

## КУЛЬТИВИРОВАНИЕ HAIRY ROOTS ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ *WITHANIA SOMNIFERA*

Михайлова Елена Владимировна, Мусин Халит Галеевич, Кулуев Булат  
Разяпович

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Проспект Октября 71, Уфа, Россия  
mikhele@list.ru

*Withania somnifera* – лекарственное растение, находящееся под угрозой исчезновения из-за чрезмерного использования в традиционной медицине. В его корнях содержатся биологически активные вещества – витанолиды, наиболее известными и хорошо исследованными из которых являются витанолид А и витаферин А. Многочисленные результаты экспериментов подтверждают возможность использования витанолидов в лечении рака, нейрогенеративных заболеваний и COVID-19. Альтернативой сбору этого ценного растения в дикой природе является биотехнологическое культивирование его корней, полученных в результате трансформации *Agrobacterium rhizogenes* и имеющих название hairy roots. Определенную проблему представляет поиск способов долговременного сохранения культур таких корней, поскольку традиционно используемая криоконсервация является дорогостоящей и малоэффективной.

Ранее с использованием штаммов *A. rhizogenes* А4 и 15834 методом агробактериальной трансформации семядольных листьев нами было получено 72 линии бородатых корней *W. somnifera*. В основном линии характеризовались ускоренным ростом на среде, содержащей 30 г/л сахарозы, инозитол и витамины Гамборга, в течение первых трех недель культивирования, а затем требовали пересадки на новую питательную среду. Культуры корней поддерживались в течение шести лет, что позволило выявить линии корней, реже требующих новых пассажей, быстро и медленно растущие линии, а также разработать методы их длительного хранения.

Наиболее медленным ростом характеризовались линии, полученные при помощи штамма 15834 №37 и №41, образующие преимущественно каллусную, а не корневую массу. Наиболее быстрым ростом характеризовались линии корней, полученные при помощи штамма 15834 №2, 13, 44, 45 и 66, а также одна из линий, полученных при помощи штамма А4 (№10).

Снижение концентрации сахарозы и добавление NaCl позволяло сохранять жизнеспособность hairy roots более трех месяцев. Присутствие в питательной среде маннитола, а также хранение в холодильнике в большинстве случаев приводило к потере жизнеспособности несмотря на успешное применение этих методов для долговременного хранения hairy roots растений других видов.

Исследование поддержано стипендией Президента Российской Федерации для молодых ученых СП-5175.2022.4

*Ключевые слова:* *Withania somnifera*, hairy roots, *Agrobacterium rhizogenes*.

## CULTIVATION OF HAIRY ROOTS OF A HERBAL PLANT *WITHANIA SOMNIFERA*

**Mikhaylova Elena, Musin Khalit, Kuluev Bulat**

*Institute of biochemistry and genetics UFRC RAS, Prospekt Oktyabrya, 71, Ufa, Russia  
mikhele@list.ru*

*Withania somnifera* is a valuable medicinal plant, endangered due to overuse in traditional medicine. Its roots contain biologically active substances – withanolides, including the most famous and well-studied withanolide A and withaferin A. Numerous experimental results confirm the possibility of using withanolides in the treatment of cancer, neurogenerative diseases and COVID-19. An alternative to harvesting this valuable plant from the wild is the biotechnological cultivation of its roots, obtained via *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and called hairy roots. Long-term preservation of such root cultures represent a certain problem, since the traditionally used cryopreservation is expensive and ineffective.

Previously, using *A. rhizogenes* strains A4 and 15834, we obtained 72 lines of hairy roots of *W. somnifera* via agrobacterium-mediated transformation of cotyledon leaves. Basically, the lines were characterized by accelerated growth on a medium containing 30 g/l of sucrose, inositol, and Hamburg vitamins during the first three weeks of cultivation, and then required a passage to a new nutrient medium. Root cultures were maintained for six years, which made it possible to identify root lines that rarely require new passages, fast and slow growing lines, and also to develop methods for their long-term storage.

The slowest growth was observed in lines obtained using strain 15834 No. 37 and No. 41, which predominantly formed callus rather than roots. The most rapid growth was observed in the root lines obtained using strain 15834 No. 2, 13, 44, 45 and 66, as well as one of the lines obtained using strain A4 (No. 10).

A decrease in the concentration of sucrose and the addition of NaCl made it possible to maintain the viability of hairy roots for more than three months. The presence of mannitol in the nutrient medium, as well as storage in a refrigerator, in most cases led to a loss of viability, despite the successful use of these methods for long-term storage of hairy roots of plants of other species.

The reported study was supported by scholarship of the President of the Russian Federation for young scientists SP-5175.2022.4.

*Keywords: Withania somnifera, hairy roots, Agrobacterium rhizogenes.*