

**ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ  
МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO FRAGARIA* × *ANANASSA DUCH.***

Ольга Владимировна Машнева

Лариса Владимировна Ташматова, кандидат сельскохозяйственных наук

Татьяна Михайловна Хромова, кандидат биологических наук

Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, д. Жилина, Орловская область, Россия

E-mail: macneva@orel.vniispk.ru

**Аннотация.** Земляника садовая — одна из наиболее экономически значимых культур в мировом ягодоводстве. Цель работы — подбор оптимальной питательной среды для микроразмножения *in vitro* земляники в системе производства оздоровленного посадочного материала. Исследования выполнены в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИСПК по общепринятым методикам. Объект изучения — коммерческие сорта земляники садовой (*Fragaria* × *anayasa Duch.*) иностранной селекции: *Alba* (NF 311), *Darselect*, *Kimberly*, *Clery*, *Syria* (NF 137), *Florence*. Варианты прописей питательных сред: Ли и де Фоссарда, Гамборга и Эвелега (В<sub>5</sub>), Кнопа, Мурасиге-Скуга с добавлением 0,8 мг/л цитокинина 6-БАП. МС — оптимальная питательная среда, способствующая интенсивной пролиферации и корнеобразованию у растений. На питательной среде Кнопа микрорастения на втором пассаже приобретали красноватый цвет, не характерный для изучаемых сортов. Максимальные значения высоты растений отмечали в контроле с питательной средой МС у сортов *Darselect* (9,1 мм) и *Kimberly* (8,6 мм). Во всех остальных вариантах средняя высота растений не превышала 7,7 мм. Среды по прописи ЛФ и В<sub>5</sub> можно использовать для получения микрорастений, пригодных к высадке в условия *ex vitro*, исключая этап укоренения, для ускорения получения оздоровленного посадочного материала. Установлена различная реакция сортов земляники на минеральный состав питательных сред.

**Ключевые слова:** земляника садовая, питательная среда, клональное микроразмножение, генотип, регенерация

**THE INFLUENCE OF THE NUTRIENT COMPOSITION MEDIUM ON THE INTENSITY  
MICROPROPAGATION *IN VITRO FRAGARIA* × *ANANASSA DUCH.***

O.V. Matsneva

L.V. Tashmatova, PhD in Agricultural Sciences

T.M. Khromova, PhD in Biological Sciences

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Zhilin village, Oryol region, Russia

E-mail: macneva@orel.vniispk.ru

**Abstract.** Strawberry is one of the most economically significant crops in the world berry growing. In the course of research, the influence of the mineral composition of nutrient media on the growth and development of strawberry plants at the stage of micro-propagation proper was studied for further optimization of the technology of microclonal reproduction. The purpose of the work is to select the optimal nutrient medium for micropropagation of strawberry *in vitro* in the production system of healthy planting material. The research was carried out in the laboratory of biotechnology of the Russian research Institute of Fruit Crop Breeding according to generally accepted methods. The objects were important commercial varieties of garden strawberries (*Fragaria* × *anayasa Duch.*) of foreign breeding: *Alba* (NF 311), *Darselect*, *Kimberly*, *Clery*, *Syria* (NF 137), *Florence*. Variants of the nutrient media formulations used: Lee and de Fossard, Gamborg and Eveleigh (B<sub>5</sub>), Knop, Murashige-Skoog with the addition of 0.8 mg/l cytokinin 6-BAP. Optimal recipes of the nutrient medium that promote intensive proliferation and root formation in plants have been determined. For the cultivation of the studied strawberry varieties at the stage of actual micro-propagation with a high degree of regeneration, the optimal nutrient medium is the MS medium. On the nutrient Knop's medium, the micro-plants on the second passage acquired a reddish color, not characteristic of the studied varieties. The maximum values of plant height were noted in the control variant with MS nutrient medium in the varieties *Darselect* (9.1 mm) and *Kimberly* (8.6 mm). In all other variants of the studied nutrient media, the average height of plants did not exceed 7.7 mm. Media according to the LF and B<sub>5</sub> recipe can be used to obtain microplants suitable for planting in *ex vitro* conditions, excluding the rooting stage, to accelerate the production of healthy planting material. A different reaction of strawberry varieties to the mineral composition of nutrient media has been established.

**Keywords:** garden strawberries, nutrient medium, microclonal propagation, genotype, regeneration

Для крупномасштабного производства посадочного материала плодовых и ягодных культур, сохранения ценных генотипов необходимы быстрые и надежные системы размножения. Использование биотехнологических методов позволяет наладить крупномасштабное размножение оздоровленного материала. [12]

Рост и развитие растений *in vitro* зависит от их генотипических особенностей, физиологического состояния, условий культивирования. Питательная среда — определяющий фактор успеха при выращивании клеток, тканей и органов растений. [7] Экспланты

растений, помещенные *in vitro*, дают начало новым растениям при культивировании на среде, которая содержит минеральные соли, витамины, регуляторы роста и источник углерода. Изучение взаимосвязи между питательными веществами среды и пролиферацией экспланта может способствовать разработке более эффективной системы размножения регенерантов. [10] Минеральные компоненты входят в структуру клеток растений, определяют осмотическое давление и pH питательной среды. [1] Существуют общие требования: все компоненты питательной сре-

ды должны находиться в легкоусвояемой, доступной для растений форме; рН – близкий к нейтральному и не может сильно меняться в процессе роста растения; общая концентрация солей не превышает определенный уровень. [8]

Породно-сортовые особенности растений значительно влияют не только на потребности в различных биологически активных веществах, но и элементы минерального питания, особенно в изолированных условиях *in vitro*. [3, 10] С.М. Ramage и R.R. Williams считают минеральную основу питательной среды основным фактором, определяющим направление морфогенеза при культивировании микрорастений *in vitro*. [15] Взаимосвязи между культуральной средой и эксплантом, приводящие к морфогенезу, сложные и недостаточно изученные. Минеральные питательные вещества часто упускаются из виду как возможные морфогенные элиситоры. Комбинацию минералов для конкретного вида растений и их развития обычно определяют подбором одного из существующих составов питательных сред. Часто на протяжении всего культивирования используют только один тип среды, даже если состав не оптимальный для различных стадий роста и развития экспланта. Исследования минералов фокусируются на росте, при этом очень мало известно о взаимосвязи между поглощением минералов и морфогенезом. J. Греесе считает, что оптимизация минеральных компонентов питательной среды может снизить требуемые концентрации регуляторов роста растений. [14]

При микроразмножении земляники наиболее часто используют питательную среду Мурасиге-Скуга, содержащую сбалансированный комплекс минеральных солей макро- и микроэлементов, хотя земляника отличается большой пластичностью в отношении минерального состава питательной среды. [6, 11] По мнению С.Л. Расторгуева, высокий коэффициент размножения достигается на средах Ли и де Фоссарда, Андерсона. [5] Питательные среды Готре, Хеллера отличаются пониженной концентрацией минеральных солей и больше пригодны для апикальных меристем, чем для индукции дополнительных микрорастений. Е.В. Амброс с соавторами рекомендует на этапе собственно размножения для сортов земляники сибирского региона применять питательную среду Гамборга и Эвелеге. [2] W. Кпор показал, что возможно вырастить растение при наличии семи элементов питания – азот, фосфор, калий, магний, кальций, сера, железо.

Из-за постоянно меняющегося сортимента земляники необходимо совершенствование технологии *in vitro*, включая подбор оптимальной питательной среды, с учетом генотипических особенностей.

Цель работы – подбор оптимальной питательной среды на этапе микроразмножения для массового производства растений земляники *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИСПК. Объект изучения – микрорастения земляники из пролиферирующей культуры *in vitro* коммерческих сортов: *Alba (NF 311)*, *Darselect*, *Kimberly*, *Clery*, *Syria (NF 137)*, *Florence*. Микрорастения земляники длиной 5...6 мм были помещены по одному в пробирки с различными вариантами питательной среды: Ли и де Фоссарда (ЛФ), Гамборга и Эвелеге (В<sub>5</sub>),

Кнопа. Контроль – растения-регенеранты на питательной среде Мурасиге-Скуга (МС) (табл. 1).

Все среды были дополнены витаминами, гликоколом, а также цитокинином 6-БАП концентрацией 0,8 мг/л, в качестве источника углеводов использовали 3% сахарозу. Во время размножения поддерживали постоянную температуру 23°C, фотопериод – 16/8 ч. В вариантах по 30 растений каждого сорта. Каждые четыре недели их пересаживали на свежие питательные среды. Число пассажей – четыре. Оценивали количество и длину корней и образовавшихся дополнительных побегов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Оптимизация микроразмножения – сложный процесс, включающий последовательность стадий развития, на которые влияют многочисленные эндогенные и экзогенные факторы. [9]

Изучали влияние состава некоторых питательных сред на регенерационные и морфометрические параметры развития микрорастений земляники в культуре *in vitro*. Регенерация придаточных побегов – необходимое условие для успешного применения питательной среды. В нашем эксперименте наиболее высокую степень пролиферации показали экспланты на питательной среде Кнопа (табл. 2).

По ряду сортов коэффициент размножения превысил контроль в два раза (*Darselect*, *Florence*). Однако уже на втором пассаже у микрорастений, за исключением *Darselect*, на среде Кнопа наблюдали покраснение черешков листьев и листовых пластинок, что говорит о непригодности данной среды для длительного размножения в культуре, несмотря на высокий коэффициент размножения. Среда МС, характеризующаяся высоким содержанием неорганического азота, способствовала активной закладке пазушных побегов, но у сорта *Kimberly* в четвертом пассаже отмечали витрификацию отдельных микрорастений. На средах

Таблица 1.  
Состав питательной среды, мг/л

Элемент	Питательная среда			
	МС (контроль)	ЛФ	В <sub>5</sub>	Кнопа
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	800		
KNO <sub>3</sub>	1900	1010	2500	250
CaCl <sub>2</sub> ×2H <sub>2</sub> O	440	294	150	
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>				1000
MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	370	370	250	250
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170			250
KCl				125
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O		138	150	
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		63,9	134	
Na <sub>2</sub> ЭДТА	37,3	37,3	37,3	37,3
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	27,8	27,8	28,7	27,8
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	3,1	3,0	6,2
MnSO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O	22,3	11,1	10,0	22,3
ZnSO <sub>4</sub> ×4H <sub>2</sub> O	8,6	5,8	2,0	8,6
KJ	0,83	0,4	0,75	0,83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O	0,25	0,024	0,25	0,25
CuSO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,025	0,025
CoCl <sub>2</sub> ×5H <sub>2</sub> O	0,025	0,118	0,025	0,025

ЛФ и В<sub>5</sub> разница в количестве дополнительно образовавшихся побегов была незначительной, кроме сорта *Florence* (3,9 и 1,7 шт./эксплант соответственно).

Максимальные значения высоты растений были в контрольном варианте с питательной средой МС у сортов *Darselect* и *Kimberly* (табл. 3).

Во всех остальных вариантах питательных сред средняя высота растений не превышала 7,7 мм.

Перед акклиматизацией важно, чтобы микрорастения обладали высокой энергией и хорошей корневой системой для обеспечения их выживания в нестерильных условиях. Растения, имеющие лучшие морфофизиологические показатели, отлично адаптируются при переходе к условиям *ex vitro*. [13]

На этапе размножения происходило спонтанное корнеобразование, наиболее интенсивно на питательных средах ЛФ и В<sub>5</sub> (табл. 4).

На этих средах растения имели наибольшее количество корней разной длины, в том числе второго порядка, что может ускорить получение растений *ex vitro*, минуя этап укоренения *in vitro*. Высадка таких растений в нестерильные условия не снижает их адаптационных качеств, что подтверждено ранее проведенными исследованиями. [4] Увеличивался выход и качество укорененных растений без дополнительных затрат на стимуляторы ризогенеза.

Таким образом, для культивирования исследуемых сортов земляники на этапе микроразмножения с высокой степенью регенерации оптимальная питательная среда – МС. Среда по прописи ЛФ и В<sub>5</sub> можно использовать для быстрого получения оздоровленного посадочного материала. Установлена различная реакция сортов земляники на минеральный состав питательных сред.

**Таблица 2.**  
Влияние минерального состава питательной среды на коэффициент размножения земляники садовой, шт./эксплант

Сорт	Питательная среда			
	МС (контроль)	ЛФ	В <sub>5</sub>	Кнопка
<i>Alba</i>	3,5 ± 0,4	2,3 ± 0,3	2,8 ± 0,4	4,4 ± 0,4
<i>Darselect</i>	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,5 ± 0,2	5,5 ± 0,5
<i>Kimberly</i>	3,6 ± 0,5	2,4 ± 0,4	3,3 ± 0,4	3,1 ± 0,7
<i>Clerly</i>	3,0 ± 0,3	2,1 ± 0,4	2,6 ± 0,6	2,5 ± 0,3
<i>Syria</i>	2,2 ± 0,2	2,2 ± 0,3	2,2 ± 0,2	3,4 ± 0,3
<i>Florence</i>	2,5 ± 0,4	3,9 ± 0,5	1,7 ± 0,4	4,9 ± 0,4

**Таблица 3.**  
Влияние минерального состава питательной среды на высоту микрорастений земляники, мм

Сорт	Питательная среда			
	МС (контроль)	ЛФ	В <sub>5</sub>	Кнопка
<i>Alba</i>	6,3 ± 0,2	6,8 ± 0,4	7,4 ± 0,5	7,3 ± 0,4
<i>Darselect</i>	9,1 ± 0,7	7,7 ± 0,3	6,7 ± 0,3	7,7 ± 0,3
<i>Kimberly</i>	8,6 ± 0,5	7,6 ± 0,6	6,9 ± 0,4	6,1 ± 0,3
<i>Clerly</i>	6,8 ± 0,3	7,4 ± 0,6	7,3 ± 0,5	7,0 ± 0,6
<i>Syria</i>	6,9 ± 0,4	7,6 ± 0,3	7,5 ± 0,4	7,2 ± 0,5
<i>Florence</i>	7,5 ± 0,4	6,7 ± 0,5	7,1 ± 0,5	6,3 ± 0,3

**Таблица 4.**  
Влияние минерального состава питательной среды на корнеобразование растений земляники в культуре *in vitro*

Сорт	Питательная среда	Укореняемость через четыре недели, %	Количество корней, шт./раст.	Длина одного корня, мм
<i>Alba</i>	МС*	13,7	0,8	1,9
	ЛФ	56,6	2,5	5,8
	В <sub>5</sub>	69,2	2,7	3,4
	Кнопка	7,0	1,7	7,3
	НСР <sub>05</sub>		1,2	Fф<Fт
<i>Darselect</i>	МС*	9,3	2,0	3,9
	ЛФ	51,4	2,0	3,1
	В <sub>5</sub>	77,4	2,6	3,1
	Кнопка	41,2	1,4	9,5
	НСР <sub>05</sub>		Fф<Fт	3,1
<i>Kimberly</i>	МС*	0	0	0
	ЛФ	37,0	3,1	6,9
	В <sub>5</sub>	77,3	2,8	3,9
	Кнопка	3,6	0,8	3,8
	НСР <sub>05</sub>		1,0	Fф<Fт
<i>Clerly</i>	МС*	27,3	1,3	3,3
	ЛФ	44,5	3,2	5,3
	В <sub>5</sub>	73,7	2,9	3,5
	Кнопка	14,9	1,5	5,7
	НСР <sub>05</sub>		1,3	Fф<Fт
<i>Syria</i>	МС*	51,1	1,6	4,2
	ЛФ	41,0	2,0	3,2
	В <sub>5</sub>	75,1	3,6	4,2
	Кнопка	31,1	1,8	7,0
	НСР <sub>05</sub>		1,2	Fф<Fт
<i>Florence</i>	МС*	20,5	2,1	2,9
	ЛФ	51,6	2,3	4,2
	В <sub>5</sub>	84,0	4,5	3,6
	Кнопка	17,2	2,0	6,7
	НСР <sub>05</sub>		1,5	1,7

Примечание: \* – контроль.

**СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

- Алешина Е.С., Дроздова Е.А., Романенко Е.А., Романенко Н.А. Культивирование микроорганизмов как основа биотехнологического процесса: учебное пособие. Оренбург: ООО ИПК «Университет». 2017. 191 с. ISBN 978-5-7410-1658-9
- Амброс Е.В., Зайцева Ю.Г., Красников А.А., Новикова Т.И. Оптимизация систем регенерации микрорастений земляники садовой в культуре *in vitro* // Растительный мир азиатской России. 2017. № 4 (28). С. 73–80. doi:10.21782/RMAR1995-2449-2017-4(73-80)
- Кухарчик Н.В., Кастрицкая М.С., Семенов С.Э., и др. Размножение плодовых растений в культуре *in vitro*. Под общ. ред. Н.В. Кухарчик. Минск. Беларуская навука. 2016. 208 с. ISBN 978-985-08-1952-9
- Мацнева, О.В., Ташматова Л.В., Хромова Т.М. Влияние регуляторов роста на укоренение земляники садовой *in vitro* // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. 2022. № 3. С. 57–60. doi: 10.30850/vrsn/2022/3/57-60
- Расторгуев С.Л. Разработка приемов размножения земляники в системе *in vitro* // Вестник МичГАУ. 2012. № 1. ч. 1. С. 10–13.

6. Семенас С.Э. Размножение in vitro сортов земляники садовой Альфа и Славутич // Плодоводство. Самохваловичи. 2013. Т. 25. С. 254–261.
7. Сквородников Д.Н., Леонова Н.В., Андропова Н.В. Влияние состава питательной среды на эффективность размножения земляники садовой in vitro // Вестник ОрелГАУ. 2013. 1(13). С. 89–92.
8. Якушкина Н.И. Физиология растений: учебное пособие. М.: «Просвещение», 1993. 335 с. ISBN 5-09-004 106-7
9. Cvrckova H., Machova P., Dostal J., Mala J. Protocol for efficient micropropagation of spring gentian and sand jurnea // Journal of science. 2014. Vol. 60 (1). PP. 1–5. doi:10.17221/60/2013-FS
10. Jamshidi S., Yadollahi A., Arab M.M., Eftekhari M.M. Predicting in vitro Culture Medium Macro-Nutrients Composition for Pear Rootstocks Using Regression Analysis and Neural Network Models // Front. Plant Sci. 2016. Vol. 7. 274 p. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00274
11. Kyte L., Kleyn J. Plants from test tubes: an introduction to micropropagation (third edition) // Portland. London. 2010. 240 p.
12. Kryukov L.A., Vodolazhsky D.I., Kamenetsky-Goldstein R. Micropropagation of Grapevine and Strawberry from South Russia: Rapid Production and Genetic Uniformity // Agronomy. 2022. Vol. 12. No. 2. P. 308. https://doi.org/10.3390/agronomy12020308
13. Neri J.C., Meléndez-Mori J.B., Tejada-Alvarado J.J. et al. An Optimized Protocol for Micropropagation and Acclimatization of Strawberry (Fragaria × ananassa) Aroma // Agronomy. 2022. Vol. 12. No. 4. 968. https://doi.org/10.3390/agronomy12040968
14. Preece, J.E. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulators? // Plant Tiss. Cult. and Biotechnol. 1995. Vol. 1. No. 1. PP. 26–37.
15. Ramage C.M., Williams R.R. Mineral Nutrition and Plant Morphogenesis // In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant. 2002. V. 38. No. 2. P. 116–124. doi:10.1079/IVP2001269
3. Kuharchik N.V., Kastrickaya M.S., Semenias S.E., i dr. Razmnozhenie plodovykh rastenij v kul'ture in vitro. Pod obshch. red. N.V. Kuharchik. Minsk. Belaruskaya navuka. 2016. 208 s. ISBN 978-985-08-1952-9
4. Macneva, O.V., Tashmatova L.V., Hromova T.M. Vliyanie reguljatorov rosta na ukorenenie zemlyaniki sadovoj in vitro // Vestnik Rossijskoj sel'skohozyajstvennoj nauki. 2022. № 3. S. 57–60. doi: 10.30850/vrsn/2022/3/57-60
5. Rastorguev S.L. Razrabotka priemov razmnozheniya zemlyaniki v sisteme in vitro // Vestnik MichGAU. 2012. № 1. ch. 1. S. 10–13.
6. Semenias S.E. Razmnozhenie in vitro sortov zemlyaniki sadovoj Al'fa i Slavutich // Plodovodstvo. Samohvalovichi. 2013. T. 25. S. 254–261.
7. Skovorodnikov D.N., Leonova N.V., Andronova N.V. Vliyanie sostava pitatel'noj sredy na effektivnost' razmnozheniya zemlyaniki sadovoj in vitro // Vestnik OreIGAУ. 2013. 1(13). S. 89–92.
8. Yakushkina N.I. Fiziologiya rastenij: uchebnoe posobie. M.: «Prosveshchenie», 1993. 335 s. ISBN 5-09-004 106-7
9. Cvrckova H., Machova P., Dostal J., Mala J. Protocol for efficient micropropagation of spring gentian and sand jurnea // Journal of science. 2014. Vol. 60 (1). PP. 1–5. doi:10.17221/60/2013-FS
10. Jamshidi S., Yadollahi A., Arab M.M., Eftekhari M.M. Predicting In vitro Culture Medium Macro-Nutrients Composition for Pear Rootstocks Using Regression Analysis and Neural Network Models // Front. Plant Sci. 2016. Vol. 7. 274 p. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00274
11. Kyte L., Kleyn J. Plants from test tubes: an introduction to micropropagation (third edition) // Portland. London. 2010. 240 p.
12. Kryukov L.A., Vodolazhsky D.I., Kamenetsky-Goldstein R. Micropropagation of Grapevine and Strawberry from South Russia: Rapid Production and Genetic Uniformity // Agronomy. 2022. Vol. 12. No. 2. P. 308. https://doi.org/10.3390/agronomy12020308
13. Neri J.C., Meléndez-Mori J.B., Tejada-Alvarado J.J. et al. An Optimized Protocol for Micropropagation and Acclimatization of Strawberry (Fragaria × ananassa) Aroma // Agronomy. 2022. Vol. 12. No. 4. P. 968. https://doi.org/10.3390/agronomy12040968
14. Preece, J.E. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulators? // Plant Tiss. Cult. and Biotechnol. 1995. Vol. 1. No. 1. 26–37.
15. Ramage C.M., Williams R.R. Mineral Nutrition and Plant Morphogenesis // In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant. 2002. Vol. 38. No. 2. PP. 116–124. doi:10.1079/IVP2001269

## REFERENCES

1. Aleshina E.S., Drozdova E.A., Romanenko E.A., Romanenko N.A. Kul'tivirovanie mikroorganizmov kak osnova biotekhnologicheskogo processa: uchebnoe posobie. Orenburg: OOO IPK «Universitet». 2017. 191 s.
2. Ambros E.V., Zajceva Yu.G., Krasnikov A.A., Novikova T.I. Optimizaciya sistem regeneracii mikropobegov genotipov Fragaria × ananassa (Rosaceae), perspektivnyh dlya sibirskogo regiona // Rastitel'nyj mir aziatskoj Rossii. 2017. № 4 (28). S. 73–80. doi:10.21782/RMAR1995-2449-2017-4(73-80)

*Поступила в редакцию 04.08.2023*

*Принята к публикации 18.08.2023*