39. P. 404–410. doi: 10.1590/s0102-0536-20210409.
7. Some morphophysiological features of lavender cultivar micropropagated in vitro by meristem culture / N. Yegorova, V. Brailko, I. Stavtzeva, et al. // *Agriculture & Forestry*. 2018. Vol. 64. No. 1. P. 105–111. doi: 10.17707/AgricForest.64.1.13.
8. Егорова Н. А., Ставцева И. В. Разработка биотехнологических приемов микроразмножения in vitro для *Lavandula angustifolia* Mill. // *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2015. № 54. С. 138–142.
9. Егорова Н. А. Биотехнология эфиромасличных растений: создание новых форм и микроразмножение in vitro: монография. Симферополь: Издательский дом «Автограф» (Екатеринбург), 2021. 315 с.
10. Micropropagation of *Lavandula angustifolia* Mill. 'Record' and 'Belyanka' / I. V. Mitrofanova, S. N. Chirkov, N. P. Lesnikova-Sedoshenko, et al. // *Acta Hort.* 2017. Vol. 1187. P. 37–42. doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1187.4.
11. Kara N., Baydar H. Effects of different explant sources on micropropagation in Lavender (*Lavandula* sp.) // *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2012. Vol. 15. No. 2. P. 250–255.
12. Применение биотехнологических методов в оздоровлении растений и размножении безвирусного посадочного материала перспективных цветочно-декоративных культур / О. В. Митрофанова, И. В. Митрофанова, Н. П. Лесникова-Седошенко и др. // *Сборник научных трудов ГНБС*. 2014. Т. 138. С. 5–56.
13. Cardoso J.C., Gerald L.T.S., Teixeira da Silva J.A. Micropropagation in the Twenty-First Century. In: *Plant cell culture protocols (4th edition) / eds.: V.M. Loyola-Vargas, N. Ochoa-Alejo*. New York: Humana Press, 2018. P. 17–46.
14. Teixeira da Silva J. A., Bolibok H., Rakoczy-Trojanowska M. Molecular markers in micropropagation, tissue culture and in vitro plant research, *Genes // Genomes and Genomics*. 2007. Vol. 1. No. 1. P. 66–72.
15. Butiuc-Keul A., Farkas A., Cristea V. Genetic Stability Assessment of in Vitro Plants by Molecular Markers // *Studia universitatis babeş-bolyai biologia*. 2016. Vol. LXI. No. 1. P. 107–114.
16. Venkatachalam L., Sreedhar RV, Bhagyalakshmi N. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers // *Electronic Journal of Biotechnology*. 2007. Vol. 10 No. 1. P. 106–113. doi: 10.4067/S0717-34582007000100010.
17. Технологии выращивания высококачественного посадочного материала плодовых и ягодных растений / Ю. В. Трунов, Ф. В. Соловьев, И. И. Козлова и др. Мичуринск: ООО «БИС», 2018. 246 с.
18. Assessment of genetic stability of in vitro grown *Dictyospermum ovalifolium* / M. Chandrika, S. Thoyajaksha, R Ravishankar, et al. // *Biologia Plantarum*. 2008. Vol. 52. No. 4. P. 735–739.
19. Influence of ventilation closure, gelling agent and explant type on shoot bud proliferation and hyperhydricity in *Scrophularia yoshimurae* – a medicinal plant / H.-S. Tsay, C.-Y. Lee, D. C. Agrawal, et al. // *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 2006. Vol. 42. No. 5. P. 445–449.
20. Parab A. R., Lynn C. B., Subramaniam S. Assessment of genetic stability on in vitro and ex vitro plants of *Ficus carica* var. black jack using ISSR and DAMD markers // *Mol Biol Rep*. 2021. Vol. 48. No. 11. P. 7223–7231. doi: 10.1007/s11033-021-06714-1.
21. Genetic instability of sugarcane plants derived from meristem cultures / M. I. Zucchi, H. Arizono, V. A. Morais, et al. // *Genetics and Molecular Biology*. 2002. Vol. 25. No. 1. P. 91–96.
22. Debnath S. C. Molecular approaches for monitoring clonal fidelity and epigenetic variation in in vitro-derived strawberry plants // *Acta Hort.* 2017. Vol. 115. P. 683–687.
23. In vitro propagation method for production of morphologically and genetically stable plants of different strawberry cultivars / A. H. Naing, S. H. Kim, M. Y. Chung, et al. // *Plant Methods*. 2019. Vol. 15. No. 36. URL: <https://plantmethods.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13007-019-0421-0> (дата обращения: 1.04.2022). doi: 10.1186/s13007-019-0421-0.
24. Chograni H., Zaouali Y., Boussaid M. Genetic diversity of natural Tunisian *Lavandula multifida* L. (*Lamiaceae*) populations assessed by allozymes and random amplification of polymorphic DNA (RAPD) // *African Journal of Biotechnology*. 2013. Vol. 12. No. 7. P. 648–657. doi: 10.5897/AJB12.1748.
25. Ahmed S. M., Al-Sodany Y. Authentication of Ecological, Biochemical and Molecular Features for Some *Lamiaceae* Species from Saudi Arabia // *Egypt. J. Bot*. 2019. Vol. 59. No. 3. P. 581–594. doi: 10.21608/ejbo.2019.6144.1246.
26. Peschke V. M., Phillips R. L., Gengenbach B. G. Genetic and molecular analysis of tissue-culture-derived *Ac* elements // *Theor. Appl. Genet*. 1991. Vol. 82. P. 121–129.

27. Doyle J. J. *Isolation of plant DNA from fresh tissue* // *Focus*. 1990. Vol. 12. P. 13–15.
28. 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: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2020. С. 177–179. doi: 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-90.
29. *An efficient DNA isolation method for tropical plants* / Q. X. Huang, X. C. Wang, H. Kong, et al. // *African Journal of Biotechnology*. 2013. Vol. 12. No. 19. P. 2727–2732.
30. Gadouche L., Saadi A., Zidane A. *Molecular polymorphism in dentate lavender from littoral Algerian* // *Journal Genetics and Biodiversity*. 2019. Vol. 3. No. 2. P. 40–48.
31. *Current protocols in molecular biology* / P. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, et al. New York: Wiley, 1997. 630 p.
32. Al Khateeb W., Kanaan R., El-Elimat T. *In vitro Propagation, Genetic Stability, and Secondary Metabolite Analysis of Wild Lavender (Lavandula coronopifolia Poir.)* // *Hortic. Environ. Biotechnol.* 2017. Vol. 58. No. 4. P. 393–405. doi: 10.1007/s13580-017-0342-7.
33. *In vitro propagation, genetic and phytochemical assessment of Thymus persicus – a medicinally important source of pentacyclic triterpenoids* / Z. Bakhtiar, M. H. Mirjalili, A. Sonboli, et al. // *Biologia*. 2014. Vol. 69. P. 594–603. doi: 10.2478/s11756-014-0346-z.
34. *Ex situ preservation for some endemic and rare medicinal plants in Taif, KSA* / Attia O. Attia, El Dessoky S. Dessoky, Yassin M. Al-Sodany, et al. // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2017. Vol. 31. No. 5. P. 912–920. doi: 10.1080/13102818.2017.1356690.

Поступила в редакцию 21.11.2022
После доработки 18.12.2022
Принята к публикации 10.01.2023