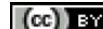


Научная статья

УДК 634.711:57.043

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06



Криоконсервация селекционных сортов рябины из *in vitro* коллекции ВИР

С. Е. Дунаева, О. В. Лисицына, Н. Н. Волкова, Т. А. Гавриленко

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР),
Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Андреевна Гавриленко, tatjana9972@yandex.ru

Актуальность. Перспективной стратегией для долгосрочного хранения видового и сортового генетического разнообразия рябины в контролируемых условиях среды является криоконсервация, позволяющая минимизировать риск генетических изменений у образцов, сохраняемых в жидком азоте. В то же время известно всего лишь несколько работ по криоконсервации единичных образцов рябины. Задачей настоящей работы являлась криоконсервация шести сортов рябины отечественной селекции и передача их на длительное хранение в криобанк ВИР. **Материалы и методы.** Для криоконсервации были использованы образцы сортов рябины из коллекции *in vitro* ВИР: 'Алая крупная', 'Бурка', 'Гранатная', 'Красная крупная', 'Сорбinka' и 'Титан', включая два сорта селекции И.В. Мичурина. Криоконсервацию апексов микрорастений проводили методом дропплет-витрификации, модифицированным в ВИР. **Результаты и обсуждение.** Уровень посткриогенной регенерации шести сортов рябины в контрольных вариантах опытов варьировался от 53% ('Гранатная') до 97% ('Алая крупная'). Длительность культивирования разных образцов в коллекции *in vitro*, которое варьировало от двух до 17 лет, существенно не влияла на уровень их посткриогенной регенерации. В криобанк ВИР на длительное хранение заложены образцы шести сортов рябины в количестве 90 апексов на образец. **Заключение.** Метод дропплет-витрификации, модифицированный в ВИР, показал высокую эффективность при криоконсервации образцов рябины. В криобанк ВИР заложены шесть сортов рябины с посткриогенной регенерацией 53-97%. Планируется дальнейшее увеличение криоколлекции образцов рябины.

Ключевые слова: *Sorbus L.*, сорта российской селекции, дропплет-витрификация, криоколлекция, криобанк ВИР

Благодарности: Работа выполнена в рамках реализации Программы развития Национального центра генетических ресурсов растений по соглашению с Минобрнауки России от 26 февраля 2025 года №075-02-2025-1584

Для цитирования: Дунаева С.Е., Лисицына О.В., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Криоконсервация селекционных сортов рябины из коллекции *in vitro* ВИР. *Биотехнология и селекция растений.* 2025;8(3):55-64. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Дунаева С.Е., Лисицына О.В., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А., 2025

Original article
DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06

Cryopreservation of bred cultivars of rowan from the VIR *in vitro* collection

Svetlana E. Dunaeva, Olga V. Lisitsyna, Natalia N. Volkova, Tatjana A. Gavrilenko

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Tatjana A. Gavrilenko, tatjana9972@yandex.ru

Background. Cryopreservation is a promising strategy for the long-term preservation of genetic diversity of rowan species and cultivars in controlled environments. It minimizes the risk of genetic changes in accessions stored in liquid nitrogen. However, only a few studies on the cryopreservation of single rowan accessions are known. The objective of our study was the cryopreservation of six rowan cultivars bred in Russia and their transfer to the VIR cryobank for long-term storage. **Materials and methods.** Accessions of six Russian rowan cultivars ('Alaya krupnaya', 'Burka', 'Granatnaya', 'Krasnaya krupnaya', 'Sorbinka' and 'Titan') from the VIR *in vitro* collection, including two cultivars bred by I.V. Michurin, were taken for cryopreservation. The droplet vitrification method modified at VIR was used for cryopreservation of microplant apices. **Results and discussion.** The level of post-cryogenic regeneration in the control variants varied from 53% ('Granatnaya') to 97% ('Alaya krupnaya'). The duration of *in vitro* cultivation of the accessions which varied from two to 17 years did not significantly affect the level of their post-cryogenic regeneration. All six cultivars were transferred to the VIR cryobank for long-term storage in the amount of 90 apices per accession. **Conclusion.** The droplet vitrification method modified at VIR has demonstrated high efficiency for cryopreservation of rowan accessions. Six rowan cultivars were placed in the VIR cryobank with the post-cryogenic regeneration level of 53%-97%. Further increase of the cryocollection of rowan accessions is planned.

Keywords: *Sorbus* L., Russian-bred cultivars, droplet vitrification, cryocollection, cryobank

Acknowledgements: The work was carried out as part of the implementation of the Program of Development of the National Center for Plant Genetic Resources under the Agreement No. 075-02-2025-1584 with the Ministry of Education and Science of Russia dated February 26, 2025

For citation: Dunaeva S.E., Lisitsyna O.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of bred cultivars of rowan from the VIR *in vitro* collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(3):55-64. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-3-06

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Dunaeva S.E., Lisitsyna O.V., Volkova N.N., Gavrilenko T.A., 2025

Введение

Представители рода *Sorbus* L. распространены в Европе, в большей части Азии, на севере Африки и в Северной Америке; наиболее распространены в умеренной зоне северного полушария (Komarov, 1939; Aldasoro et al., 1998; Vitkovsky, 2003). Центры наибольшего разнообразия видов рода *Sorbus* находятся в Гималаях и на территории западного Китая (Phipps et al., 1990). Род *Sorbus* включает более 250 видов и является одним из наиболее сложных в таксономическом отношении, что обусловлено обширной морфологической изменчивостью и большим внутривидовым разнообразием многих видов, а также частой межвидовой гибридизацией с последующей стабилизацией потомства посредством апомиксиса (Phipps et al., 1990; Aldasoro et al., 1998; Ludwig et al., 2013).

Рябина отличается скороплодностью, экологической приспособляемостью и накоплением в плодах высокого уровня биологически активных веществ (Streltsina et al., 2010; Sarv et al., 2020; Raudonis et al., 2014), используется как продовольственная и декоративная культура, применяется в традиционной медицине и является ценным сырьем для деревообрабатывающей промышленности (Konovalov, 1954; Petrov, 1957; Rengarten, Sorokopudov, 2019a; 2019b; Klein et al., 2016).

Сохранение генетического разнообразия рябины актуально. Так, в опубликованном Международным союзом охраны природы и природных ресурсов (IUCN) Европейском красном списке деревьев указывается, что более трех четвертей видов рода *Sorbus*, произрастающих в Европе, находятся под угрозой исчезновения (The European Red List of Trees, 2025). Коллекции образцов различных видов и гибридов рода *Sorbus* сохраняются в ботанических садах и дендрариях многих стран Западной Европы – Бельгии, Нидерландов, Норвегии, Швеции, Шотландии, а также в США (King et al., 2023). В России наиболее крупные коллекции рябины находятся в Ботаническом саду Петра Великого, Санкт-Петербург, где сохраняются представители 44 видов и форм (Firsov, Vasiljev, 2015), в Сахалинском филиале Ботанического сада-института ДВО РАН – образцы 68 видов (Taran et al., 2011), в Центральном сибирском ботаническом саду Сибирского отделения РАН (ЦСБС СО РАН) – образцы ~40 видов и 26 межвидовых гибридов (Gorbunov, 2018), в коллекции Ботанического сада-института Уфимского научного центра РАН – образцы 31 вида и 11 сортов (Abdullina, 2017), в коллекционном фонде Полярно-альпийского ботанического сада-института (ПАБСИ) – представители 22 видов (Goncharova, 2022).

Представители видов *Sorbus aucuparia* L., *S. torminalis* (L.) Cranz., *S. discolor* (Maxim.) Maxim., *S. domestica* L., *S. aria* L.) Cranz, *S. chamaemespilus* (L.) Crantz, *S. austriaca* (Beck) Hdl. культивируются как декоративные растения в ботанических садах и парках Европы и Северной Америки (Mikulic-Petkovsek et al., 2017; Bobinaité et al., 2020). Плоды разных видов рябины бога-

тые витаминами, полисахаридами, органическими кислотами, биологически активными веществами, являются перспективным источником для создания лекарственных препаратов (Arvinte et al., 2023).

Известны как минимум 72 сорта рябины (Rengarten, Sorokopudov, 2019b). Около 25 сортов выведено в России. Основателем селекции рябины как плодовой культуры в России является И.В. Мичурин, который придавал большое значение введению в культуру новых нетрадиционных садовых растений (Kuminov, Zhidkina, 2003). На основе отдаленной гибридизации И.В. Мичурином были получены сорта рябины, которые до сих пор используются в селекции (Rengarten, Sorokopudov, 2019b). В качестве исходных форм для проведения скрещиваний И.В. Мичурин использовал широко распространенный морозоустойчивый вид рябины обыкновенной *Sorbus aucuparia* L. При межвидовой гибридизации этого вида с рябиной черноплодной *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot был получен сорт ‘Ликерная’, а при гибридизации с рябиной альпийской был выведен сорт ‘Бурка’. В дальнейшем, зарубежные исследователи отмечали высокую антиоксидантную активность и уникальный фитохимический состав плодов у сортов ‘Бурка’ и ‘Ликерная’ (Drouet et al., 2018). На основе межродовых скрещиваний, например, с боярышником *Crataegus sanguinea* Pall., был получен сорт ‘Гранатная’, а при скрещивании сорта ‘Ликерная’ с мушмулой *Mespilus germanica* L. – сорт ‘Мичуринская десертная’ (Sokolov et al., 2015). Созданный И.В. Мичурином гибридный фонд широко использовался его последователями, также привлекавшими для получения новых сортов рябины метод отдаленной гибридизации. В частности, сорт рябины ‘Титан’ был получен в комбинации скрещивания *S. aucuparia* × *Pyrus* sp. × *Malus* sp. (Poplavskaya, 2006). На основе целенаправленной интродукции и селекции последователи И.В. Мичурину селекционеры А.С. Тихонова и Т.К. Поплавская создали ряд сортов рябины: ‘Алая крупная’, ‘Дочь Кубовой’, ‘Рубиновая’, ‘Ангри’, ‘Бусинка’, ‘Вефед’, ‘Сорбинка’ (Kuminov, Zhidkina, 2003). В настоящее время в Государственном реестре сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию (далее в Госреестре), числится 11 сортов рябины отечественной селекции, из них девять сортов рябины выведены в ФГБНУ «Федеральный Научный Центр им. И.В. Мичурина» (ФНЦ им. И.В. Мичурина», State Register, 2024).

Информация о семенных и клоновых коллекциях рябины в генетических банках растений ограничена. В частности, 67 образцов видов и сортов рябины сохраняются в коллекции Национального хранилища клоновой зародышевой плазмы в Корваллисе, штат Орегон, США (NCGR, 2025). Там же сохраняются и 11 селекционных образцов, созданных классиками плодовой селекции прошлого века – Л. Бербанком и И.В. Мичурином (King et al., 2023).

Полевая коллекция ВИР насчитывает 48 образцов рябины. В коллекции ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичу-

рина» в настоящее время сохраняются 23 сорта рябины и семь сортов аронии (персональное сообщение вед. науч. сотрудника, зав. отделом ягодных культур, канд. с.-х. наук Т.В. Жидехиной).

Еще меньше есть информации о сохранении образцов рябины в контролируемых условиях среды в коллекциях *in vitro* и криоколлекциях, несмотря на относительно большое число работ по оптимизации методов микроразмножения *in vitro* с целью сохранения образцов редких видов (Arrillaga et al., 1991; Mándy et al., 1997; Dobránszki et al., 2012; Máchová et al., 2013; Chalupa, 2002; Šedivá et al., 2023; Mendler-Drienyovszki, Magyar-Tábori, 2023; Gianguzzi, Sottile, 2024). Методы криоконсервации использовались для единичных образцов: одного образца вида *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. (Kadolsky, 2005) и двух мичуринских сортов рябины (Vysotskaya, 2008). Два образца рябины находятся на длительном хранении в криобанке Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Yuorieva et al., 2023).

Как отмечено выше, в полевой коллекции ВИР сохраняются 48 образцов рябины, включая образцы 20 видов, 16 сортов, 12 из которых гибридного происхождения, и один образец аронии. Из них 46 образцов поддерживаются в полевой коллекции НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» и два – в полевой коллекции Филиала «Полярная опытная станция ВИР» (сообщение куратора полевой коллекции ст. науч. сотрудника отдела ГРР плодовых культур ВИР М.Н. Петровой). Дублетная *in vitro* коллекция ВИР включает 13 образцов рябины (Dunaeva et al., 2018).

Для криоконсервации образцов разных видов растений успешно используется метод дроплет-витрификации (Panis et al., 2005; 2011; Panis, 2019). Данный метод применяется и в отделе биотехнологии ВИР для создания дублетных криоколлекций образцов малины (Камнев et al., 2022) и картофеля (Gavrilenko et al., 2019; Efremova et al., 2023) и их длительного хранения в криобанке ВИР. Задача настоящей работы заключалась в криоконсервации образцов рябины из *in vitro* коллекции ВИР с целью формирования криоколлекции этой культуры.

Материалы и методы

Информация о шести сортах рябины, использованных в данной работе, представлена в таблице. Три из шести сортов входят в Госреестр селекционных достижений (State Register, 2024), пять, кроме сорта 'Сорбинка', входят в Национальный Каталог. Сорта 'Бурка' и 'Гранатная' можно отнести к историческим, оба были созданы И.В. Мичуриным.

Два сорта, 'Сорбинка' и 'Титан', были получены из коллекции «ФНЦ им. И.В. Мичурина» в 2023 году, остальные – из полевой коллекции Павловской опытной станции ВИР в 2006-2007 годах (таблица). Сразу после

получения растительного материала, годичных побегов, образцы были введены в культуру *in vitro*. Таким образом, два образца, 'Сорбинка' и 'Титан', поддерживаются в коллекции ВИР около двух лет, а остальные – от 16 до 17 лет.

Введение в культуру *in vitro* и поддержание образцов в коллекции *in vitro* проводили согласно методикам, приведенным в Методических указаниях ВИР (Dunaeva et al., 2017). Поддержание образцов в активной *in vitro* коллекции проводится на безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга – MS (Murashige, Skoog, 1962).

Криоконсервация. Для получения необходимого числа апексов (около 200 на один образец) верхушки побегов растений из культуры *in vitro* высаживали на питательную среду MS, дополненную 6-БАП (1 мг/л), сахарозой (30 г/л) и агаром (7 г/л) и проводили одно-два субкультивирования с интервалом 4-5 недель. Для каждого образца вычленяли 180 апексов, по 60 в трех независимых повторностях. Криоконсервацию эксплантов осуществляли методом дроплет-витрификации (DV, Panis et al., 2005) в модификациях (Dunaeva et al., 2017; Ukhatova et al., 2017; Gavrilenko et al., 2019). В каждой повторности 10 апексов использовали в контрольном варианте '–LN' – обработка эксплантов и криопротекторами без погружения в жидкий азот, 20 – в контрольном варианте '+LN' – обработка эксплантов криопротекторами с погружением в жидкий азот на один час.

Для оценки регенерационной способности апексы контрольных вариантов культивировали на питательной среде MSTo (меристемная среда, Towill, 1983), включающей макросоли, микросоли и витамины по MS, сахарозу – 20 г/л, агар – 7 г/л, зеатин рибозид – 0,5 мг/л, ИУК – 0,5 мг/л, ГК – 0,2 мг/л. Растворы фитогормонов стерилизовали через мембранный фильтр, размер пор 0,22 мкм, и добавляли в охлажденную питательную среду MS. Культуры *in vitro* поддерживали при температуре 22-23°C, при фотопериоде 16 часов и интенсивности светового потока 40 мкмоль $m^{-2}s^{-1}$. Регенерационную способность апексов в контрольных вариантах определяли через шесть недель после криоконсервации, подсчитывая среднее значение по трем повторностям. Оставшиеся 30 криоконсервированных эксплантов в каждой повторности оставляли в сосуде Дьюара с жидким азотом для передачи в криобанк. Каждый образец закладывали на длительное хранение в криобанк ВИР в количестве 90 апексов.

Результаты и обсуждение

В результате микроразмножения образцов из коллекции *in vitro* было получено необходимое число микропобегов для изоляции и последующей криоконсервации апексов (рис. 1 а, б). Регенерационная способность каждого из шести сортов рябины была определена в трех повторностях для двух контрольных вариантов опыта: '–LN' и '+LN' (см. Материалы и методы; рис. 1 с, д).

Таблица. Характеристика сортов рябины, используемых для криоконсервации
Table. Characteristics of rowan cultivars used for cryopreservation

Сорт, № каталога VIR/ Cultivar, VIR catalogue No.	Авторы сорта, место выведения сорта/ Cultivar author, released by	Родительские формы, метод получения/ Parent forms, breeding method	Данные Госреестра/ State Register Data (State Register, 2024)			Основные характеристики сорта/ Main characteristics of the cultivar	Ссылка/ Reference
			Год включения в Госреестр/ Year of inclusion in the State Register	Код в Госреестре/ Code in the State Register	Регион допуска/ Region of admittance		
‘Алая крупная’, к-40574	А.С. Тихонова, Т.К. Полтавская ВНИИГиСПР имени И.В. Мичурина*	<i>S. aucuparia</i> × (смесь пыльцы сортов группы) × <i>S. aucuparia</i> <i>var. moravica</i> Zengen.	8404275	1999	Все регионы	Высокая урожайность. Очень высокая зимостойкость. Устойчив к засухам, вредителям и болезням. Самоплодность 18,7%.	Sedov, 2014
‘Бурка’, к-40566	И.В. Мичурин питомник И.В. Мичурина, 1918 год	<i>S. alpina</i> × <i>S. aucuparia</i>	—	—	—	Плоды сладкие. Дерево чрезвычайно выносливо к морозам.	Michurin, 1949
‘Гранатная’, к-40571	И.В. Мичурин Селекционно- генетическая станция плодовых культур, 1926 год	<i>S. aucuparia</i> L. × <i>Crataegus sanguinea</i> Pall.	—	—	—	Морозостойкость высокая. Плоды крупные, кисло-сладкого вкуса, без горечи.	Michurin, 1949
‘Красная крупная’, к-40572 (‘Красная крупноплодная’)	Народная селекция Невежинской рябине	относится к	—	—	—	Высокорослое дерево, плоды кисло- сладкого вкуса. Зелеными черенками размножается плохо.	Ermakov et al., 2019
‘Титан’, и-645223	А.С. Тихонова Т.К. Полтавская ВНИИГиСПР имени И.В. Мичурина	<i>S. aucuparia</i> × (смесь пыльцы <i>Pyrus</i> sp. × <i>Malus</i> sp)	8802955	1999	Все регионы	Ранний срок вступления в плодоношение, морозостойкий, устойчивый к засухе, болезням и вредителям. Самоплодность 26,6%.	Poplavskaya, 2006
‘Сорбинка’, и-645222	Т.К. Полтавская ВНИИГиСПР имени И.В. Мичурина	Отбор из популяции <i>S. aucuparia</i> <i>var. moravica</i> Zengen.	9005161	1999	Все регионы	Зимостойкий, устойчивый к болезням, универсального назначения. Урожай обильный, ежегодный. Самоплодность 23,9%.	Poplavskaya, 2006

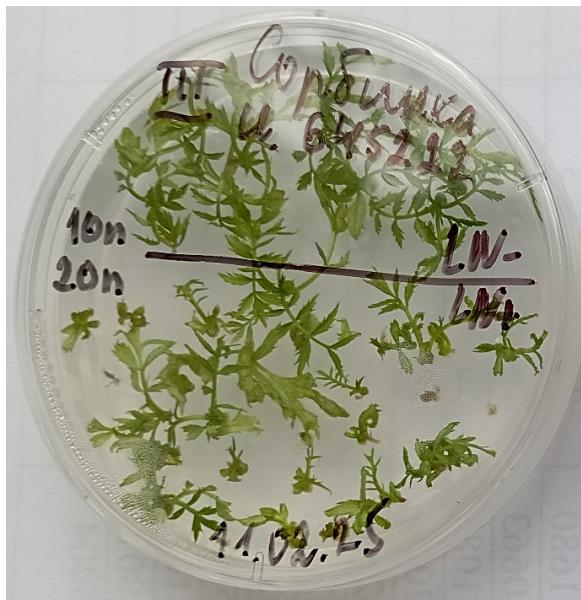
* – ВНИИГиСПР – Всесоюзный научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений, теперь – «ФНЦ им. И.В. Мичурина»



a



b



c



d

Рис. 1. Микроразмножение образцов рябины для дальнейшей криоконсервации и оценка регенерационной способности изолированных апексов микропобегов в контрольных вариантах опытов

а – микрорастения рябины из коллекции *in vitro*; б – этап микроразмножения; регенерационная способность апексов в контрольных опытах ‘-LN’ и ‘+LN’ у сортов ‘Сорбinka’ (с) и ‘Бурка’ (д).

Fig. 1. Micropagation of rowan accessions for further cryopreservation; regenerative capacity of isolated apices in control tests

а – rowan microplants from the *in vitro* collection; б – micropagation stage; apex regenerative capacity in cvs. ‘Sorbinka’ (c) and ‘Burka’ (d) in control ‘-LN’ and ‘+LN’ tests.

У шести сортов рябины уровень регенерации в варианте ‘–LN’ варьировал от 100±0% (‘Красная крупная’) до 75±15% (‘Сорбинка’), а в варианте пост-криогенной регенерации ‘+LN’ – от 53,3±1,7% (‘Гранатная’) до 96,6±1,6% (‘Алая крупная’) (рис. 2). Сорт ‘Алая крупная’ по частоте посткриогенной регенерации достоверно превышал другие сорта за исключением сорта ‘Бурка’. Следует отметить, что сорта рябины ‘Алая крупная’, ‘Бурка’,

‘Гранатная’ и ‘Красная крупная’ были введены в коллекцию *in vitro* в 2006-2007 годах, в то время как сорта ‘Сорбинка’ и ‘Титан’ – в 2023 году, то есть на 16-17 лет позже. Как видно из полученных данных (см. рис. 2), фактор длительности пребывания образцов в культуре *in vitro* не оказал существенного влияния на их регенерационную способность, в том числе и после криоконсервации.

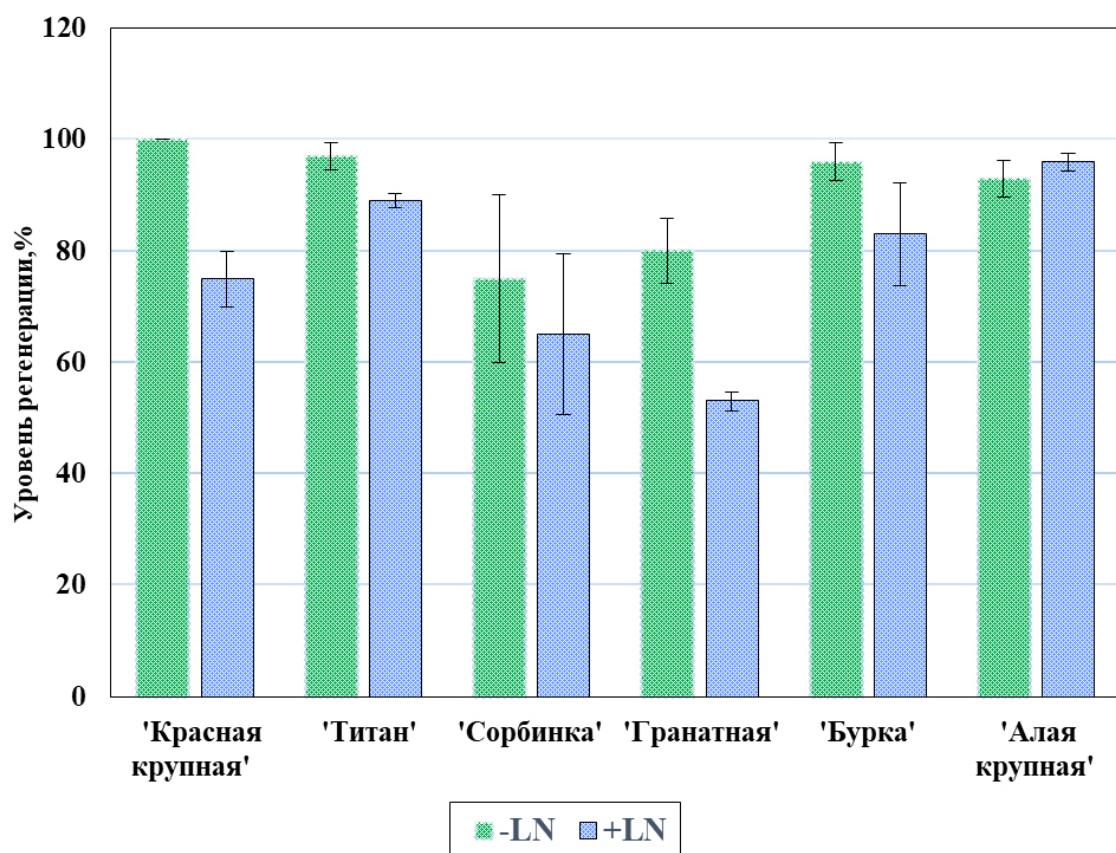


Рис. 2. Уровень регенерации апексов у шести сортов рябины в контрольных вариантах опытов ‘–LN’ (■) и ‘+LN’ (□)

Fig. 2. Apex regeneration level in six rowan cultivars in control ‘–LN’ (■) and ‘+LN’ (□) tests

В зависимости от сорта уровень пост-криогенной регенерации в контрольных экспериментах (вариант опыта ‘+LN’) варьировал от 97% до 53%, что соответствует рекомендациям для закладки образцов на длительное хранение, согласно которым уровень регенерации у передаваемых в криобанки образцов должен составлять не менее 39% (Dussert et al., 2003; Volk et al., 2017). Таким образом, в настоящей работе продемонстрирована высокая эффективность использования модифицированного в ВИР метода дропплет-витрификации для криоконсервации сортов рябины. Полученные нами результаты согласуются с опубликованными данными (Kadolsky, 2005; Vysotskaya, 2008), в которых криоконсервацию единич-

ных образцов рябины проводили с использованием различных методов; в обеих работах авторы зарегистрировали высокий процент посткриогенной жизнеспособности эксплантов – от 80% до 100%.

В криобанк ВИР на длительное хранение заложены образцы шести сортов рябины в количестве 90 апексов на образец. Эти результаты можно рассматривать как начало формирования криоколлекции образцов рябины в ВИР.

Заключение

Результаты проведенной нами работы указывают на перспективы использования метода дропплет-витрифика-

ции для дальнейшего расширения криоколлекции образцов рябины, что является перспективной стратегией для долгосрочного хранения видового и сортового разнообразия рябины, позволяющей минимизировать риск генетических изменений сохраняемых образцов.

References/Литература

- Abdullina R.G. Collection of *Sorbus* L. genus in the city of Ufa Botanical Garden. *Hortus Botanicus*. 2017;2:713-721. [in Russian] (Абдуллина Р.Г. Коллекция рода *Sorbus* L. в ботаническом саду г. Уфа. *Hortus Botanicus*. 2017;2:713-721). DOI: 10.15393/j4.art.2017.4383
- Aldasoro J.J., Aedo C., Navarro C., Garmendia F.M. The genus *Sorbus* (Maloideae, Rosaceae) in Europe and in North Africa: morphological analysis and systematics. *Systematic Botany*. 1998;23:189-212.
- Arrillaga I., Marzo T., Segura J. Micropagation of juvenile and adult *Sorbus domestica* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1991;27(3):341-348. DOI: 10.1007/BF00157600
- Arvinte O.M., Senila L., Becze A., Amariei S. Rowanberry – a source of bioactive compounds and their biopharmaceutical properties. *Plants*. 2023;12(18):3225. DOI: 10.3390/plants12183225
- Bobinaitė R., Grootaert C., Van Camp J., Šarkinas A., Liaudanskas M., Žvirkas V., Viškelis P., Venskutonis P.R. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of the extracts isolated from the pomace of rowanberry (*Sorbus aucuparia* L.). *Food Research International*. 2020;136:109310. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109310
- Chalupa V. *In vitro* propagation of mature trees of *Sorbus aucuparia* L. and field performance of micropaginated trees. *Journal of Forest Science*. 2002;48:529-535. DOI: 10.17221/11923-JFS
- Dobránszki J., Magyar-Tábori K., Jevcsák M., ÖRDöGH M., Jámbor-Benczür E. Improving the *in vitro* rooting of micro-shoots of *Sorbus rotundifolia* 'Bükk szépe' by the sequential application of Humus® FW and Wuxal® Super organic and chemical fertilisers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2012;87(5):509-513. DOI: 10.1080/14620316.2012.11512903
- Drouet S., Doussot J., Garros L., Mathiron D., Bassard S., Favre-Réguillon A., Molinié R., Lainé É., Hano C. Selective synthesis of 3-O-palmitoyl-silybin, a new-to-nature flavonolignan with increased protective action against oxidative damages in lipophilic media. *Molecules*. 2018;23(10):2594. DOI: 10.3390/molecules23102594
- Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Y., Shvachko N.A., Ukhatova Y.V., Shuvalova L.E. Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Preservation of vegetatively propagated crops in *in vitro* and cryo collections: methodological guidelines. (Sokhraneniye vegetativno razmnozhayemykh kul'tur v *in vitro* i krio kollektsiyakh: metodicheskiye ukazaniya / pod red. T.A. Gavrilenko. 2-ye izd. Sankt-Peterburg: VIR; 2017. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Ухатова Ю.В., Шувалова Л.Е., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и крио коллекциях: методические указания / под ред. Т.А. Гавриленко. 2-е изд. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).
- Dunaeva S.E., Orlova S.Yu., Tikhonova O.A., Gavrilenko T.A. *In vitro* collection of berry and fruit crops and their wild relatives at VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2018;1(1):43-51. [in Russian] (Дунаева С.Е., Орлова С.Ю., Тихонова О.А., Гавриленко Т.А. Образцы ягодных и плодовых культур и их дикорастущих родичей в коллекции *in vitro* ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2018;1(1):43-51). DOI: 10.30901/2658-6266-2018-1-43-51
- Dussert S., Engelmann F., Noirot M. Development of probabilistic tools to assist in the establishment and management of cryopreserved plant germplasm collections. *CryoLetters*. 2003;24(3):149-160.
- Efremova O.S., Volkova N.N., Rybakov D.A., Lisitsyna O.V., Ozerski P.V., Gavrilenko T.A. Development of the potato cryocollection preserved in the VIR cryobank. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(3):9-20. [in Russian] (Ефремова О.С., Волкова Н.Н., Рыбаков Д.А., Лисицына О.В., Озерский П.В., Гавриленко Т.А. Развитие криоколлекции картофеля, сохраняемой в криобанке ВИР. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(3):9-20). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-9-20
- Ermakov M.A., Volkova O.D., Khotsialova L.I., Zagumennikova T.N., Potapova A.V. Rowan in the collection of the Laboratory of Cultivated Plants of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (Ryabina v kollektsiyakh laboratorii kulturnykh rastenij Glavnogo botanicheskogo sada imeni N.V. Tsitsina RAN) *Hortus Botanicus*. 2019;14. [in Russian] (Ермаков М.А., Волкова О.Д., Хоциалова Л.И., Загуменикова Т.Н., Потапова А.В. Рябина в коллекции лаборатории культурных растений Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН. *Hortus Botanicus*. 2019;14). DOI: 10.15393/j4.art.2019.6224
- Firsov G.A., Vasiljev N.P. The genus Rowan (*Sorbus*) in the collection of Peter the Great Botanical Gardens in St. Petersburg. (Rod Ryabina (*Sorbus*) v kollektsiyakh Botanicheskogo sada Petra Velikogo v Sankt-Peterburge). *Flora and vegetation of Asian Russia*. 2015;4(20):86-93. [in Russian] (Фирсов Г.А., Васильев Н.П. Род Рябина (*Sorbus*) в коллекции Ботанического сада Петра Великого в Санкт-Петербурге. *Растительный мир Азиатской России*. 2015;4(20):86-93).
- Gavrilenko T.A., Shvachko N.A., Volkova N.N., Ukhatova Yu.V. A modified droplet vitrification method for cryopreservation of shoot tips from *in vitro* potato plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(4):422-429. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Швачко Н.А., Волкова Н.Н., Ухатова Ю.В. Модифицированный метод дроплет-витрификации для криоконсервации апексов *in vitro* растений картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(4):422-429). DOI: 10.18699/VJ19.505
- Gianguzzi V., Sottile F. Temporary immersion system as an innovative approach for *in vitro* propagation of *Sorbus domestica* L. *Horticulturae*. 2024;10(2):164. DOI: 10.3390/horticulturae10020164
- Goncharova O.A. Assessment of vitality and decorative qualities of introduced plants of the genus *Sorbus* L. on the Kola Peninsula (Otsenka zhiznennogo sostoyaniya i dekorativnykh kachestv introdutsirovannykh rastenij roda *Sorbus* L. na Kol'skom poluostrove). *Hortus Botanicus*. 2022;17:139-153. [in Russian] (Гончарова О.А. Оценка жизненного состояния и декоративных качеств интродуцированных растений рода *Sorbus* L. на Кольском полуострове. *Hortus Botanicus*. 2022;17:139-153).
- Gorbunov A.B. Introduction of not widespread fruits and berries in Siberia for their application as functional food products. *Vestnik NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2018;(4):62-73. [in Russian] (Горбунов А.Б. Интродукция малораспространенных плодовых и ягодных растений Сибири для использования в качестве функциональных продуктов питания. *Вестник НГАУ*. 2018;(4):62-73). DOI: 10.31677/2072-6724-2018-49-4-62-73
- Kadolsky M. Kryokonservierung und *in vitro* kultur von *Pyrus pyraster* (L.) Burgsd. und *Sorbus terminalis* (L.) Crantz. 2005. [in German] DOI: 10.18452/15652
- Kamnev A.M., Dunaeva S.E., Volkova N.N., Lisitsyna O.V., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of raspberry cultivar accessions bred in Russia from the VIR *in vitro* collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(1):17-27. [in Russian] (Камнев А.М., Дунаева С.Е., Волкова Н.Н., Лисицына О.В., Гавриленко Т.А. Криоконсервация образцов сортов малины отечественной селекции из *in vitro* коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(1):17-27). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-02
- King R., Bassil N.V., Rounsville T.J., Reinhold L.A. *Sorbus sensu lato*: a complex genus with unfulfilled crop potential. *Journal of the American Pomological Society*. 2023;77(2):110-127.
- Klein A., Bockhorn O., Mayer K., Grabner M. Central European wood species: characterization using old knowledge. *Wood Science*. 2016;62:194-202. DOI: 10.1007/s10086-015-1534-3
- Komarov V.L. Rowan – *Sorbus* L. In the book: *Flora of the USSR*. Vol. 9. Moscow-Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ.; 1939. p. 372-395. [in Russian] (Комаров В.Л. Рябина – *Sorbus* L.

- В кн.: *Флора СССР. Т. 9.* Москва-Ленинград: Изд-во АН СССР; 1939. С. 372-395.
- Konovalov I.N. Rowan *Sorbus* L. (Ryabina *Sorbus* L.) In: Konovalov I.N. *Trees and shrubs of the USSR. Vol. 3. Moscow-Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ.*; 1954. p. 458-483. [in Russian] (Коновалов И.Н. Рябина *Sorbus* L. В кн.: Коновалов И.Н. *Деревья и кустарники СССР. Т. 3. Москва-Ленинград: Изд-во АН СССР; 1954. С. 458-483).*
- Kuminov E.P., Zhidexina T.V. Introduction to the culture of wild fruit plants. (Vvedenie v kul'turu dikorastushchikh plodovykh rasteniy). *Netraditsionnye selskokhozyaistvennye, lekarstvennye i dekorativnye rasteniya = Non-traditional agricultural, medicinal and ornamental plants.* 2003;1(1):44-60. [in Russian] (Куминов Е.П., Жидехина Т.В. Введение в культуру дикорастущих плодовых растений. *Нетрадиционные сельскохозяйственные, лекарственные и декоративные растения.* 2003;1(1):44-60).
- Ludwig S., Robertson A., Rich T.C.G., Djordjevic M., Cerovic R., Houston L., Harris S.A., Hiscock S.J. Breeding systems, hybridization and continuing evolution in Avon Gorge *Sorbus*. *Annals of Botany.* 2013;111:563-575. DOI: 10.1093/aob/mct013
- Máčová P., Malá J., Cvrčková H., Dostál J., Buriánek V. *In vitro* reproduction of rare and endemic species of rowan tree. *The Journal of Forest Science.* 2013;59:386-390. DOI: 10.17221/46/2013-JFS
- Mándy A., Jámbor-Benczúr E., Szafián Z., Csillag A. The effect of basic media and growth regulators on *in vitro* propagated *Sorbus degeneri* 'Csákvár'. *Acta Horticulturae.* 1997;447:157-159. DOI: 10.17660/ActaHortic.1997.447.26
- Mendl-Drienyovszki N., Magyar-Tábori K. Response of rowan berry (*Sorbus redliana*) shoot culture to slow growth storage conditions. *Plants.* 2023;12:1287. DOI: 10.3390/plants12061287
- Michurin I.V. Results of sixty years of work: [1855-1935] (Itogi shestidesyatletnikh rabot: [1855-1935]). Moscow: Selkhozgiz; 1949. [in Russian] (Мичурин И.В. Итоги шестидесятилетних работ: [1855-1935]. Москва: Сельхозгиз; 1949).
- Mikulic-Petkovsek M., Krska B., Kiprovska B., Veberic R. Bioactive Components and Antioxidant Capacity of Fruits from Nine *Sorbus* Genotypes. *The Journal of Food Science.* 2017;82:647-658. DOI: 10.1111/1750-3841.13643
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum.* 1962;15:473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- NCGR-Corvallis *Sorbus* Catalog Mountain Ash. *Sorbus* Cultivars, Selections, and Hybrids. Available from: <https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/20721500/catalogs/soracc.html> [accessed Sept. 15, 2025].
- Panis B. Sixty years of plant cryopreservation: from freezing hardy mulberry twigs to establishing reference crop collections for future generations. *Acta Horticulture.* 2019;1234:1-7. DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1234.1
- Panis B., Piette B., André E., Van den Houwe I., Swennen R. Droplet vitrification: the first generic cryopreservation protocol for organized plant tissues? *Acta Horticulture.* 2011;908:157-162. DOI: 10.17660/ActaHortic.2011.908.17
- Panis B., Piette B., Swennen R. Droplet vitrification of apical meristems: A cryopreservation protocol applicable to all *Musaceae*. *Plant Science.* 2005;168:45-55. DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.07.022
- Petrov E.M. Rowan (Ryabina). Moscow: Selkhozgiz; 1957. [in Russian] (Петров Е.М. Рябина. Москва: Сельхозгиз; 1957).
- Phipps J.B., Robertson K., Smith P.G., Rohrer J.R. A checklist of the subfamily *Maloideae* (Rosaceae). *Canadian Journal of Botany.* 1990;68:2209-2269. DOI: 10.1139/b90-288
- Poplavskaya T.K. Breeding and introduction of new rowan varieties in Russian horticulture (Selektsiya i vnedreniye novykh sortov ryabiny v sadovodstvo Rossii). Perm: Perm Book Publishing House; 2006. [in Russian] (Поплавская Т.К. Селекция и внедрение новых сортов рябины в садоводство России. Пермь: Пермское книжное издательство; 2006).
- Raudonis R., Raudonė L., Gaivelytė K., Viškelis P., Janulis V. Phenolic and antioxidant profiles of rowan (*Sorbus* L.) fruits. *Natural Products Research.* 2014;28(16):1231-1240. DOI: 10.1080/14786419.2014.895727.
- Rengarten G.A., Sorokopudov V.N. Selection of rows as a decorative culture in Russia and in European countries. *the Bulletin of the KrasGAU.* 2019a;6(147):9-15. [in Russian] (Ренгартен Г.А., Сорокопудов В.Н. Селекция ряды как декоративной культуры в России и европейских странах. *Вестник Красноярского государственного аграрного университета.* 2019a;6(147):9-15). URL: http://www.kgau.ru/vestnik/2019_6/content/2.pdf [дата обращения: 24.09.2025]
- Rengarten G.A., Sorokopudov V.N. Introduction and breeding of *Sorbus* (Rosaceae) as a food plant in countries of the world (Introduksiya i selektsiya *Sorbus* (Rosaceae) v kachestve pishchevogo rasteniya v stranakh mira). *Ekosistemy = Ecosystems.* 2019b;18(48):89-96. [in Russian] (Ренгартен Г.А., Сорокопудов В.Н. Интродукция и селекция *Sorbus* (Rosaceae) в качестве пищевого растения в странах мира. *Экосистемы.* 2019b;18(48):89-96).
- Sarv V., Venskutonis P.R., Bhat R. The *Sorbus* spp. – Underutilised plants for foods and nutraceuticals: review on polyphenolic phytochemicals and antioxidant potential. *Antioxidants (Basel).* 2020;Sep;1(9):813. DOI: 10.3390/antiox9090813
- Šedivá J., Velebil J., Zahradník D. Micropropagation as a tool for the conservation of autochthonous *Sorbus* species of Czechia. *Plants.* 2023;12:488. DOI: 10.3390/plants12030488
- Sedov E.N. et al. (eds). Pomology. Vol. 5: Strawberry, raspberry, nut and rare crops (Pomologiya. Т. 5: Zemlyanika, malina, orekhoplodnye i redkiye kul'tury). Orel: VNIIСПВ; 2014. [in Russian] (Помология. Т. 5: Земляника, малина, орехоплодные и редкие культуры. ред. Е.Н. Седов и др. Орел: ВНИИСПК; 2014)
- Sokolov V.A., Savel'ev N.I., Goncharov N.P. I.V. Michurin's work on expansion of the plant horticulture assortment and improvement of food quality. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences.* 2015;69(4):90-197. DOI: 10.1515/prolas-2015-0028
- State Register of Varieties and Hybrids of Agricultural Plants Admitted for Usage (National List); official publication. Moscow: Rosinformagrotech; 2024. [in Russian] (Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию: официальное издание. Москва: Росинформагротех; 2024). URL: <https://gossortrf.ru/upload/iblock/00a/clk6obhudueqx6tlfawcrsp6bpm6psk.pdf> [дата обращения: 15.09.2025]
- Streltsina S.A., Burmistrov L.A., Nikitina E.V. Nutrient and bioactive substances in rowan (*Sorbus* L.) berries in the conditions of the northwestern horticultural zone of Russia (Pitatelnyie i biologicheski aktivnyie veshchestva plodov ryabiny (*Sorbus* L.) v usloviiakh Severo-Zapadnoy zony sadovodstva Rossii). *Agrarnaya Rossiya = Agrarian Russia.* 2010;3:10-17. [in Russian] (Стрельцина С.А., Бурмистров Л.А., Никитина Е.В. Питательные и биологически активные вещества плодов рябины (*Sorbus* L.) в условиях Северо-Западной зоны садоводства России. *Аграрная Россия.* 2010;3:10-17).
- Taran A.A., Taran An.A., Chabanenko S.I., Sheiko V.V., Kazhaeva M.V. Catalogue of plants of the Sakhalin Botanical Garden FEB RAS: reference manual (Katalog rasteniy Sakhalinskogo botanicheskogo sada DVO RAN: spravochnoye posobie). V.M. Eremin (ed.). Yuzhno-Sakhalinsk: SB BSI FEB RAS; 2011. [in Russian] (Таран А.А., Таран Ан.А., Чабаненко С.И., Шейко В.В., Кажаева М.В. Каталог растений Сахалинского ботанического сада ДВО РАН: справочное пособие / под ред. В.М. Еремина. Южно-Сахалинск: СФ БСИ ДВО РАН; 2011).
- The European Red List of Trees. Available from: <https://www.bgei.org/our-work/projects-and-case-studies/the-red-list-of-european-trees/> [accessed Sept. 15, 2025].
- Towill L.E. Improved survival after cryogenic exposure of shoot tips derived from *in vitro* plantlet cultures of potato. *Cryobiology.* 1983;20(5):567-573. DOI: 10.1016/0011-2240(83)90045-7
- Ukhatova Y.V., Dunaeva S.E., Antonova O.Y., Apalikova O.V., Pozdniakova K.S., Novikova L.Y., Shuvalova L.E., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of red raspberry cultivars from the VIR *in vitro* collection using a modified droplet vitrification method. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant.* 2017;53(4):394-401. DOI: 10.1007/s11627-017-9860-3
- Vitkovsky V.L. Fruit Plants of the World. St. Petersburg, Moscow, Krasnodar: Lan'; 2003. [in Russian] (Витковский В.Л. Плодовые растения мира. Санкт-Петербург, Москва, Краснодар: Лан'; 2003).

Volk G.M., Henk A.D., Jenderek M.M., Richards C.M. Probabilistic viability calculations for cryopreserving vegetatively propagated collections in genebanks. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2017;64(7):1613-1622. DOI: 10.1007/s10722-016-0460-6

Vysotskaya O.N. Cryopreservation *in vitro* of mountain ash (*Sorbus L.*) shoot tips. In: *The IX International Conference «The Biology of plant cells in vitro and biotechnology»: Abstract*; 2008 September 8-12; Zvenigorod, Russia. Moscow; 2008. p. 80-81. [in Russian] (Высоцкая О.Н. Криосохранение *in vitro* верхушек побегов рябины. В кн.: *IX Международная конференция «Биология клеток растений in vitro и биотехнология»: тезисы;*

8-12 сентября 2008 г. Звенигород, Россия. Москва; 2008. С.80-81). URL: <https://ippras.ru/upload/files/Abstracts.pdf> [дата обращения 15.09.2025].

Yuorieva N.; Sinetova M.; Messineva E.; Kulichenko I.; Fomenkov A.; Vysotskaya O.; Osipova E.; Baikalova A.; Prudnikova O.; Titova M.; Nosov A.V.; Popova E. Plants, cells, algae, and cyanobacteria *in vitro* and cryobank collections at the Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences – a platform for research and production center. *Biology*. 2023;12(6):838. DOI: 10.3390/biology12060838

Информация об авторах

Светлана Ефимовна Дунаева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, dunaevase@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

Ольга Владимировна Лисицына, ведущий специалист, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgalis86@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6632-3465>

Наталья Николаевна Волкова, ведущий специалист, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, nata.volckova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8034-9891>

Татьяна Андреевна Гавриленко, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Information about the authors

Svetlana E. Dunaeva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, dunaevase@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

Olga V. Lisitsyna, Leading Specialist, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgalis86@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6632-3465>

Natalia N. Volkova, Leading Specialist, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, nata.volckova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8034-9891>

Tatjana A. Gavrilenko, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Вклад авторов:

С.Е. Дунаева: курирование данных, написание статьи;

О.В. Лисицына: микроразмножение, криоконсервация, документация данных, закладка образцов в криобанк;

Н.Н. Волкова: микроразмножение, криоконсервация, документация данных, закладка образцов в криобанк;

Т.А. Гавриленко: планирование работы, рецензирование и редактирование статьи.

Contribution of the authors:

S.E. Dunaeva: data curation, article writing;

O.V. Lisitsyna: micropagation, cryopreservation, data documentation, accessions placement into the cryobank;

N.N. Volkova: micropagation, cryopreservation, data documentation, accessions placement into the cryobank;

T.A. Gavrilenko: work planning, reviewing and editing the article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 25.08.2025; одобрена после рецензирования 15.09.2025; принятая к публикации 23.09.2025.
The article was submitted on 25.08.2025; approved after reviewing on 15.09.2025; accepted for publication on 23.09.2025.