

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 635.925:57.085.23

doi: 10.17223/19988591/71/3

Влияние регуляторов роста на морфогенез и регенерацию сортов *Syringa vulgaris* в условиях *in vitro*

Ольга Васильевна Королева¹, Ольга Ивановна Молканова²,
Ирина Леонидовна Крахмалева³, Наталия Дмитриевна Орлова⁴

^{1, 2, 3, 4} Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук,
Москва, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0001-9416-4396>, elaem@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4664-7809>, molkanova@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0409-6989>, seglory@bk.ru

⁴ <https://orcid.org/0009-0002-5191-2627>, irosvet96@mail.ru

Аннотация. Существующее генетическое разнообразие представителей рода *Syringa* L. и сортоспецифическая реакция на регуляторы роста в питательной среде обуславливают необходимость в проведении исследований по оптимизации методики размножения сирени в условиях *in vitro*. Изучены морфометрические показатели и особенности морфогенеза микропобегов на питательных средах с разными регуляторами роста четырех сортов *Syringa vulgaris* L. ('Красавица Москвы', 'П.П. Кончаловский', 'Frank Paterson', 'Sensation') на этапе собственно микроразмножения. Экспланты культивировали на питательных средах Murahige-Skoog, дополненных 0,5 или 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), мета-Тополина (мТ) или тидиазурона (ТДЗ) или комбинациями БАП + мТ, БАП + ТДЗ или мТ + ТДЗ в концентрации 1,0 мг/л. Показаны преимущества мТ над ТДЗ и широко используемым БАП: при культивировании на средах с мТ у микропобегов наблюдали самые высокие показатели высоты побегов ($48,3 \pm 1,6$ мм) и коэффициента размножения ($21,9 \pm 0,8$). мТ способствовал пробуждению пазушных почек (79,8%) и образованию нескольких адвентивных побегов на экспланте ($2,3 \pm 0,1$ шт.). Совместное применение регуляторов роста (БАП + мТ, БАП + ТДЗ, мТ + ТДЗ) оказало положительное влияние на размножение изучаемых сортов. Использование мТ или БАП совместно с ТДЗ позволило уменьшить некоторые негативные воздействия этого регулятора роста. Полученные результаты позволяют оптимизировать методику культивирования *in vitro* посредством реализуемого пути морфогенеза и увеличения коэффициента размножения для сортов *Syringa vulgaris*.

Ключевые слова: микроразмножение, регенерация, бензиламинопурин, мета-Тополин, тидиазурон, *Syringa vulgaris*

Источник финансирования: работа выполнена в рамках государственного задания ГБС РАН № 122042700002-6 «Биологическое разнообразие природной и культурной флоры: фундаментальные и прикладные вопросы изучения и сохранения».

Для цитирования: Королева О.В., Молканова О.И., Крахмалева И.Л., Орлова Н.Д. Влияние регуляторов роста на морфогенез и регенерацию сортов *Syringa vulgaris* в условиях *in vitro* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2025. № 71. С. 58–79. doi: 10.17223/19988591/71/3

Original article

doi: 10.17223/19988591/71/3

The effect of growth regulators on the *in vitro* morphogenesis and regeneration of *Syringa vulgaris* cultivars

Olga V. Koroleva¹, Olga I. Molkanova², Irina L. Krakhmaleva³,
Nataliya D. Orlova⁴

^{1, 2, 3, 4} Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation

¹ <https://orcid.org/0000-0001-9416-4396>, elaem@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4664-7809>, molkanova@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0409-6989>, seglory@bk.ru

⁴ <https://orcid.org/0009-0002-5191-2627>, irosvet96@mail.ru

Summary. The lilac (*Syringa* L.) is a genus of woody plants widely used in landscaping and also in perfumery, pharmacology, and other industries. Studies to optimize the technology of *in vitro* propagation and preservation of lilac are needed due to the existing genetic diversity of the genus members and cultivar specificity to growth regulators in nutrient media. In this research, we evaluated the micropropagation efficiency and morphometric parameters of *Syringa vulgaris* L. explants on media with different cytokinins and their mixes. The aim of the study was to determine the effect of plant growth regulators (6-benzylaminopurine, *meta*-Topolin, and thidiazuron) on the development of lilac explants at the micropropagation stage.

The studies were conducted in the Laboratory of Plant Biotechnology of Tsitsin Main Botanical Garden in 2023. The shoot cultures of four ornamental cultivars of *Syringa vulgaris* with high regeneration potential ('Krasavitsa Moskvyy', 'P.P. Konchalovskii', 'Frank Paterson', and 'Sensation') from the *in vitro* collection of the Laboratory were used in the research. For the cultivation of explants (about 5 mm long, containing 1-2 metamers), Murashige-Skoog media supplemented with 7 g/L agar, 30 g/L sucrose, and growth regulators 6-benzylaminopurine, *meta*-Topolin, and thidiazuron at concentrations of 0.5 or 1.0 mg/L were used in the experiments. Nine variants of a nutrient medium were tested (see Table 1). The comparison of the growth regulators showed the advantage of *meta*-Topolin over thidiazuron and the widely used 6-benzylaminopurine (See Figs. 1-3). When cultured on media with *meta*-Topolin, the greatest microshoot height (48.3 ± 1.6 mm vs. 35.6 ± 1.3 mm (on 6-benzylaminopurine) and 39.4 ± 1.3 mm (on thidiazuron)) and micropropagation rate (21.9 ± 0.8 vs. 8.0 ± 0.2 and 9.7 ± 0.4) of explants were observed. *Meta*-Topolin promoted the induction of axillary buds (79.8% vs. 27.6% and 33.2%) and the formation of several adventitious shoots per explant (2.3 ± 0.1 vs. 1.3 ± 0.1 and 1.6 ± 0.1).

The results showed that the combinations of the growth regulators (6-benzylaminopurine + *meta*-Topolin, 6-benzylaminopurine + thidiazuron, *meta*-Topolin + thidiazuron), added to the medium had a positive effect on micropropagation of the studied cultivars (See Table 2, Fig. 4). When cultured on the media supplemented with a mix of cytokinins, most studied cultivars produced the highest microshoots and developed more adventitious shoots per explant (2.3 ± 0.2 (6-benzylaminopurine + *meta*-Topolin), 2.2 ± 0.2 (6-benzylaminopurine + thidiazuron), 3.0 ± 0.2 (*meta*-Topolin + thidiazuron)). The combined use of cytokinins increased the micropropagation rate only relative to cultivation on medium with 6-benzylaminopurine and thidiazuron added separately. For instance, 'Frank Paterson' increased its micropropagation rate from

10.1 ± 0.8 (1.0 mg/L thidiazuron) to 22.7 ± 1.1 on the medium with *meta*-Topolin + thidiazuron, and 'Sensation' increased it from 8.1 ± 0.3 (1.0 mg/L 6-benzylaminopurine) to 21.0 ± 2.2 on the medium with 6-benzylaminopurine + thidiazuron. We revealed the reduction of some negative effects of thidiazuron when used together with other growth regulators. For instance, 'Krasavitsa Moskv' produced higher microshoots on the medium with the mix of phytohormones (86.0 ± 4.4 and 74.4 ± 3.9 mm), while 'P.P. Konchalovskii' increased its micropropagation rate from 8.1 ± 1.0 (0.5 mg/L thidiazuron) and 6.7 ± 0.6 (1.0 mg/L thidiazuron) to 13.0 ± 2.0 due to the addition of *meta*-Topolin to the medium. However, application of other cytokinins to thidiazuron in the medium could not completely prevent large callus formation in some lilac cultivars ('P.P. Konchalovskii' and 'Frank Paterson').

Since lilac micropropagation occurs mainly through the formation and further development of adventitious shoots at the base of explants, the observed formation of several shoots per explant on the tested media significantly increased the efficiency of propagation of *Syringa vulgaris* cultivars. During the research, we observed almost no root formation in explants on the media with *meta*-Topolin. Only 'Sensation' showed spontaneous rhizogenesis on the medium with 0.5 mg/L *meta*-Topolin (10%) and the medium with 6-benzylaminopurine + *meta*-Topolin (12.5%). When cultured on the media with 6-benzylaminopurine, the studied cultivars had 27.7% of rooted explants. When cultured on the media with thidiazuron, some cultivars showed root formation ('Krasavitsa Moskv' (17.6%); 'Frank Paterson' (27.8%)), while other cultivars had callus formation at the base of explants. Application of cytokinin combinations to the medium suppressed root formation in explants; most cultivars on these media had no rooted explants. Thus, to obtain rooted microplants before adaptation and exclude a separate rooting stage, we recommend using media with low auxin content or media with low cytokinin content with the addition of auxins.

To conclude, we investigated the morphometric parameters of microshoot development and morphogenesis of lilac cultivars on the media with different growth regulators and their combinations at the micropropagation stage. Therefore, we optimized the micropropagation technique for *Syringa vulgaris* cultivars.

The article contains 4 Figures, 2 Tables, 50 References.

Keywords: micropropagation, regeneration, benzylaminopurine, *meta*-Topolin, thidiazuron, *Syringa vulgaris*

Fundings: the work was carried out as part of the framework of the state assignment of MBG RAS No. 122042700002-6 "Biological diversity of natural and cultural flora: fundamental and applied issues of study and conservation".

For citation: Koroleva OV, Molkanova OI, Krakhmaleva IL, Orlova ND. The effect of growth regulators on the *in vitro* morphogenesis and regeneration of *Syringa vulgaris* cultivars. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2025;71:58-79. doi: 10.17223/19988591/71/3

Введение

Род *Syringa* L. (сем. Oleaceae) включает в себя 12 видов (согласно WFO Plant List [1]), культигенный ареал которых охватывает территории от северо-восточной Европы до юго-восточной Азии, в восточной и северной частях Северной Америки и на юге Южной Америки. Помимо озеленения сирень находит применение в кулинарии, парфюмерии и косметологии. Благодаря высокому содержанию биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными, противовоспалительными, жаропонижающими

ми и другими полезными свойствами, сирень используют в народной и традиционной медицине, а также фармакологии [2, 3].

Syringa vulgaris L. – высокодекоративный кустарник, наиболее широко используемый в озеленении и флористике. Как и другие виды, *S. vulgaris* является источником лекарственного сырья [4–6]. За десятилетия селекционной работы было выведено и зарегистрировано более 2000 сортов этого вида [7], во многих странах селекция продолжается, поэтому вопрос оптимизации методики размножения и сохранения сирени не теряет своей актуальности. Многие сорта *S. vulgaris* сильно отличаются по характеру роста и развитию побегов, формированию корней, что затрудняет разработку единого протокола культивирования для данной культуры.

Для размножения сирени используют как традиционные методы (черенкование, прививка и т.д.) [8], так и биотехнологические [9–11]. Во многих небольших питомниках применяют черенкование, однако для промышленного производства выровненного высококачественного посадочного материала, в особенности трудно укореняемых и малораспространенных сортов, предпочтение отдают клональному микроразмножению.

Наличие эффективной и оптимизированной методики клонального микроразмножения необходимо для размножения и сохранения экономически важных культур, в том числе декоративных. Из-за сортового многообразия в пределах вида *S. vulgaris* существует множество исследований по оптимизации технологии культивирования *in vitro* [12–15], однако работ, описывающих влияние нескольких цитокининов на органогенез микрорастений, крайне мало [16].

Для сирени характерно различие в реакции на регуляторы роста и их концентрации. И в наших предыдущих исследованиях, и в работах других авторов наблюдали сильное влияние сортовых особенностей изучаемых объектов на рост и развитие растений в условиях *in vitro* [11, 15]. Вследствие этого выявление оптимальных условий культивирования для большинства сортов необходимо для усовершенствования методики микроразмножения представителей рода *Syringa* L.

Разные исследователи для размножения сирени рекомендуют использовать 6-бензиламинопурин (БАП) или 2-изопентиладенин (2ip), концентрации которых варьируют от 1,0 до 5,0 мг/л [10, 13, 17]. В наших предыдущих исследованиях установлено, что оптимальной концентрацией БАП является 1,0 мг/л [18]. БАП является наиболее широко используемым цитокинином для клонального микроразмножения растений благодаря своей эффективности и доступности [19, 20], однако для некоторых культур этот регулятор роста может оказывать негативное влияние [21, 22]. В культуре *in vitro* накопление производных БАП в основании микропобегов может вызывать неоднородность роста и торможение процессов корнеобразования, а его высокие концентрации и длительное культивирование могут стать причиной оводненности у многих культур [23].

Тополыны более эффективны и обладают меньшей токсичностью при более высоких эквимоллярных концентрациях, чем БАП: они не накапливаются в растениях благодаря быстрой транслокации по тканям растения,

а их метаболиты (О-гликозиды) легко разлагаются [22, 24, 25]. В работе Peczuk и Jagiełło-Kubies [16] было показано превосходство *мета*-Тополина (*мТ*) над обычно используемыми БАП и 2ip для культивирования сирени *in vitro*. *мТ* – ароматический цитокинин, производное от бензиладенина, который часто используют для улучшения побегообразования и повышения эффективности корнеобразования у экономически важных растений. *мТ* метаболизируется быстрее, чем обычные цитокинины, вследствие чего предотвращает возникновение морфо-анатомических и физиологических отклонений и способствует восстановлению нормальной структуры и метаболизма микрорастений [26, 27].

Для ряда культур тидиазурон (ТДЗ) используют наравне с БАП на этапе микроразмножения [21, 28]. ТДЗ относится к замещенным фенилмочевинам и, в отличие от других регуляторов роста растений, обладает высокой как цитокининовой, так и ауксиновой активностью [29]. В условиях *in vitro* он стимулирует развитие боковых почек и побегов, но ингибирует вытягивание побегов и может оказывать ряд негативных воздействий [30]. Некоторые исследования показали эффективность добавления ТДЗ в питательную среду для успешного микроразмножения сирени [15, 31].

Для предотвращения появления негативных эффектов отдельных регуляторов роста и более эффективного микроразмножения используют их комбинации (обычно цитокинины с ауксинами в определенном соотношении) [19, 32, 33], в том числе несколько цитокининов одновременно. Вследствие этого в данной работе оценивали как эффективность микроразмножения и морфометрические показатели эксплантов сортов *S. vulgaris* при культивировании на разных цитокининах, так и воздействие различных их комбинаций.

Цель исследования – изучение влияния регуляторов роста (БАП, *мТ* и ТДЗ) на развитие эксплантов сирени на этапе собственно микроразмножения.

Материалы и методика исследования

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН в 2023 г. В работе применяли общепринятые [34] и разработанные в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН [35] приемы работы с культурами изолированных тканей и органов растений.

В качестве объектов использовали стерильную культуру четырех высокодекоративных сортов *S. vulgaris* из коллекции *in vitro* лаборатории, характеризующихся высоким регенерационным потенциалом: 'Красавица Москвы', 'П.П. Кончаловский', 'Frank Paterson' и 'Sensation'. Для экспериментов использовали экспланты около 5 мм длиной, содержащие 1–2 метамера, в стадии активного размножения.

Для культивирования эксплантов использовали среды с минеральной основой Murashige-Skoog, дополненные 7 г/л агара (С.Е. Roepers GmbH, Hamburg, Germany), 30 г/л сахарозы и регуляторами роста БАП (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), *мТ* и ТДЗ (Duchefa Biochemie B.V., Haarlem, Netherlands) в концентрациях 0,5 или 1,0 мг/л. В исследовании изучали

9 вариантов питательных сред (табл. 1). В качестве контрольного варианта использовали питательную среду с добавлением 0,5 мг/л БАП, поскольку предыдущие исследования [18] показали, что безгормональная среда неэффективна на этапе собственно микроразмножения (медленный рост побегов, формирование малого числа метамеров и т.д.); в то время как 0,5 мг/л является минимально эффективной концентрацией БАП для активного размножения сирени. Питательные среды стерилизовали в автоматическом автоклаве MAC-235EX (Sanyo Industry Co., Ltd., Japan) насыщенным водяным паром под давлением (1 атм.) при 121°C в течение 20 мин. Регуляторы роста стерилизовали путем автоклавирования в составе питательной среды.

Экспланты культивировали при температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$, освещенности 4000–5000 лк (светодиодные лампы ДПО-36Вт, цветовая температура 6500; освещенность измерена прибором Lux-Meter model LU-345 (Nieuwkoop B.V., Aalsmeer, Holland)) и 16-ч фотопериоде. После 45 дней культивирования учитывали показатели высоты микропобегов, числа микропобегов от основания, количество корней; вычисляли коэффициент размножения (как произведение числа побегов на экспланте на количество узлов на микропобеге), частоту активизации пазушных почек и частоту спонтанного ризогенеза.

Эксперименты проводили в трех повторностях, по 10 эксплантов в каждой для каждого варианта среды. Обработку результатов проводили с помощью программы SPSS statistics. Для оценки значимости влияния регуляторов роста и их комбинаций на показатели микроразмножения сортов сирени использовали дисперсионный анализ ANOVA (ANalysis of VAriance) с множественным ранговым критерием Дункана с уровнем значимости $p < 0,05$. Результаты приведены в виде среднего арифметического $\pm$ SE (standard error). Вследствие контаминации питательной среды в некоторых вариантах ('П.П. Кончаловский' 1,0 мг/л БАП; 'Sensation' 1,0 мг/л мТ + 1,0 мг/л ТДЗ) сократилось количество учетных растений в повторностях.

Таблица 1 [Table 1]

Содержание цитокининов в используемых вариантах питательных сред
[Cytokinin content in the studied variants of the medium]

Цитокинин [Cytokinin]	Концентрация регулятора роста в средах, мг/л [Concentration of a growth regulator in a medium, mg/L]								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6-бензиламинопурин [6-benzylaminopurin]	0,5	1,0	–	–	–	–	1,0	1,0	–
мета-Тополин [meta-Topolin]	–	–	0,5	1,0	–	–	1,0	–	1,0
Тидиазурон [thidiazuron]	–	–	–	–	0,5	1,0	–	1,0	1,0

Примечание. «–» означает отсутствие регулятора роста в среде.

[Note. “–” indicates the absence of the growth regulator in the medium].

Во избежание возникновения статистических ошибок данные варианты были изъяты из анализа, что не оказало существенного влияния на выявленные в результате исследования закономерности.

Результаты исследования

Цитокинины являются основным классом регуляторов роста, отвечающих за регуляцию различных процессов развития растений, включая деление клеток и их дифференциацию, активность апикальных меристем побега и корня, пропорциональное формирование органов и т.д. [36].

Анализ влияния разных регуляторов роста (БАП, мТ и ТДЗ), применяемых по отдельности, показал, что мТ оказывает наибольшее положительное воздействие на развитие микропобегов. Он способствовал значительному увеличению высоты микропобегов ($48,3 \pm 1,6$ мм относительно $35,6 \pm 1,3$ мм (БАП) и $39,4 \pm 1,3$ мм (ТДЗ)), развитию адвентивных побегов ($2,3 \pm 0,1$ шт. относительно $1,3 \pm 0,1$ шт. (БАП) и $1,6 \pm 0,1$ шт. (ТДЗ)), а также существенно увеличивал коэффициент размножения ($21,9 \pm 0,8$ относительно $8,0 \pm 0,2$ (БАП) и $9,7 \pm 0,4$ (ТДЗ)).

Результаты исследования показали, что высота растений во многом зависит от сортовых особенностей растений, но при культивировании на питательной среде с добавлением $0,5$ мг/л мТ наблюдали более высокие показатели, чем на среде с традиционно используемым для размножения сирени БАП в той же концентрации ($30,7 \pm 2,1$ – $65,2 \pm 3,7$ по сравнению с $23,7 \pm 2,3$ – $48,4 \pm 2,4$) (рис. 1). При повышении концентрации с $0,5$ до $1,0$ мг/л у мТ и БАП высота микропобегов увеличивалась. Влияние ТДЗ и увеличение его содержания в питательной среде на высоту микропобегов у разных сортов проявлялось по-разному. Так, у сорта 'Sensation' с повышением концентрации ТДЗ произошло увеличение высоты растений с $32,6 \pm 2,3$ до $53,2 \pm 6,8$ мм, в то время как у 'Красавицы Москвы' микропобеги стали ниже (с $43,6 \pm 1,4$ до $32,1 \pm 1,1$ мм).

Культивирование на питательной среде с добавлением мТ способствовало развитию пазушных почек на эксплантах: частота активизации

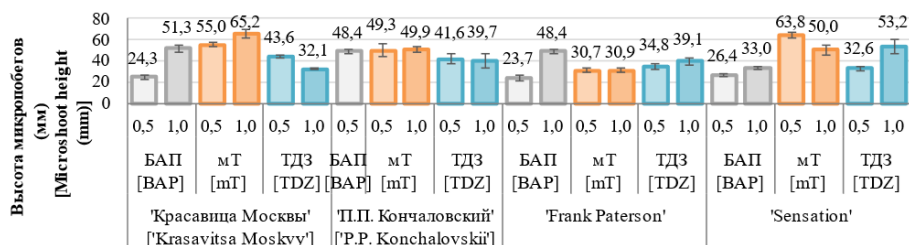


Рис. 1. Влияние цитокининов на высоту микропобегов сортов *Syringa vulgaris*.

БАП – 6-бензиламинопурин; мТ – *meta*-Тополин; ТДЗ – тидиазурон.

Концентрация регуляторов роста указана в мг/л

[Fig. 1. Effect of cytokinins on the microshoot height of *Syringa vulgaris* cultivars.

BAP (6-benzylaminopurine), mT (*meta*-Topolin), TDZ (thidiazuron).

The concentration of growth regulators is expressed in mg/L]

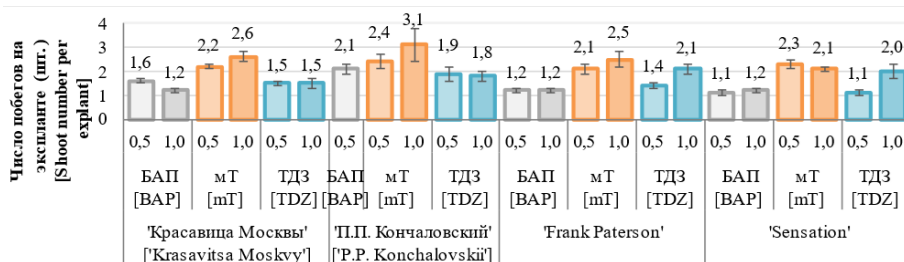


Рис. 2. Влияние цитокининов на образование адвентивных побегов у сортов *Syringa vulgaris*. БАП – 6-бензиламинопурин; мТ – мета-Тополин; ТДЗ – тидиазурон.

Концентрация регуляторов роста указана в мг/л

[Fig. 2. Effect of cytokinins on the adventitious shoot formation on *Syringa vulgaris* cultivars.

BAP (6-benzylaminopurine), mT (meta-Topolin), TDZ (thidiazuron).

The concentration of growth regulators is expressed in mg/L]

пазушных почек составляла 62,5–95,0%, в то время как на среде с ТДЗ частота активизации пазушных почек колебалась от 15,4% до 54,5%, а на среде с БАП – от 6,7% до 58,8%. мТ в большей степени способствовал образованию адвентивных побегов относительно других цитокининов (2,3 ± 0,1 шт. по сравнению с 1,6 ± 0,1 шт. (БАП) и 1,6 ± 0,1 шт. (ТДЗ)); даже меньшая концентрация (0,5 мг/л) приводила к образованию более 2 побегов на экспланте (см. рис. 2). В результате формирования адвентивных побегов и активация пазушных меристем как реализуемый путь морфогенеза существенно увеличили коэффициент размножения (рис. 3). Наибольшие значения были получены при культивировании на питательных средах с добавлением мТ; содержание этого цитокинина даже в небольшой концентрации (0,5 мг/л) показало значительное превышение коэффициента размножения относительно других регуляторов роста.

Из-за синергетического эффекта, оказываемого применением нескольких цитокининов, использование комбинаций регуляторов роста считается

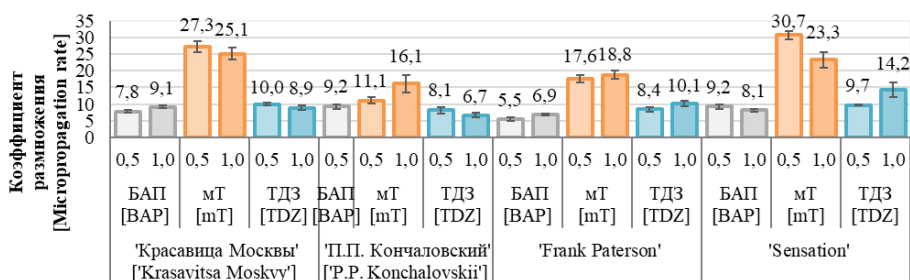


Рис. 3. Влияние цитокининов на коэффициент размножения сортов *Syringa vulgaris*.

БАП – 6-бензиламинопурин; мТ – мета-Тополин; ТДЗ – тидиазурон.

Концентрация регуляторов роста указана в мг/л

[Fig. 3. Effect of cytokinins on the micropropagation rate of *Syringa vulgaris* cultivars.

BAP (6-benzylaminopurine), mT (meta-Topolin), TDZ (thidiazuron).

The concentration of growth regulators is expressed in mg/L]

эффективным способом усовершенствования микроразмножения и предотвращения возникновения нарушений в строении и физиологических процессах. Результаты исследования показали, что использование нескольких цитокининов в среде оказало положительное воздействие на микроразмножение сирени (табл. 2, рис. 4).

Использование комбинаций цитокининов оказало положительное воздействие на высоту микропобегов у сортов 'Красавица Москвы' и 'П.П. Кончаловский'. Для сорта 'Frank Paterson' совместное применение регуляторов роста не дало повышения высоты побегов, а для сорта 'Sensation' использование БАП совместно с ТДЗ значительно повысило высоту растений (до $76,4 \pm 6,4$ мм). Применение мТ совместно с другими цитокининами способствовало активизации пазушных почек, но в меньшей степени, чем при отдельном применении. Результаты экспериментов показали, что совместное использование регуляторов роста способствует развитию нескольких адвентивных побегов у большинства изучаемых сортов ($2,3 \pm 0,2$ шт. (БАП + мТ), $2,2 \pm 0,2$ шт. (БАП + ТДЗ), $3,0 \pm 0,2$ шт. (мТ + ТДЗ)). Совместное применение цитокининов не повысило коэффициент размножения, по сравнению с показателями, полученными на средах только с мТ, однако относительно применения БАП и ТДЗ по отдельности показатели стали существенно выше. Так, у 'Frank Paterson' коэффициент размножения с $10,1 \pm 0,8$ (1,0 мг/л ТДЗ) увеличился до $22,7 \pm 1,1$ на среде с мТ + ТДЗ, а у 'Sensation' с $8,1 \pm 0,3$ (1,0 мг/л БАП) до $21,0 \pm 2,2$ на среде с БАП + ТДЗ.

Таблица 2 [Table 2]

**Влияние цитокининов и их комбинаций на показатели
микроразмножения сортов *Syringa vulgaris*
[Effect of cytokinins and their combinations on the micropagation
parameters of *Syringa vulgaris*]**

Сорт [Cultivar]	Регуляторы роста, мг/л [Growth regulators, mg/L]			Высота микро- побегов, мм [Microshoot height, mm]	Число побегов на экспланте, шт. [Shoot number per explant]	Коэффициент размножения [Micropagation rate]
	БАП [BAP]	мТ [mT]	ТДЗ [TDZ]			
'Красавица Москвы' ['Krasavitsa Moskvy']	0,5	—	—	$24,3 \pm 1,5^e$	$1,6 \pm 0,1^b$	$7,8 \pm 0,4^d$
	1,0	—	—	$51,3 \pm 3,0^{cd}$	$1,2 \pm 0,1^b$	$9,1 \pm 0,4^d$
	—	0,5	—	$55,0 \pm 2,6^c$	$2,2 \pm 0,1^a$	$27,3 \pm 1,6^a$
	—	1,0	—	$65,2 \pm 3,7^b$	$2,6 \pm 0,2^a$	$25,1 \pm 1,8^a$
	—	—	0,5	$43,6 \pm 1,4^d$	$1,5 \pm 0,1^b$	$10,0 \pm 0,5^d$
	—	—	1,0	$32,1 \pm 1,1^e$	$1,5 \pm 0,2^b$	$8,9 \pm 0,7^d$
	1,0	1,0	—	$72,4 \pm 5,3^b$	$2,3 \pm 0,4^a$	$18,5 \pm 1,9^{bc}$
	1,0	—	1,0	$86,0 \pm 4,4^a$	$1,7 \pm 0,2^b$	$15,3 \pm 1,4^c$
	—	1,0	1,0	$74,4 \pm 3,9^b$	$2,5 \pm 0,2^a$	$20,3 \pm 1,7^b$

Сорт [Cultivar]	Регуляторы роста, мг/л [Growth regulators, mg/L]			Высота микро- побегов, мм [Microshoot height, mm]	Число побегов на экспланте, шт. [Shoot number per explant]	Коэффициент размножения [Micropropagation rate]
	БАП [BAP]	МТ [mT]	ТДЗ [TDZ]			
'П.П. Кончаловский' ['P.P. Konchalovskii']	0,5	—	—	48,4 ± 2,4 ^a	2,1 ± 0,2 ^{ab}	9,2 ± 0,7 ^{bcd}
	—	0,5	—	49,3 ± 5,9 ^a	2,4 ± 0,3 ^{ab}	11,1 ± 1,0 ^{bc}
	—	1,0	—	49,9 ± 2,5 ^a	3,1 ± 0,7 ^a	16,1 ± 2,6 ^a
	—	—	0,5	41,6 ± 4,1 ^a	1,9 ± 0,3 ^b	8,1 ± 1,0 ^{cd}
	—	—	1,0	39,7 ± 6,8 ^a	1,8 ± 0,2 ^b	6,7 ± 0,6 ^d
	1,0	1,0	—	53,8 ± 5,2 ^a	2,4 ± 0,2 ^{ab}	9,9 ± 0,8 ^{bcd}
	1,0	—	1,0	50,6 ± 4,4 ^a	2,3 ± 0,4 ^{ab}	10,3 ± 1,2 ^{bcd}
	—	1,0	1,0	45,7 ± 7,8 ^a	2,2 ± 0,4 ^{ab}	13,0 ± 2,0 ^{ab}
'Frank Paterson'	0,5	—	—	23,7 ± 2,3 ^d	1,2 ± 0,1 ^d	5,5 ± 0,5 ^e
	1,0	—	—	48,4 ± 2,2 ^a	1,2 ± 0,1 ^d	6,9 ± 0,3 ^{de}
	—	0,5	—	30,7 ± 2,1 ^{cd}	2,1 ± 0,2 ^c	17,6 ± 1,2 ^b
	—	1,0	—	30,9 ± 2,4 ^{cd}	2,5 ± 0,3 ^{bc}	18,8 ± 1,2 ^b
	—	—	0,5	34,8 ± 2,8 ^{bc}	1,4 ± 0,1 ^d	8,4 ± 0,6 ^{de}
	—	—	1,0	39,1 ± 3,7 ^{bc}	2,1 ± 0,2 ^c	10,1 ± 0,8 ^{cd}
	1,0	1,0	—	42,8 ± 3,9 ^{ab}	2,9 ± 0,3 ^b	20,6 ± 1,5 ^{ab}
	1,0	—	1,0	37,5 ± 5,3 ^{bc}	2,4 ± 0,3 ^{bc}	12,1 ± 2,0 ^c
	—	1,0	1,0	25,4 ± 1,4 ^d	3,8 ± 0,2 ^a	22,7 ± 1,1 ^a
'Sensation'	0,5	—	—	26,4 ± 1,5 ^d	1,1 ± 0,1 ^c	9,2 ± 0,6 ^d
	1,0	—	—	33,0 ± 1,6 ^d	1,2 ± 0,1 ^c	8,1 ± 0,3 ^d
	—	0,5	—	63,8 ± 3,0 ^b	2,3 ± 0,2 ^b	30,7 ± 1,3 ^a
	—	1,0	—	50,0 ± 4,7 ^c	2,1 ± 0,1 ^b	23,3 ± 2,4 ^b
	—	—	0,5	32,6 ± 2,3 ^d	1,1 ± 0,1 ^c	9,7 ± 0,2 ^d
	—	—	1,0	53,2 ± 6,8 ^{bc}	2,0 ± 0,3 ^b	14,2 ± 2,2 ^c
	1,0	1,0	—	52,3 ± 5,5 ^c	1,1 ± 0,1 ^c	7,8 ± 0,5 ^d
	1,0	—	1,0	76,4 ± 6,4 ^a	3,0 ± 0,4 ^a	21,0 ± 2,2 ^b

Примечание. В каждом столбце разными буквами обозначены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между вариантами среды для каждого сорта. БАП – 6-бензиламинопурин, МТ – мета-Тополин, ТДЗ – тидиазурон.

[Note. Statistically significant differences ($p < 0.05$) between the medium variants for each cultivar are indicated by different letters in each column. BAP - 6-benzylaminopurine, mT - meta-Topolin, TDZ - thidiazuron].



Рис. 4. Развитие микропобегов сорта *Syringa vulgaris* 'Красавица Москвы' на разных регуляторах роста и их комбинациях после 45 дней культивирования: 1 – 0,5 мг/л БАП, 2 – 0,5 мг/л мТ, 3 – 0,5 мг/л ТДЗ, 4 – 1,0 мг/л БАП, 5 – 1,0 мг/л мТ, 6 – 1,0 мг/л ТДЗ; 7 – 1,0 мг/л БАП + 1,0 мг/л мТ, 8 – 1,0 мг/л БАП + 1,0 мг/л ТДЗ, 9 – 1,0 мг/л мТ + 1,0 мг/л ТДЗ. БАП – 6-бензиламинопурин; мТ – *meta*-Тополин; ТДЗ – тидиазурон. Масштабная линейка – 1 см

[Fig. 4. Microshoot development of *Syringa vulgaris* cultivar 'Krasavitsa Moskvyy' on different growth regulators and their mixtures after 45 days of subculture: 1 - 0.5 mg/L BAP, 2 - 0.5 mg/L mT, 3 - 0.5 mg/L TDZ, 4 - 1.0 mg/L BAP, 5 - 1.0 mg/L mT, 6 - 1.0 mg/L TDZ; 7 - 1.0 mg/L BAP + 1.0 mg/L mT, 8 - 1.0 mg/L BAP + 1.0 mg/L TDZ, 9 - 1.0 mg/L mT + 1.0 mg/L TDZ. BAP - 6-benzylaminopurine, mT - *meta*-Topolin, TDZ - thidiazuron. Scale bar – 1 cm]

Стоит отметить, что там, где повышение содержания ТДЗ с 0,5 до 1,0 мг/л оказывало негативное влияние, добавление в среду другого цитокинина позволило избежать негативных эффектов. Так, у 'Красавицы Москвы' использование БАП + ТДЗ и мТ + ТДЗ позволило получить микропобеги большей высоты ($86,0 \pm 4,4$ и $74,4 \pm 3,9$ мм). А у сорта 'П.П. Кончаловский' применение мТ + ТДЗ повысило коэффициент размножения с $8,1 \pm 1,0$ (0,5 мг/л ТДЗ) и $6,7 \pm 0,6$ (1,0 мг/л ТДЗ) до $13,0 \pm 2,0$.

Необходимо отметить, что у всех изучаемых сортов на средах с добавлением БАП (как 0,5 мг/л, так и 1,0 мг/л) наблюдали спонтанный ризогенез (от 12,5% у 'Красавицы Москвы' до 57,1% у 'П.П. Кончаловского'). На средах с добавлением ТДЗ формирование корней происходило лишь у неко-

торых сортов ('Красавица Москвы' (17,6%) и 'Frank Paterson' (27,8%)), в то время как у сортов 'П.П. Кончаловский' и 'Frank Paterson' в основании эксплантов образовывалось большое количество каллуса. Добавление в питательную среду нескольких цитокининов подавляло корнеобразование ('Sensation' 0–20,0%, у остальных сортов – 0%).

Обсуждение результатов исследования

Регенерация растений в условиях *in vitro* от экспланта до полностью сформированного растения по сути является основой микроразмножения. Это достигается за счет определения оптимального состава питательной среды, выбора экспланта, а также установления и поддержания оптимальных условий культивирования [37]. Для размножения представителей рода *Syringa* используют прямой органогенез – образование вегетативных органов без промежуточной стадии каллусообразования. Микроразмножение сортов *S. vulgaris* происходит в большей степени за счет формирования и дальнейшего развития адвентивных побегов в базальной части эксплантов. Это достигается в основном подбором регуляторов роста и их концентраций.

Выбор цитокинина для использования для активного микроразмножения определяется его комплексной эффективностью в индуцировании оптимальной скорости роста эксплантов, образовании нормальных побегов и корней, а также влиянием на последующую адаптацию микрорастений к условиям *ex vitro* [23]. Необходимо отметить, что цитокинины в составе питательной среды могут оказывать различные воздействия на разных генотипах одного таксона и это необходимо учитывать при планировании и проведении экспериментов на растениях с высоким генетическим разнообразием [21].

Образование побегов, их рост, активизация пазушных почек, наблюдаемые в данном исследовании, обусловлены не только генетическими особенностями исследуемых сортов, но и также во многом зависели от типа цитокинина и его концентрации в питательной среде (см. табл. 2). Для увеличения коэффициента размножения при прямом морфогенезе важно добиться не только развития адвентивных почек, но также активизации пазушных меристем вновь образованных адвентивных побегов. Исследования показали, что мТ в большей степени индуцирует пробуждение пазушных почек по сравнению с другими регуляторами роста (79,8% по сравнению с 27,6% (БАП) и 33,2% (ТДЗ)). Кроме того, мТ оказал большее стимулирующее воздействие на ростовые процессы у эксплантов: на питательных средах с мТ наблюдали наибольшее число образованных побегов на экспланте (выше, чем на БАП и ТДЗ, на 43% и 31% соответственно), а также более высокие показатели высоты микропобегов (на 26% и 20% соответственно). Необходимо отметить, что при повышении концентрации мТ количество микропобегов на экспланте увеличивалось, в отличие от БАП [24]. Способность мТ стимулировать образование адвентивных побегов в большей степени, чем БАП, показана и на многих других культурах [21, 38–40].

Для некоторых культур ТДЗ более эффективен для индукции образования адвентивных побегов, чем производные аденина [19]. Однако из-за высокой физиологической активности этот регулятор роста эффективен в очень низких концентрациях, и их повышение может негативно сказываться на культуре *in vitro* [30]. Для сирени культивирование на среде с ТДЗ может оказывать как положительное, как это продемонстрировано в работе Чуриковой и Криницыной [15], так и отрицательное воздействие. Результаты нашего исследования показали, что применение 0,5 мг/л ТДЗ стимулировало развитие боковых почек и побегов. Повышение концентрации до 1,0 мг/л существенно снижало эффективность микроразмножения. У некоторых сортов увеличивалось образование недифференцированного каллуса в основании эксплантов, что может негативно повлиять на их укоренение и последующую адаптацию, а также повышает вероятность возникновения соматоклональных вариантов [41]. Стоит отметить, что в исследованиях Чуриковой и Криницыной [15] также наблюдали каллусообразование у сорта 'П.П. Кончаловский'. Следовательно, можно предположить, что данное явление обусловлено генетическими особенностями сорта. Это представляет интерес для отдельного исследования, поскольку разрастание недифференцированного каллуса в основании эксплантов осложняет культивирование *in vitro* и некоторых других ценных сортов.

Таким образом, несмотря на стимулирование побегообразования, добавление ТДЗ в состав питательной среды не обеспечивает эффективное микроразмножение сортов *S. vulgaris*. В то время как использование мТ не только повышает эффективность микроразмножения за счет увеличения коэффициента размножения (на 62% относительно БАП и на 55% относительно ТДЗ) через индукцию адвентивного побегообразования, но и не оказывает негативного влияния на экспланты. Полученные результаты согласуются с исследованиями Iczuk и Jagiełło-Kubiec [16], в которых было показано превосходство мТ над обычно используемыми БАП и 2ip для микроразмножения сирени. Учитывая меньшую токсичность тополинов, следует рекомендовать мТ для культивирования сортов *S. vulgaris* в условиях *in vitro*.

Комбинации регуляторов роста приводят к множественным физиологическим реакциям, вследствие чего использование нескольких цитокининов может быть эффективнее, чем применение их по отдельности [19, 20, 42]. Известно, что у некоторых культур применение БАП совместно с другими цитокининами оказывает синергетический эффект [43]. Добавление других цитокининов позволяет избежать негативных воздействий как самого БАП, так и добавляемого цитокинина, а также повысить эффективность микроразмножения. Совместное применение мТ с БАП оказало положительное влияние на размножение большинства изучаемых сортов. Поскольку для сирени БАП по-прежнему остается достаточно эффективным регулятором роста, целесообразно не переходить на применение мТ, а использовать комбинации цитокининов (БАП + мТ) для предотвращения негативного влияния БАП и повышения показателей микроразмножения.

Поскольку ТДЗ может оказывать некоторые негативные эффекты (укороченные побеги, оводненность), для многих культур рекомендовано использовать его совместно с другим цитокинином для предотвращения или уменьшения отрицательных воздействий [44–46]. В наших исследованиях применение мТ и БАП совместно с ТДЗ не смогло полностью предотвратить каллусообразование у некоторых сортов ('П.П. Кончаловский' и 'Frank Paterson'), но смогло повысить морфометрические показатели. Так, при культивировании на среде с ТДЗ + БАП наблюдали существенное повышение рассматриваемых показателей микроразмножения (высота микропобегов, число микропобегов от основания экспланта, коэффициент размножения) не только относительно ТДЗ, но и БАП. Таким образом, продемонстрирована эффективность совместного применения производных аденина с ТДЗ для уменьшения его негативного влияния на микрорастения.

Высокие концентрации цитокининов могут подавлять процессы формирования корней даже в присутствии ауксинов, поэтому для укоренения микрорастений обычно выделяют отдельный этап, на котором экспланты культивируют на безгормональной или ауксин-содержащей среде в течение одного или нескольких пассажей [47]. Однако поскольку экзогенные цитокинины принимают участие в биосинтезе эндогенных ауксинов [32], на некоторых культурах можно наблюдать спонтанное укоренение эксплантов не только на безгормональных средах, но и на средах с высоким соотношением цитокининов-ауксинов или только с цитокининами [48–50]. При оптимизации протокола культивирования *in vitro* следует учитывать наличие спонтанного ризогенеза у эксплантов, поскольку это позволяет кардинально изменить состав сред, а в некоторых случаях исключить отдельный этап укоренения. Исследования показывают, что у некоторых сортов сирени может происходить спонтанное укоренение на среде без ауксинов [15].

Несмотря на то, что мТ должен способствовать лучшему корнеобразованию благодаря меньшему тормозящему воздействию на этот процесс [22–27], в данных исследованиях при культивировании на среде с мТ экспланты практически не формировали корней. Только у 'Sensation' наблюдали спонтанный ризогенез на средах с 0,5 мг/л мТ (10%) и с БАП + мТ (12,5%). Стоит отметить, что, несмотря на возможное негативное влияние БАП на формирование корней у эксплантов [21], 27,7% эксплантов изучаемых сортов укоренились при культивировании на средах с этим цитокинином. Совместное применение цитокининов подавляло корнеобразование у эксплантов, у большинства сортов на средах с комбинациями цитокининов его не происходило. Следовательно, изучаемые сорта являются хорошо укореняемыми, и для получения укоренившихся микрорастений перед адаптацией можно использовать среды с низким содержанием ауксинов или среды с низким содержанием цитокининов в присутствии ауксинов, исключив отдельный этап укоренения.

Заключение

Изучены морфометрические показатели развития микропобегов, а также особенности морфогенеза четырех сортов *S. vulgaris* на питательных средах с разными регуляторами роста и их комбинациях на этапе собственно микроразмножения. Выявлено, что из использованных регуляторов роста (БАП, мТ, ТДЗ) наибольшие показатели высоты побегов, числа побегов на эксплант, коэффициента размножения были получены на средах с добавлением мТ. Применение мТ способствовало активизации пазушных почек и формированию нескольких адвентивных побегов на экспланте. Показано, что совместное добавление в среду регуляторов роста (БАП + мТ, БАП + ТДЗ, мТ + ТДЗ) оказало положительное влияние на размножение изучаемых сортов. Использование мТ или БАП совместно с ТДЗ позволило уменьшить некоторые негативные воздействия этого регулятора роста. Реализуемый с помощью используемых регуляторов роста путь морфогенеза (формирование и дальнейшее развитие адвентивных побегов) существенно повысил эффективность микроразмножения, увеличив коэффициент размножения изучаемых сортов. Наблюдаемое у изучаемых сортов спонтанное укоренение микропобегов на питательных средах для размножения позволяет сократить содержание ауксинов в среде на этапе укоренения или и вовсе исключить отдельный этап укоренения. Таким образом, в результате исследования проведена оптимизация методики микроразмножения для сортов *S. vulgaris*.

Список источников

1. The World Flora Online (WFO) Plant List. Genus *Syringa* L. URL: <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000037351-2023-12?page=1> (дата обращения 22.03.2024).
2. Su G., Cao Y., Li C., Yu X., Gao X., Tu P., Chai X. Phytochemical and pharmacological progress on the genus *Syringa* // Chemistry Central Journal. 2015. Vol. 9. 2. doi: 10.1186/s13065-015-0079-2
3. Zhu W., Wang Z., Sun Y., Yang B., Wang Q., Kuang H. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of genus *Syringa*: A comprehensive review // Journal of Ethnopharmacology. 2021. Vol. 266. 113465. doi: 10.1016/j.jep.2020.113465
4. Woźniak M., Michalak B., Wyszomierska J., Dudek M.K., Kiss A.K. Effects of phytochemically characterized extracts from *Syringa vulgaris* and isolated secoiridoids on mediators of inflammation in a human neutrophil model // Frontiers in pharmacology. 2018. Vol. 9. 349. doi: 10.3389/fphar.2018.00349
5. Oku H., Maeda M., Kitagawa F., Ishiguro K. Effect of polyphenols from *Syringa vulgaris* on blood stasis syndrome // Journal of clinical biochemistry and nutrition. 2020. Vol. 67, № 1. PP. 84–88. doi: 10.3164/jcbn.20-55
6. Hanganu D., Niculae M., Ielciu I., Olah N.-K., Munteanu M., Burtescu R., Ștefan R., Olar L., Pall E., Andrei S., Vodnar D.C., Benedec D., Oniga I. Chemical profile, cytotoxic activity and oxidative stress reduction of different *Syringa vulgaris* L. // Extracts. Molecules. 2021. Vol. 26, № 11. 3104. doi: 10.3390/molecules26113104
7. International Register and Checklist of cultivar names in the genus *Syringa* L. (Oleaceae). 2023. URL: <http://www.internationallilacsociety.org/public-register/> (дата обращения 28.02.2024).

8. Ткаченко К.Г., Рейнвальд В.М., Варфоломеева Е.А. Опыт зимнего зелёного черенкования коллекции сиреней в условиях защищённого грунта Ботанического сада Петра Великого // *Hortus botanicus*. 2023. Т. 18. URL: <http://hb.karelia.ru/journal/article.php?id=8745>. doi: 10.15393/j4.art.2023.8745
9. Charlebois D. Multiplication *in vitro* de *Syringa vulgaris* 'Katherine Havemeyer' et 'Charles Joly' // *Canadian Journal of Plant Science*. 2004. Vol. 84. PP. 279–289. doi: 10.4141/P02-105
10. Nesterowicz S., Kulpa D., Moder K., Kurek J. Micropropagation of an old specimen of common lilac (*Syringa vulgaris* L.) from the dendrological garden at Przelewiec // *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*. 2006. Vol. 5, № 1. PP. 27–35.
11. Molkanova O., Koroleva O. Biotechnological methods of *Syringa* L. collection propagation and preservation // *In Vitro. Cellular & Developmental Biology*. 2018. Vol. 54. PP. 545–546. doi: 10.1007/s11627-018-9927-9
12. Gabryszevska E. Effect of various levels of sucrose, nitrogen salts and temperature on the growth and development of *Syringa vulgaris* L. shoots *in vitro* // *Journal of fruit and ornamental plant research*. 2011. Vol. 19. PP. 133–148.
13. Lyubomirova T., Iliev I. *In vitro* propagation of *Syringa vulgaris* L. // *Forestry Ideas*. 2013. Vol. 19, № 2 (46). PP. 173–185.
14. Orsolya B., Clapa D., Fira A., Hârta M., Dumitraş A., Pop R., Pamfil D.C. The effect of gelling agent on the micropropagation of common lilac (*Syringa vulgaris* L.) // *Agriculture – Science and Practice*. 2017. № 3–4 (103–104). PP. 63–71.
15. Чурикова О.А., Криницына А.А. Изучение влияния состава питательной среды и тиадазурина на реализацию морфогенетического потенциала различных сортов сирени в культуре *in vitro* // *Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический*. 2019. Т. 124, вып. 5. С. 55–64.
16. Ilczuk A., Jagiełło-Kubiec K. The effect of plant growth regulators and sucrose on the micropropagation of common lilac (*Syringa vulgaris* L.) // *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW Horticulture and Landscape Architecture*. 2015. Vol. 36. PP. 3–12.
17. Tomsone S., Galemece A., Akere A., Priede G., Zira L. *In vitro* propagation of *Syringa vulgaris* L. cultivars // *Biologija*. 2007. Vol. 53, № 2. PP. 28–31.
18. Koroleva O.V., Molkanova O.I., Mishanova E.V. Biotechnological methods of reproduction and preservation of species and cultivars of the genus *Syringa* L. // *Acta Horticulturae*. 2022. Vol. 1339. PP. 87–92. doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1339.12
19. George E.F., Hall M.A., Klerk G.J.D. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists // *Plant Propagation by Tissue Culture*. Dordrecht, Netherlands : Springer Dordrecht, 2007. PP. 205–226. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_6
20. Phillips G.C., Garda M. Plant tissue culture media and practices: an overview // *In Vitro. Cellular & Developmental Biology. Plant*. 2019. Vol. 55. PP. 242–257. doi: 10.1007/s11627-019-09983-5
21. Cardoso J.C. *Meta*-Topolins: *in vitro* responses and applications in large-scale micropropagation of horticultural crops // *Meta*-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture. Singapore : Springer Singapore, 2021. PP. 203–219. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_15
22. Koç E. Effects of *meta*-Topolin on the growth, physiological and biochemical parameters in plant tissue culture // *Meta*-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture. Singapore : Springer Singapore, 2021. PP. 265–278. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_19
23. Bairu M.W., Stirk W.A., Dolezal K., Van Staden J. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: Can *meta*-Topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin? // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2007. Vol. 90. PP. 15–23. doi: 10.1007/s11240-007-9233-4

24. Amoo S.O., Finnie J.F., Van Staden J. The role of *meta*-Topolins in alleviating micropropagation problems // Plant Growth Regulation. 2011. Vol. 63. PP. 197–206. doi: 10.1007/s10725-010-9504-7
25. Werbrouck S.P.O. *Meta*-Topolin and related cytokinins as a solution to some *in vitro* problems // *Meta*-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture. Singapore : Springer Singapore, 2021. PP. 85–91. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_9
26. Mok M.C., Martin R.C., Dobrev P.I., Vanková R., Shing Ho P., Yonekura-Sakakibara K., Sakakibara H., Mok D.W.S. Topolins and hydroxylated thidiazuron derivatives are substrates of cytokinin o-glucosyltransferase with position specificity related to receptor recognition // Plant Physiology. 2005. Vol. 137, № 3. PP. 1057–1066. doi: 10.1104/pp.104.057174
27. Doležal K., Bryksová M. Topolin metabolism and its implications for *in vitro* plant micropropagation // *Meta*-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture. Singapore : Springer Singapore, 2021. PP. 49–58. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_6
28. Govindaraj S. Thidiazuron: A potent phytohormone for *in vitro* regeneration // Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator. Singapore : Springer Singapore, 2018. PP. 393–418. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_22
29. Guo B., Abbasi B.H., Zeb A., Xu L.L., Wei Y.H. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator // African Journal of Biotechnology. 2011. Vol. 10, № 45. PP. 8984–9000. doi: 10.5897/AJB11.636
30. Vinoth A., Ravindhran R. *In vitro* morphogenesis of woody plants using thidiazuron // Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator. Singapore : Springer Singapore, 2018. PP. 211–229. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_10
31. Набиева А.Ю. Биотехнологические приемы клонального микроразмножения перспективных сортов *Syringa vulgaris* L. для Западной Сибири // Вестник ИРГСАХ. 2011. Т. 5, № 44. С. 69–76.
32. Su Y.H., Liu Y.B., Zhang X.S. Auxin–cytokinin interaction regulates meristem development // Molecular Plant. 2011. Vol. 4, № 4. PP. 616–625. doi: 10.1093/mp/ssr007
33. Nowakowska K., Pacholczak A., Tepper W. The effect of selected growth regulators and culture media on regeneration of *Daphne mezereum* L. ‘Alba’ // Rendiconti lincei. Scienze fisiche e naturali. 2019. Vol. 30. PP. 197–205. doi: 10.1007/s12210-019-00777-w
34. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
35. Молканова О.И., Васильева О.Г., Коновалова Л.Н. Научные основы сохранения и устойчивого воспроизводства генофонда растений в культуре *in vitro* // Вестник удмуртского университета. Серия биология. Науки о Земле. 2015. Т. 15, вып. 2. С. 95–100.
36. Kieber J.J., Schaller G.E. Cytokinin signaling in plant development // Development. 2018. Vol. 145. 149344. doi: 10.1242/dev.149344
37. Phillips G.C. *In vitro* morphogenesis in plants: recent advances // In Vitro. Cellular & Developmental Biology. Plant. 2004. Vol. 40, № 4. PP. 342–345. <http://www.jstor.org/stable/4293752>
38. Amoo S.O., Aremu A.O., Van Staden J. *In vitro* plant regeneration, secondary metabolite production and antioxidant activity of micropropagated *Aloe arborescens* Mill. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2012. Vol. 111. PP. 345–358. doi: 10.1007/s11240-012-0200-3
39. Kucharska D., Orlikowska T., Maciorowski R., Kunka M., Wójcik D., Pluta S. Application of *meta*-Topolin for improving micropropagation of gooseberry (*Ribes grossularia*) // Scientia Horticulturae. 2020. Vol. 272. 109529. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109529
40. Manokari M., Mehta S.R., Priyadharshini S., Kumar B.M., Dulam S., Jayaprakash K., Mathiyazhagan C.R., Dey A., Rajput B.S., Shekhawat M.S. *Meta*-Topolin mediated improved micropropagation, foliar micro-morphological traits, biochemical profiling, and assessment of genetic fidelity in *Santalum album* L. // Industrial Crops and Products. 2021. Vol. 171. 113931. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113931

41. Bairu M.W., Aremu A.O., Van Staden J. Somaclonal variation in plants: Causes and detection methods // *Plant Growth Regulation*. 2011. Vol. 63. PP. 147–173. doi: 10.1007/s10725-010-9554-x
42. Patel A.K., Lodha D., Shekhawat N.S. An improved micropropagation protocol for the *ex situ* conservation of *Mitragyna parvifolia* (Roxb.) Korth. (Rubiaceae): An endangered tree of pharmaceutical importance // *In Vitro. Cellular & Developmental Biology. Plant*. 2020. Vol. 56. PP. 817–826. doi: 10.1007/s11627-020-10089-6
43. Chhajaj S., Kalia R.K. Seasonal and micro-environmental factors controlling clonal propagation of mature trees of marwar teak [*Tecomella undulata* (Sm.) Seem] // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017. Vol. 39. 60. doi: 10.1007/s11738-017-2364-2
44. Novikova T.I., Zaytseva Y.G. TDZ-induced morphogenesis pathways in woody plant culture // *Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator*. Singapore : Springer Singapore, 2018. PP. 61–94. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_3
45. Dewir Y.H., Nurmansyah, Naidoo, Y., da Silva J.A.T. Thidiazuron-induced abnormalities in plant tissue cultures // *Plant Cell Reports*. 2018. Vol. 37. PP. 1451–1470. doi: 10.1007/s00299-018-2326-1
46. Pai S.R., Desai N.S. Effect of TDZ on various plant cultures // *Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator*. Singapore : Springer Singapore, 2018. PP. 439–454. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_25
47. Van Staden J., Zazimalova E., George E.F. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists // *Plant propagation by tissue culture: Vol. 1. The Background*. Dordrecht, Netherlands : Springer, 2008. PP. 205–226. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_6
48. Guariniello J., Iannicelli J., Peralta P.A., Escandón A.S. *In vivo* and *in vitro* propagation of “macela”: A medicinal-aromatic native plant with ornamental potential // *Ornamental Horticulture*. 2018. Vol. 24, № 4. PP. 361–370. doi: 10.14295/oh.v24i4.1238
49. Mitrofanova I.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Chelombit S.V., Zhdanova I.V., Ivanova N.N., Mitrofanova O.V. The effect of plant growth regulators on the *in vitro* regeneration capacity in some horticultural crops and rare endangered plant species // *Acta Horticulturae*. 2022. Vol. 1339. PP. 181–190. doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1339.24
50. Bettoni J.C., Wang M.-R., Wang Q.-C. *In vitro* regeneration, micropropagation and germplasm conservation of horticultural plants // *Horticulturae*. 2024. Vol. 10, № 1. 45. doi: 10.3390/horticulturae10010045

References

1. The World Flora Online (WFO) Plant List. Genus *Syringa* L. [Electronic resource]. Available at: <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000037351-2023-12?page=1> (accessed 22.03.2024).
2. Su G, Cao Y, Li C, Yu X, Gao X, Tu P, Chai X. Phytochemical and pharmacological progress on the genus *Syringa*. *Chem. Cent. J.* 2015;9:2. doi: 10.1186/s13065-015-0079-2
3. Zhu W, Wang Z, Sun Y, Yang B, Wang Q, Kuang H. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of genus *Syringa*: A comprehensive review. *J. Ethnopharmacol.* 2021;266:113465. doi: 10.1016/j.jep.2020.113465
4. Woźniak M, Michalak B, Wyszomierska J, Dudek MK, Kiss AK. Effects of phytochemically characterized extracts from *Syringa vulgaris* and isolated secoiridoids on mediators of inflammation in a human neutrophil model. *Front. Pharmacol.* 2018;9:349. doi: 10.3389/fphar.2018.00349
5. Oku H, Maeda M, Kitagawa F, Ishiguro K. Effect of polyphenols from *Syringa vulgaris* on blood stasis syndrome. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2020;67(1):84-88. doi: 10.3164/jcbtn.20-55
6. Hanganu D, Niculae M, Ielciu I, Olah N-K, Munteanu M, Burtescu R, Ștefan R, Olar L, Pall E, Andrei S, Vodnar DC, Benedec D, Oniga I. Chemical profile, cytotoxic activity and oxidative stress reduction of different *Syringa vulgaris* L. *Extracts. Molecules*. 2021;26(11):3104. doi: 10.3390/molecules26113104

7. International Register and Checklist of cultivar names in the genus *Syringa* L. (Oleaceae). 2023. [Electronic resource]. Available at: <http://www.internationalilacsociety.org/public-register/> (accessed 28.02.2024).
8. Tkachenko K, Reinald V, Varfolomeeva E. Experience of winter green grafting of a collection of lilacs in the protected ground of the Botanical Garden of Peter the Great. *Hortus bot.* 2023;18. [Electronic resource]. Available at: <http://hb.karelia.ru/journal/article.php?id=8745> (accessed 28.02.2024). in Russian. doi: 10.15393/j4.art.2023.8745
9. Charlebois D. Multiplication *in vitro* de *Syringa vulgaris* 'Katherine Havemeyer' et 'Charles Joly'. *Can. J. Plant Sci.* 2004;84:279-289. doi: 10.4141/P02-105
10. Nesterowicz S, Kulpa D, Moder K, Kurek J. Micropropagation of an old specimen of common lilac (*Syringa vulgaris* L.) from the dendrological garden at Przelewiec. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus.* 2006;5(1):27-35.
11. Molkanova O, Koroleva O. Biotechnological methods of *Syringa* L. collection propagation and preservation. *In Vitro. Cell. Dev. Biol.* 2018;54:545-546. doi: 10.1007/s11627-018-9927-9
12. Gabryszevska E. Effect of various levels of sucrose, nitrogen salts and temperature on the growth and development of *Syringa vulgaris* L. shoots *in vitro*. *J. Fruit Ornament. Plant Res.* 2011;19:133-148.
13. Lyubomirova T, Iliev I. *In vitro* propagation of *Syringa vulgaris* L. *For. Ideas.* 2013;19,2(46):173-185.
14. Orsolya B, Clapa D, Fira A, Hârta M, Dumitraş A, Pop R, Pamfil DC. The effect of gelling agent on the micropropagation of common lilac (*Syringa vulgaris* L.). *Agric. Sci. Pract.* 2017;3-4(103-104):63-71.
15. Churikova OA, Krinitsina AA. The influence of nutritive medium composition and thidiazuron on realization of morphogenetic potential *in vitro* of different lilac cultivars. *Byull. Moskovsk. Obshch. Isp. Prir. Otd. Biol.* 2019;124(5):55-64. in Russian, English summary.
16. Ilczuk A, Jagiełło-Kubiec K. The effect of plant growth regulators and sucrose on the micropropagation of common lilac (*Syringa vulgaris* L.). *Ann. Warsaw Univ. Life Sci.-SGGW, Hortic. Landsc. Architect.* 2015;36:3-12.
17. Tomsone S, Galemece A, Akere A, Priede G, Zira L. *In vitro* propagation of *Syringa vulgaris* L. cultivars. *Biologija.* 2007;53(2):28-31.
18. Koroleva OV, Molkanova OI, Mishanova EV. Biotechnological methods of reproduction and preservation of species and cultivars of the genus *Syringa* L. *Acta Hort.* 2022;1339:87-92. doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1339.12
19. George EF, Hall MA, Klerk GJD. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. In: *Plant Propagation by Tissue Culture*. Netherlands: Springer Dordrecht; 2007. pp. 205-226. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_6
20. Phillips GC, Garda M. Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2019;55:242-257. doi: 10.1007/s11627-019-09983-5
21. Cardoso JC. *Meta-Topolins: In vitro* responses and applications in large-scale micropropagation of horticultural crops. In: *Meta-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture*. Singapore: Springer Singapore; 2021. pp. 203-219. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_15
22. Koç E. Effects of *Meta-Topolin* on the Growth, Physiological and Biochemical Parameters in Plant Tissue Culture. In: *Meta-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture*. Singapore: Springer Singapore; 2021. pp. 265-278. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_19
23. Bairu MW, Stirik WA, Dolezal K, Van Staden J. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: Can *meta-Topolin* and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin? *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2007;90:15-23. doi: 10.1007/s11240-007-9233-4
24. Amoo SO, Finnie JF, Van Staden J. The role of *meta-Topolins* in alleviating micropropagation problems. *Plant Growth Regul.* 2011;63:197-206. doi: 10.1007/s10725-010-9504-7

25. Werbrouck SPO. *Meta-Topolin* and related cytokinins as a solution to some *in vitro* problems. In: *Meta-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture*. Singapore: Springer Singapore; 2021. pp. 85-91. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_9
26. Mok MC, Martin RC, Dobrev PI, Vanková R, Shing Ho P, Yonekura-Sakakibara K, Sakakibara H, Mok DWS. Topolins and hydroxylated thidiazuron derivatives are substrates of cytokinin o-glucosyltransferase with position specificity related to receptor recognition. *Plant Physiology*. 2005;137(3):1057-1066. doi: 10.1104/pp.104.057174
27. Doležal K, Bryksová M. Topolin metabolism and its implications for *in vitro* plant micropropagation. In: *Meta-Topolin: A growth regulator for plant biotechnology and agriculture*. Singapore: Springer Singapore; 2021. pp. 49-58. doi: 10.1007/978-981-15-9046-7_6
28. Govindaraj S. Thidiazuron: A potent phytohormone for *in vitro* regeneration. In: *Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator*. Singapore: Springer Singapore; 2018. pp. 393-418. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_22
29. Guo B, Abbasi BH, Zeb A, Xu LL, Wei YH. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *Afr. J. Biotechnol.* 2011;10(45):8984-9000. doi: 10.5897/AJB11.636
30. Vinoth A, Ravindhran R. *In vitro* morphogenesis of woody plants using thidiazuron. In: *Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator*. Singapore: Springer Singapore; 2018. pp. 211-229. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_10
31. Nabieva AY. Biotechnological methods of clonal micropropagation of prospective *Syringa vulgaris* L. cultivars for Western Siberia. *Vestnik IrGSCCHA*. 2011;5(44):69-76. In Russian, English summary.
32. Su YH, Liu YB, Zhang XS. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Mol. Plant*. 2011;4(4):616-625. doi: 10.1093/mp/ssr007
33. Nowakowska K, Pacholczak A, Tepper W. The effect of selected growth regulators and culture media on regeneration of *Daphne mezereum* L. 'Alba'. *Rend. Fis. Acc. Lincei*. 2019;30:197-205. doi: 10.1007/s12210-019-00777-w
34. Butenko RG. Biologiya kletok vysshikh rasteniy *in vitro* i biotekhnologiya na ikh osnove [Biology of higher plant cells cultured *in vitro* and biotechnology on their basis: the manual]. Moscow: FBK-Press Publ.; 1999. 160 p. In Russian
35. Molkanova OI, Vasilyeva OG, Konovalova LN. The scientific basis for conservation and sustainable reproduction of plant genofond in culture *in vitro*. *Bull. Udmurt Univ. Ser. Biol. Earth Sci.* 2015;15(2):95-100. In Russian, English summary.
36. Kieber JJ, Schaller GE. Cytokinin signaling in plant development. *Development*. 2018;145:149344. doi: 10.1242/dev.149344
37. Phillips GC. *In vitro* morphogenesis in plants: recent advances. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 2004;40(4):342-345. doi: 10.1079/IVP2004555
38. Amoo SO, Aremu AO, Van Staden J. *In vitro* plant regeneration, secondary metabolite production and antioxidant activity of micropropagated *Aloe arborescens* Mill. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2012;111:345-358. doi: 10.1007/s11240-012-0200-3
39. Kucharska D, Orlikowska T, Maciorowski R, Kunka M, Wójcik D, Pluta S. Application of *meta-Topolin* for improving micropropagation of gooseberry (*Ribes grossularia*). *Sci. Hortic.* 2020;272:109529. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109529
40. Manokari M, Mehta SR, Priyadarshini S, Kumar BM, Dulam S, Jayaprakash K, Mathiyazhagan CR, Dey A, Rajput BS, Shekhawat MS. *Meta-Topolin* mediated improved micropropagation, foliar micro-morphological traits, biochemical profiling, and assessment of genetic fidelity in *Santalum album* L. *Industrial Crops and Products*. 2021;171:113931. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113931
41. Bairu MW, Aremu AO, Van Staden J. Somaclonal variation in plants: Causes and detection methods. *Plant Growth Regul.* 2011;63:147-173. doi: 10.1007/s10725-010-9554-x
42. Patel AK, Lodha D, Shekhawat NS. An improved micropropagation protocol for the *ex situ* conservation of *Mitragyna parvifolia* (Roxb.) Korth. (Rubiaceae): An endangered tree of pharmaceutical importance. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 2020;56:817-826. doi: 10.1007/s11627-020-10089-6

43. Chhajjer S, Kalia RK. Seasonal and micro-environmental factors controlling clonal propagation of mature trees of marwar teak [*Tecomella undulata* (Sm.) Seem]. *Acta Physiol Plant*. 2017;39:60. doi: 10.1007/s11738-017-2364-2
44. Novikova TI, Zaytseva YG. TDZ-induced morphogenesis pathways in woody plant culture. In: *Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator*. Singapore: Springer Singapore; 2018. pp. 61-94. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_3
45. Dewir YH, Nurmansyah, Naidoo Y, da Silva JAT. Thidiazuron-induced abnormalities in plant tissue cultures. *Plant Cell Rep*. 2018;37:1451-1470. doi: 10.1007/s00299-018-2326-1
46. Pai SR, Desai NS. Effect of TDZ on various plant cultures. In: *Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator*. Singapore: Springer Singapore; 2018. pp. 439-454. doi: 10.1007/978-981-10-8004-3_25
47. Van Staden J, Zazimalova E, George EF. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. In: *Plant propagation by tissue culture: Volume 1. The Background*. Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2008. pp. 205-226. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_6
48. Guariniello J, Iannicelli J, Peralta PA, Escandón AS. *In vivo* and *in vitro* propagation of “macela”: A medicinal-aromatic native plant with ornamental potential. *Ornam. Hortic*. 2018;24(4):361-370. doi: 10.14295/oh.v24i4.1238
49. Mitrofanova IV, Lesnikova-Sedoshenko NP, Chelombit SV, Zhdanova IV, Ivanova NN, Mitrofanova OV. The effect of plant growth regulators on the *in vitro* regeneration capacity in some horticultural crops and rare endangered plant species. *Acta Hortic*. 2022;1339:181-190. doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1339.24
50. Bettoni JC, Wang M-R, Wang Q-C. *In vitro* regeneration, micropropagation and germplasm conservation of horticultural plants. *Horticulturae*. 2024;10(1):45. doi: 10.3390/horticulturae10010045

Информация об авторах:

Королева Ольга Васильевна, н.с. лаборатории биотехнологии растений, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина (Москва, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9416-4396>

E-mail: elaem@yandex.ru

Молканова Ольга Ивановна, канд. с.-х. наук, в.н.с., зав. лабораторией биотехнологии растений, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина (Москва, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4664-7809>

E-mail: molkanova@mail.ru

Крахмалева Ирина Леонидовна, н.с. лаборатории биотехнологии растений, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина (Москва, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0409-6989>

E-mail: seglory@bk.ru

Орлова Наталия Дмитриевна, м.н.с. лаборатории биотехнологии растений, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина (Москва, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5191-2627>

E-mail: irosvet96@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Olga V. Koroleva, researcher of the Laboratory of Plant Biotechnology, Tsitsin Main Botanical Garden (Moscow, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9416-4396>

E-mail: elaem@yandex.ru

Olga I. Molkanova, Cand. Sci. (Agr.), leading researcher, Head of the Laboratory of Plant Biotechnology, Tsitsin Main Botanical Garden (Moscow, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4664-7809>

E-mail: molkanova@mail.ru

Irina L. Krakhmaleva, researcher of the Laboratory of Plant Biotechnology, Tsitsin Main Botanical Garden (Moscow, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0409-6989>

E-mail: seglory@bk.ru

Nataliya D. Orlova, junior researcher of the Laboratory of Plant Biotechnology, Tsitsin Main Botanical Garden (Moscow, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5191-2627>

E-mail: irosvet96@mail.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 29.05.2024;
одобрена после рецензирования 02.07.2024; принята к публикации 04.09.2025*

*The article was submitted 29.05.2024;
approved after reviewing 02.07.2024; accepted for publication 04.09.2025*