



Revista Industrial
y Agrícola de
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea
1851-3018

Tomo 104 (1):
1-6; 2027



ESTACION EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150
T4101XAC - Las Talitas.
Tucumán, Argentina.

Artículo Científico

Evaluación de la identidad genética de plantas micropropagadas de frutilla (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) mediante marcadores moleculares

S. Natalia Ovejero^{1,2}, M. Elena Díaz Micales^{1,2}, M. Paula Insaurrealde Rocco², Agustín E. Padilla², Andrea N. Peña Malavera², Aldo S. Noguera^{1,2} y M. Francisca Perera²

¹ Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Las Talitas, Tucumán, Argentina. ² Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANO), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CCT NOA Sur. Las Talitas, Tucumán, Argentina. Email: novejero@eeaoc.org.ar

RESUMEN

La micropropagación constituye una herramienta ampliamente utilizada para la multiplicación clonal de plantas de frutilla, debido a su capacidad para producir material vegetal genéticamente uniforme y con alta sanidad, particularmente cuando se combinan técnicas de cultivo *in vitro* con procedimientos de diagnóstico. Sin embargo, las condiciones del cultivo de tejidos pueden inducir variaciones somaclonales, por lo que resulta necesario evaluar la identidad genética de las plantas obtenidas. El objetivo de este trabajo fue evaluar, mediante marcadores moleculares ISSR (del inglés *Inter Simple Sequence Repeat*), la identidad genética de plantas micropropagadas de frutilla en comparación con sus correspondientes plantas madre. Las plantas fueron obtenidas mediante cultivo *in vitro* a partir de meristemas aislados de estolones jóvenes, multiplicadas en cuatro subcultivos y aclimatadas en invernadero. Se caracterizaron genéticamente 77 plantas micropropagadas de las variedades Albión, Fronteras y San Andreas, junto con seis plantas madre, utilizando cuatro marcadores ISSR. Los perfiles moleculares fueron analizados mediante SAGA *Generation 2* y transformados en matrices binarias para estimar la similitud genética mediante el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento de Ward. Los cuatro marcadores generaron un total de 189 bandas reproducibles. Las plantas micropropagadas presentaron una similitud genética superior al 95% respecto de sus correspondientes plantas madre y se agruparon de acuerdo con su origen varietal. En las condiciones evaluadas, no se detectaron variaciones en los perfiles moleculares que pudieran asociarse con cambios somaclonales mediante los marcadores moleculares utilizados. Estos resultados indican que el protocolo de micropropagación implementado en la Sección Biotecnología de la EEAOC permitió mantener la identidad genética del material vegetal evaluado.

Palabras clave: variación somaclonal; ISSR; cultivo de tejidos; identidad genética.

ABSTRACT

Evaluation of the genetic identity of micropropagated strawberry plants (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) using molecular markers

Micropropagation is a widely used tool for the clonal propagation of strawberry plants due to its ability to produce genetically uniform and highly sanitary plant material, particularly when *in vitro* culture techniques are combined with diagnostic procedures. However, tissue culture conditions may induce somaclonal variation, making it necessary to evaluate the genetic identity of the plants obtained. The aim of this study was to evaluate, using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) molecular markers, the genetic identity of micropropagated strawberry plants in comparison with their corresponding mother plants. The plants were obtained through *in vitro* culture from meristems isolated from young runners, multiplied through four subcultures, and acclimatized under greenhouse conditions. A total of 77 micropropagated plants belonging to the cultivars Albion, Fronteras, and San Andreas, together with six mother plants, were genetically characterized using four

Fecha de
recepción:
12/08/2026

Fecha de
aceptación:
28/09/2026

ISSR markers. Molecular profiles were analyzed using SAGA *Generation 2* and transformed into binary matrices to estimate genetic similarity using the Jaccard coefficient and Ward's clustering method. The four markers generated a total of 189 reproducible bands. The micropropagated plants showed genetic similarity values higher than 95% relative to their corresponding mother plants and clustered according to their varietal origin. Under the conditions evaluated, no variations in the molecular profiles that could be associated with somaclonal changes were detected using the molecular markers employed. These results indicate that the micropropagation protocol implemented in the Biotechnology Section of EEAOC allowed the genetic identity of the evaluated plant material to be maintained.

Key words: somaclonal variation; ISSR; tissue culture; genetic identity.

■ INTRODUCCIÓN

La frutilla (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) constituye uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia económica a nivel mundial debido a su elevado valor comercial, calidad organoléptica y propiedades nutricionales (Hernández-Martínez *et al.*, 2023). La creciente demanda de material vegetal de alta calidad ha impulsado el desarrollo de sistemas de propagación que permitan obtener plantas uniformes, sanas y con las características agronómicas propias de cada variedad (Hernández-Martínez *et al.*, 2023).

La micropropagación mediante cultivo de tejidos se ha consolidado como una herramienta eficiente para la multiplicación clonal de genotipos *élite*, permitiendo producir grandes cantidades de plantas libres de patógenos en un período relativamente corto. La utilización de meristemas como explantes iniciales favorece la obtención de plantas uniformes y constituye una alternativa eficiente para la rápida multiplicación de materiales seleccionados. Esta metodología es, además, la base de numerosos programas de producción comercial de plantines (Debnath & Teixeira da Silva, 2007; Debnath, 2013). Sin embargo, durante el proceso de cultivo *in vitro* pueden producirse modificaciones genéticas conocidas como variación somaclonal (Larkin & Scowcroft, 1981). Estas alteraciones pueden originarse como consecuencia del estrés fisiológico asociado al cultivo de tejidos, la acción de reguladores de crecimiento, las condiciones de cultivo o el número de subcultivos realizados (Bairu *et al.*, 2011). Como resultado, las plantas micropropagadas podrían presentar diferencias genéticas respecto de la planta madre original, comprometiendo la uniformidad del material propagado y, en consecuencia, su valor comercial.

La evaluación de la identidad genética constituye, por lo tanto, un aspecto fundamental dentro de los programas de micropropagación vegetal. Verificar que las plantas obtenidas conservan la identidad genética del material de origen permite evaluar la estabilidad de las características propias de cada variedad y contribuir al control de calidad del material destinado a su multiplicación y posterior utilización en el sistema productivo (Debnath, 2013; Aravanopoulos, 2003). En este contexto, los marcadores moleculares representan una de las herramientas más confiables para detectar posibles variaciones genéticas, ya que permiten evaluar directamente el ADN de las plantas, independientemente

de la influencia del ambiente o del estado de desarrollo del material vegetal (Aravanopoulos, 2003; Kumar *et al.*, 2018). Diversos sistemas de marcadores moleculares han sido utilizados para evaluar la estabilidad genética en plantas micropropagadas *in vitro*, entre ellos RAPD, AFLP, SSR e ISSR. La elección de la metodología depende del objetivo del estudio y del nivel de resolución requerido (Debnath, 2013). En particular, los marcadores moleculares ISSR constituyen una herramienta ampliamente utilizada para este tipo de análisis debido a su elevada reproducibilidad y a su capacidad para cubrir diferentes regiones del genoma sin requerir información previa de la secuencia. Estas características los convierten en una alternativa apropiada para la evaluación de la estabilidad genética en especies propagadas mediante cultivo de tejidos (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Bornet & Branchard, 2001; Kumar *et al.*, 2018). En frutilla, los marcadores moleculares ISSR han sido utilizados para evaluar la estabilidad genética y la identidad clonal de plantas micropropagadas (Debnath, 2013).

Considerando que la micropropagación constituye una herramienta estratégica para la producción de plantas de frutilla destinadas a programas de multiplicación clonal, resulta necesario verificar que el proceso de cultivo de tejidos no genere alteraciones genéticas que comprometan la identidad varietal del material obtenido. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la estabilidad genética de plantas de tres cultivares comerciales de frutilla obtenidos por micropropagación *in vitro*, utilizando marcadores moleculares ISSR a fin de analizar su identidad genética.

■ MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se evaluaron plantines micropropagados de frutilla (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) pertenecientes a las variedades comerciales Albión, Fronteras y San Andreas, obtenidos mediante cultivo *in vitro* en la Sección Biotecnología de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). Para ello, se colectaron muestras de hojas de 89 plantas, de las cuales 83 correspondieron a plantas micropropagadas pertenecientes a diferentes líneas clonales (se seleccionó aproximadamente una planta cada 10 individuos micropropagados producidos por línea). Las muestras de los plantines fueron colectadas en invernadero

ro durante la etapa de aclimatación, luego de completar el cuarto subcultivo (M4). Como referencia se utilizaron seis plantas madre (dos plantas por variedad) (Tabla 1). El tejido foliar colectado fue transportado refrigerado al laboratorio y almacenado en ultrafreezer hasta su procesamiento.

Tabla 1. Material vegetal utilizado para el análisis de pureza genética.

Variedad	Nombre de línea evaluada	N° de plantas micropropagadas/línea	N° plantas evaluadas/línea	N° Plantas madre
Albi6n	7	108	12	2
	8	101	10	
Fronteras	6	43	4	2
	8	79	8	
	9	76	7	
	10	13	2	
San Andreas	11	35	3	2
	9	102	10	
	11	185	18	
	12	63	6	
	14	27	3	
Total	11	832	83	6

Extracción y evaluación del ADN

El ADN genómico total se obtuvo a partir del tejido foliar, previamente molido con nitr6geno líquido utilizando un protocolo de extracción con CTAB basado en los métodos de Doyle y Doyle (1987) y Rogers y Bendich (1988), optimizado en el laboratorio de Biotecnología de la EEAOC para este cultivo. La calidad e integridad del ADN se evaluaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1 %. Las muestras se visualizaron con GelRed bajo luz ultravioleta. La concentración del ADN de las muestras fue estimada por comparación visual con un marcador de peso molecular de concentración conocida. A partir de estas concentraciones se prepararon diluciones de trabajo de aproximadamente 10 ng μL^{-1} para las reacciones de amplificación.

Amplificación mediante marcadores ISSR

La caracterización molecular se realizó utilizando cuatro marcadores ISSR previamente empleados en estudios de diversidad y variabilidad genética vegetal (Tabla 2). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 5 μL , utilizando una mezcla optimizada que contenía tamp6n para Taq ADN polimerasa (1X),

MgCl₂ (2,5 mM), Taq ADN polimerasa (0,1 U; Invitrogen™, Life Technologies), cebador ISSR (1 μM), dATP, dTTP y dGTP (0,088 mM cada uno), dCTP (0,072 mM), Cy5-dCTP (0,8 μM ; GE Healthcare Life Sciences) y aproximadamente 10 ng de ADN molde.

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador BioRad. El programa consistió en una desnaturalización inicial de 94°C durante 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 94°C durante 30 segundos, temperatura de hibridación específica para cada cebador durante 1 minuto y extensión a 72°C durante 2 minutos, finalizando con una extensión de 72°C durante 5 minutos.

Separación electroforética y análisis de datos

Los productos de amplificación se separaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida desnaturalizantes utilizando un equipo LI-COR DNA Analyzer 4300. Las imágenes obtenidas se analizaron mediante el software SAGA Generation 2, a partir del cual se obtuvo una matriz de presencia/ausencia de bandas expresada mediante los símbolos “+” y “-”. Esta matriz fue posteriormente recodificada a valores binarios (1 = presencia; 0 = ausencia) para estimar la similitud genética entre los genotipos mediante el coeficiente de Jaccard, y los dendrogramas se construyeron utilizando el método de agrupamiento de Ward (Sneath & Sokal, 1973) y el software R.

Para la evaluación de la pureza genética se consideró como criterio de aceptación una similitud igual o superior al 95% respecto de las correspondientes plantas madres.

RESULTADOS

Inicialmente se seleccionaron 83 plantas micropropagadas y 6 plantas madre, pertenecientes a las variedades Albi6n, Fronteras y San Andreas, totalizando 89 muestras (Tabla 1). Durante el procesamiento de los datos, 6 plantas micropropagadas no generaron perfiles moleculares reproducibles, por lo que fueron excluidas de los análisis posteriores. En consecuencia, la evaluación de la pureza genética se realizó sobre 83 muestras, correspondientes a 77 plantas micropropagadas y 6 plantas madre.

Los cuatro marcadores moleculares ISSR utilizados generaron un total de 189 bandas reproducibles para los 83 individuos evaluados, distribuidas de la siguiente manera: 49 bandas para ISSR9, 42 para ISSR11, 58 para ISSR15 y 40 para ISSR17 (Tabla 2). El porcentaje de polimorfismo obtenido para cada marcador y para el conjunto de marcadores se presenta en la Tabla 3.

El análisis de similitud genética, realizado me-

Tabla 2. Marcadores ISSR utilizados para la evaluación de la pureza genética en plantas micropropagadas de frutilla.

Marcador molecular Secuencia (5'-3')	Temperatura de hibridación (°C)	Bandas reportadas/Reproducibles obtenidas	Referencia Bibliográfica
ISSR9 (ACA) ₈ G	48,0	22/49	Debnath <i>et al.</i> (2008)
ISSR11 (GATA) ₄	46,5	20/42	
ISSR15 (GAG) ₆ C	57,0	24/58	Tikunov <i>et al.</i> (2003)
ISSR17 (GAA) ₆	51,0	14/40	Arnau <i>et al.</i> (2003)

Tabla 3. Características de los perfiles obtenidos con los marcadores ISSR utilizados para la evaluación de la pureza genética.

Marcador	Bandas reproducibles	Bandas polim6rficas	Polimorfismo (%)
ISSR9	49	19	38,8
ISSR11	42	17	40,5
ISSR15	58	19	32,8
ISSR17	40	13	32,5
Total	189	68	35,98

diante el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento de Ward, mostró que las líneas evaluadas se agruparon junto con su planta madre correspondiente (Albién, Fronteras y San Andreas), conformando tres grupos principales (Figura 1). Dentro de cada grupo, las diferentes líneas mantuvieron elevados niveles de similitud genética. Los valores de similitud genética observados entre los genotipos de cada variedad se presentan en la Tabla 4.

Todas las plantas micropropagadas analizadas presentaron valores de similitud genética superiores al 95% respecto de sus correspondientes plantas madre, superando el umbral establecido como criterio de acep-

tación para los estudios de pureza genética desarrollados en la Sección Biotecnología (distancia genética $\leq 0,05$).

DISCUSIÓN

En las condiciones evaluadas, las plantas micropropagadas de las variedades Albién, Fronteras y San Andreas conservaron una elevada estabilidad genética respecto de sus correspondientes plantas madre. La agrupación de los genotipos de acuerdo con su origen varietal y los elevados niveles de similitud observados son consistentes con antecedentes de evaluación de estabilidad genética en frutilla mediante marcadores moleculares. Debnath *et al.* (2008) informaron elevados niveles de similitud genética entre genotipos de frutilla utilizando marcadores ISSR. Asimismo, Sen y Dhawan (2010) observaron perfiles monomórficos entre plantas micropropagadas de la variedad Chandler y sus correspondientes plantas madre, incluso luego de numerosos subcultivos, mientras que Gantait *et al.* (2010) no detectaron polimorfismos entre plantas micropropagadas y plantas propagadas conven-

Tabla 4. Valores mínimo, medio y máximo de similitud genética entre los individuos de cada variedad.

Variedad	Nº individuos	Similitud (%)		
		mínima	media	máxima
Albién	24	98,0	98,9	100,0
Fronteras	23	98,0	98,9	100,0
San Andreas	36	96,0	98,9	100,0

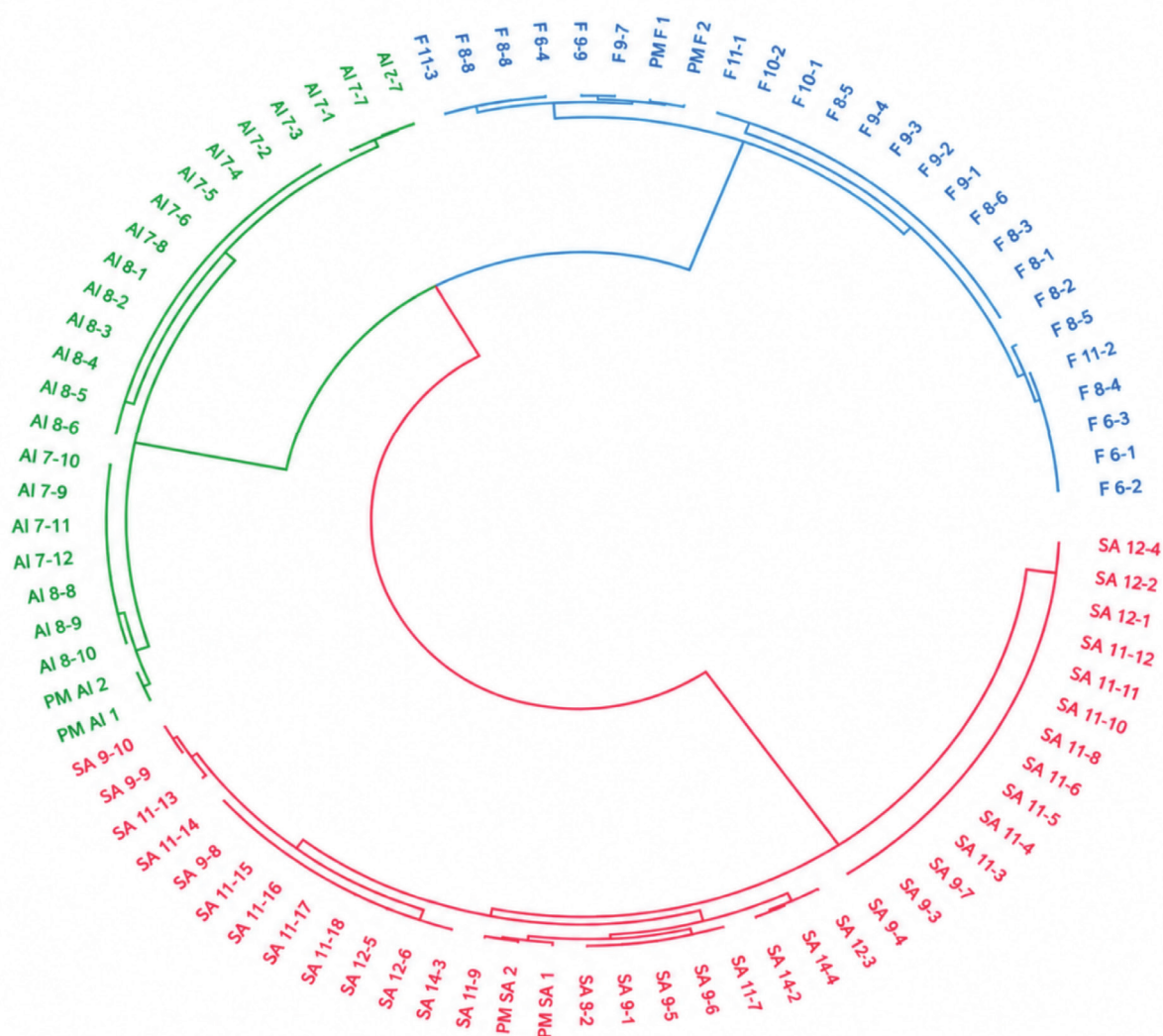


Figura 1. Dendrograma circular construido a partir de las similitudes genéticas derivadas del coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento de Ward para los 83 individuos analizados, correspondientes a 77 plantas micropropagadas y seis plantas madre. Los diferentes colores identifican los grupos correspondientes a las variedades Albién, Fronteras y San Andreas.

cionalmente. En conjunto, estos antecedentes son concordantes con la estabilidad genética observada en las plantas analizadas en el presente estudio.

La estabilidad genética observada podría estar relacionada con las características del protocolo de micropropagación empleado. La frecuencia de variación somaclonal puede depender de diversos factores, entre ellos el genotipo, el tipo de explante, la composición del medio de cultivo, la concentración de reguladores de crecimiento, el número de subcultivos y el tiempo de permanencia del material en condiciones *in vitro* (Larkin & Scowcroft, 1981; Bairu *et al.*, 2011). En frutilla, Debnath (2013) señala que la utilización de protocolos de micropropagación adecuadamente estandarizados favorece el mantenimiento de la estabilidad genética durante la propagación clonal. Asimismo, Hashemi-Petroudi *et al.* (2018) observaron una menor frecuencia de variación somaclonal en plantas regeneradas a partir de meristemas. En este sentido, el protocolo implementado en la Sección Biotecnología de la EEAOC utiliza meristemas aislados de estolones jóvenes como explantes iniciales y contempla la evaluación del material luego de completar el proceso de micropropagación y la etapa de aclimatación, características que podrían haber contribuido a la estabilidad genética observada.

La cantidad de bandas reproducibles obtenidas en el presente estudio difirió de la informada en los trabajos de referencia para los mismos cebadores (Tabla 2). Estas diferencias pueden estar relacionadas con las características particulares de cada ensayo, incluyendo el material vegetal analizado, el número y origen de los genotipos evaluados, las condiciones de amplificación y, particularmente, el sistema empleado para la separación y detección de los productos de PCR. En el presente estudio, los productos de amplificación fueron separados mediante electroforesis en geles de poliacrilamida desnaturalizantes y detectados mediante fluorescencia utilizando un sistema LI-COR DNA Analyzer 4300, lo que podría haber contribuido a la detección de un mayor número de bandas reproducibles en comparación con los valores informados en los trabajos de referencia. Para ISSR9, ISSR11, ISSR15 e ISSR17 se registraron 49, 42, 58 y 40 bandas reproducibles, respectivamente, mientras que en los trabajos citados en la Tabla 2 se informaron 22, 20, 24 y 14 bandas, respectivamente. Estas diferencias no necesariamente implican diferencias en la capacidad intrínseca de los cebadores para detectar polimorfismos, sino que pueden reflejar las condiciones experimentales y, en particular, el sistema de separación y detección utilizado. En el presente estudio, las diferencias se expresan en términos de bandas reproducibles, ya que los perfiles ISSR no permiten asignar cada banda a un locus específico sin una caracterización adicional.

La utilización de cuatro marcadores moleculares ISSR permitió evaluar múltiples regiones del genoma y detectar diferencias entre los perfiles moleculares de los genotipos analizados. La presencia de bandas polimórficas en el conjunto de genotipos analizados indica que los cebadores utilizados fueron capaces de detectar variabilidad genética en el material evaluado; sin embargo, dicha variabilidad no se tradujo en diferencias que comprometiesen la identidad genética de las plantas micropropagadas respecto de sus correspondientes plantas madre. En este sentido, los marcadores moleculares ISSR constituyen

una herramienta útil para el control de la pureza genética, aunque su capacidad de detección está condicionada por las regiones del genoma que son amplificadas. Por ello, la ausencia de diferencias detectables mediante los marcadores empleados no permite descartar completamente la existencia de cambios genéticos puntuales o modificaciones epigenéticas fuera de las regiones evaluadas. Debnath (2017) señala que la evaluación de la identidad genética puede complementarse mediante la combinación de diferentes sistemas de marcadores moleculares o mediante herramientas de secuenciación cuando se requiere una caracterización más exhaustiva.

CONCLUSIONES

En las condiciones evaluadas, el proceso de micropropagación empleado permitió mantener la identidad genética de las plantas de frutilla de las variedades Albión, Fronteras y San Andreas durante la micropropagación *in vitro* y su posterior etapa de aclimatación.

Los marcadores moleculares ISSR utilizados constituyeron una herramienta útil para la evaluación molecular de las plantas micropropagadas y aportaron evidencia para el control de calidad del material vegetal destinado a programas de multiplicación clonal.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Aravanopoulos, F. A. (2003).** Molecular identification of micropropagated plants. *Acta Horticulturae*, 616, 25–47.
- Arnau, G., Lallemand, J., & Bourgoïn, M. (2003).** Fast and reliable strawberry cultivar identification using inter simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Euphytica*, 129(1), 69–79. <https://doi.org/10.1023/A:1021509206584>
- Bairu, M. W., Aremu, A. O., & Van Staden, J. (2011).** Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regulation*, 63(2), 147–173. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9554-x>
- Bornet, B., & Branchard, M. (2001).** Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(3), 209–215.
- Debnath, S. C. (2013).** Propagation strategies and genetic fidelity in strawberries. *International Journal of Fruit Science*, 13(1–2), 3–18. <https://doi.org/10.1080/15538362.2012.696520>
- Debnath, S. C. (2017).** Molecular approaches for monitoring clonal fidelity and epigenetic variation in *in vitro*-derived strawberry plants. In: *VIII International Strawberry Symposium*. *Acta Horticulturae*, 1156, 83–87. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1156.11>
- Debnath, S. C., Khanizadeh, S., Jamieson, A. R., & Kempler, C. (2008).** Inter simple sequence repeat (ISSR) markers to assess genetic diversity and relatedness within strawberry genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 88(2), 313–322. <https://doi.org/10.4141/CJPS07088>
- Debnath, S. C., & Teixeira da Silva, J. A. (2007).**

Strawberry culture *in vitro*: applications in genetic transformation and biotechnology. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 1(1), 1–12.

Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), 11–15.

Gantait, S., Mandal, N., & Das, P. K. (2010). Field Performance and Molecular Evaluation of Micropropagated Strawberry. *Recent Research in Science and Technology*, 2(5), 12–16.

Hashemi-Petroudi, S. H., Ghasemi, Y., & Haghpanah, M. (2018). Detection of somaclonal variation in plants regenerated from different tissues of strawberry (*Fragaria × ananassa*) using ISSR marker. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 7(2), 65–72. <https://doi.org/10.30479/ijgpb.2019.10481.1241>

Hernández-Martínez, N. R., Blanchard, C., Wells, D., & Salazar-Gutiérrez, M. R. (2023). Current state and future perspectives of commercial strawberry production: A review. *Scientia Horticulturae*, 317, 112082. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112082>

Kumar, T., Singh, R. S., Kumar, S., & Pal, A. K. (2018). Molecular Markers for Genetic Fidelity Assay of Tissue Cultured Crops. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 31(3), 1–9. DOI: 10.9734/

CJAST/2018/45978.

Larkin, P. J., & Scowcroft, W. R. (1981). Somaclonal variation: a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 60, 197–214.

Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1988). Extraction of DNA from plant tissues. In S. B. Gelvin, R. A. Schilperoort, & D. P. S. Verma (Eds.), *Plant Molecular Biology Manual* (pp. 73–83). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Sen, S., & Dhawan, V. (2010). Molecular analysis of micropropagated strawberry plants using ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) markers for ascertaining clonal fidelity. *Acta Horticulturae*, 865, 343–348. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.865.48>

Sneath, Peter H., and Robert R. Sokal. (1973). Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. San Francisco: Freeman.

Tikunov, Y. M., Khrustaleva, L. I., & Karlov, G. I. (2003). Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. *Euphytica*, 131(1), 71–81. <https://doi.org/10.1023/A:1023090318492>

Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176–183.

