

## ПОДБОР СИСТЕМЫ АППАРАТУРНОГО ВЫРАЩИВАНИЯ СУСПЕНЗИОННЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК И КОРНЕВЫХ КУЛЬТУР *IN VITRO* В БИОРЕАКТОРАХ РАЗЛИЧНОЙ КОНСТРУКЦИИ И ОБЪЕМА

Л.К. Асякина, Л.С. Дышлюк, А.В. Позднякова, А.Ю. Просеков

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

Получение биологически активных веществ из лекарственных растений на сегодняшний день является актуальной задачей. Пути получения данных веществ разнообразны. В данной статье рассматривается аппаратное выращивание суспензионных культур клеток и корневых культур *in vitro* шлемника байкальского и шлемника андрахновидного в биореакторах. Для культивирования предложены: жидкофазный биореактор колонного типа с механическим перемешиванием (скорость перемешивания 50 об./мин), рабочий объем 30 л; жидкофазный биореактор колонного типа с барботажем (пробулькивание стерильных воздуха или газовой смеси, подаваемых снизу), рабочий объем 50 л; жидкофазный биореактор барабанного типа, рабочий объем 100 л; газофазный биореактор туманного типа (диаметр капель питательной среды 20–25 мкм), рабочий объем 30 л; газофазный биореактор дождевального типа (диаметр капель питательной среды 500 мкм), рабочий объем 30 л. Были получены данные о том, что выращивание суспензионных культур шлемника андрахновидного и шлемника байкальского наилучшим способом при использовании жидкофазного биореактора колонного типа с барботажем, поскольку в данном случае достигаются максимальные значения индекса роста, удельной скорости роста и экономического коэффициента, а также суммарного содержания основных биохимических соединений. В корневой культуре шлемника байкальского, выращенного в газофазных биореакторах туманного и дождевального типа, зафиксировано максимальное содержание основных биохимических соединений. Для корневой культуры шлемника андрахновидного наибольшее содержание биохимических соединений отмечено при культивировании в газофазном биореакторе туманного типа.

**Ключевые слова:** шлемник байкальский, шлемник андрахновидный, биореактор, суспензионные культуры клеток, корневые культуры *in vitro*, состав сред, ростовые характеристики.

На территории России произрастают лекарственные растения, отсутствующие в фармакопеех других стран [1–3]. Большая часть растений произрастает на территории Западной Сибири и они слабо изучены. Лекарственные растения Сибирского федерального округа являются богатыми источниками биологически активных веществ, их изучение и получение является перспективным направлением на данный момент [4, 5].

В тибетской и китайской народной медицине трава шлемника байкальского ценится как антисклеротическое, общеукрепляющее и противоопухолевое средство. Китайские онкологи отмечают гемостимулирующее и иммунокорректирующее действие данного растения при химиотерапии, поскольку шлемник способен сдерживать развитие метастаз при некоторых видах опухолей [5–7].

Лекарственные препараты на основе шлемника андрахновидного успокаивающе действуют на нервную систему, оказывают сосудорасширяющий эффект при повышенном тоне кровеносных сосудов. Растение обладает ярко выраженными противоастматическими и антигистаминными свойствами [5, 8].

Препараты шлемника андрахновидного и шлемника байкальского применяются для терапии нарушения нервной деятельности при энцефалопатиях, астено-депрессивных состояниях, анемии. Традиционно растение применяется с профилактической целью преждевременного старения, также в период выздоровления (реконвалесценции) после тяжелых заболеваний. Благодаря уникальному составу и полезным свойствам шлемника, в народной медицине его используют при по-

вышенном артериальном давлении, сердечно-сосудистых неврозах, аритмии, при воспалительных процессах в пищеварительной системе, заболеваниях выделительной системы, простудных заболеваниях в виде отваров и настоев корней. Настойка шлемника применяется при токсикозах во время беременности. Растение используют при атеросклерозе сосудов, холере, туберкулезе легких, эпилепсии, ангинах, заболеваниях ротовой полости. Наружно шлемник применяется при фурункулезе, кожных язвах [9, 10].

Пути получения биологически активных веществ лекарственных растений разнообразны. В данной статье рассматривается суспензионные и корневые культуры клеток лекарственных растений: шлемника байкальского и шлемника андрахновидного.

Для получения гораздо большего количества биологически активных веществ из суспензионных клеток и корневых культур лекарственных растений необходимо крупномасштабное культивирование в биореакторах, взамен выращиванию изолированных клеток и тканей растений в колбах и чашках Петри.

В этой связи подбирали параметры аппаратного культивирования суспензионных культур клеток, а также корневых культур шлемника байкальского, шлемника андрахновидного.

**Объектами исследования являются:** шлемник байкальский (*scutellaria baicalensis*) не является фармакопейным растением, но широко применяется в народной медицине и гомеопатии, а также шлемник андрахновидный (*scutellaria andrachnoides*) считается одним из универсальных растительных компонентов традиционной китайской медицины, широко популярен в медицине Западной Европы, где является одним из эффективных адаптогенов природного происхождения [11–14].

Культивирование суспензионных культур клеток лекарственных растений осуществляли в трех биореакторах различной конструкции:

1) жидкофазный биореактор колонного типа с механическим перемешиванием (скорость перемешивания 50 об./мин), рабочий объем 30 л;

2) жидкофазный биореактор колонного типа с барботажем (пробулькивание стерильных воздуха или газовой смеси, подаваемых снизу), рабочий объем 50 л;

3) жидкофазный биореактор барабанного типа, рабочий объем 100 л.

Для культивирования суспензионных культур использовали следующий состав питательных сред:

1. Состав питательной среды для культивирования суспензионных культур клеток шлемника байкальского: минеральная основа – MS; сахароза – 30 г; инозит – 100 мг; витамины по Стаба – 10 мл; кинетин – 0,5 г; 2,4-Д – 1,0 г; жасмоновая кислота – 0,07 г.

2. Состав питательной среды для культивирования суспензионных культур клеток шлемника андрахновидного: минеральная основа – MS; сахароза – 30 г; инозит – 100 мг; витамины по Стаба – 10 мл; кинетин – 0,5 г; 2,4-Д – 1,0 г; Tween 80 – 2,0 г [15, 16].

Питательные среды автоклавировали при 15 мин подготовительного и 15 мин основного режима при добавочном давлении 0,7–0,8 атм.

Цикл культивирования суспензионных культур составлял 28 суток. В биореакторах поддерживали температуру 26 °С. Для шлемника байкальского и шлемника андрахновидного культивирование осуществляли в анаэробных условиях.

Культивирование корневых культур лекарственных растений осуществляли в пяти биореакторах различной конструкции:

1) жидкофазный биореактор колонного типа с механическим перемешиванием (скорость перемешивания 50 об./мин), рабочий объем 30 л;

2) жидкофазный биореактор колонного типа с барботажем (пробулькивание стерильных воздуха или газовой смеси, подаваемых снизу), рабочий объем 50 л;

3) жидкофазный биореактор барабанного типа, рабочий объем 100 л;

4) газофазный биореактор туманного типа (диаметр капель питательной среды 20–25 мкм), рабочий объем 30 л;

5) газофазный биореактор дождевального типа (диаметр капель питательной среды 500 мкм), рабочий объем 30 л.

Состав питательной среды для культивирования корневых культур шлемника байкальского: готовят питательную среду Мурасиге и Скуга MS ½ N. Состав среды MS ½ N (1000 мл): сахароза – 20 г; макросоли по MS ½ N – 50 мл; витамины по MS – 1 мл; микроэлементы по MS – 1 мл; Fe-хелат – 5 мл; мезо-инозит – 5 мл; жасмоновая кислота – 0,07 г; агар-агар – 7 г, pH 5,6–5,8. Состав солей (1000 мл): NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 16,5 г; KNO<sub>3</sub> – 19,0 г; CaCl<sub>2</sub> – 13,2 г; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 7,4 г; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 3,4 г. Состав

микроэлементов (1000 мл):  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  – 22,3 г;  $H_3BO_3$  – 6,2 г;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  – 11,5 г;  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  – 0,25 г;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  – 0,025 г;  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  – 0,025 г; KI – 0,825 г. Состав витаминов (1000 мл): тиамин – 0,1 г; пиридоксин – 0,1 г; никотиновая кислота – 0,5 г. Питательную среду MS  $\frac{1}{2}$  N разливают в 2 колбы по 500 мл. Одну колбу оставляют без введения агара, во вторую вводят агар. Обе колбы автоклавируют 20 минут при 2 атм. Слегка остужают и разливают питательную среду с агаром по чашкам Петри.

Состав питательной среды для культивирования корневых культур шлемника андрасновидного: готовят питательную среду Мура-сиге и Скуга MS  $\frac{1}{2}$  N. Состав среды MS  $\frac{1}{2}$  N (1000 мл): сахароза – 20 г; макросоли по MS  $\frac{1}{2}$  N – 50 мл; витамины по MS – 1 мл; микроэлементы по MS – 1 мл; Fe-хелат – 5 мл; мезоинозит – 5 мл; Tween 80 – 2,0 г; агар-агар – 7 г, pH 5,6-5,8. Состав солей (1000 мл):  $NH_4NO_3$  – 16,5 г;  $KNO_3$  – 19,0 г;  $CaCl_2$  – 13,2 г;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 7,4 г;  $KH_2PO_4$  – 3,4 г. Состав микроэлементов (1000 мл):  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  – 22,3 г;  $H_3BO_3$  – 6,2 г;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  – 11,5 г;  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  – 0,25 г;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  – 0,025 г;  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  – 0,025 г; KI – 0,825 г. Состав витаминов (1000 мл): тиамин – 0,1 г; пиридоксин – 0,1 г; никотиновая кислота – 0,5 г. Питательную среду MS  $\frac{1}{2}$  N разливают в 2 колбы по 500 мл. Одну колбу оставляют без введения агара, во вторую вводят агар. Обе колбы автоклавируют 20 минут при 2 атм. Слегка остужают и разливают питательную среду с агаром по чашкам Петри [15, 16].

Культивирование корневых культур в биореакторах осуществляли при температуре 26 °С в течение 28 суток.

Для определения содержания сырой и сухой биомассы в литре среды фиксированный объем суспензии (не меньше 15 мл, в трех повторностях) будет фильтроваться через бумажный фильтр с помощью воронки Бюхнера под вакуумом. Биомасса будет высушиваться до постоянного веса в токе воздуха температурой 30 °С.

Жизнеспособность культур клеток определяли с использованием прижизненного красителя феносафранина (0,1 %-ный раствор), либо 0,025 %-ную синьку Эванса, путем подсчета живых (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) культивируемых единиц под микроскопом.

По полученным результатам рассчитывался индекс роста (I), удельная скорость рос-

та в экспоненциальной фазе ( $\mu$ ), экономический коэффициент (Y), время удвоения ( $\tau$ ) по следующим формулам:

$$I = \frac{X_{max} - X_0}{X_0}, \quad (1)$$

где  $X_{max}$  – максимальное значение одного из критериев роста (в данной работе – содержание сухой биомассы в литре среды);  $X_0$  – начальное значение одного из критериев роста.

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}, \quad (2)$$

где  $X_2$  – содержание сухой биомассы в литре среды в момент времени  $t_2$ ;  $X_1$  – содержание сухой биомассы в литре среды в момент времени  $t_1$ .

$$\tau = \frac{\ln 2}{\mu}, \quad (3)$$

$$Y = \frac{X_{max} - X_0}{S}, \quad (4)$$

где  $X_{max}$  и  $X_0$  – те же величины, что и в формуле (1);  $S$  – начальная концентрация субстрата (сахарозы) в среде (г/л среды).

#### Результаты и их обсуждение

Учитывая многообразие конструкций биореакторов для культивирования растительных тканей и клеток, для масштабирования технологии культивирования *in vitro* изолированных клеток и органов шлемника байкальского и шлемника андрасновидного Сибирского региона изучали два типа биореакторов: жидкофазные (для выращивания суспензионных и корневых культур) и газофазные (для выращивания корневых культур).

Для характеристики суспензионных культур клеток определяли следующие параметры: содержание сухой и сырой биомассы, жизнеспособность культуры, суммарное содержание биохимических соединений. По полученным результатам рассчитывался индекс роста (I), удельная скорость роста в экспоненциальной фазе ( $\mu$ ), экономический коэффициент (Y).

Кривые роста суспензионных культур представлены на рис. 1–6, ростовые характеристики – в табл. 1.

Как следует из рис. 1–6, для всех исследуемых культур при выращивании в биореакторе колонного типа с механическим перемешиванием значения жизнеспособности клеток минимальны (65,0–82,0 %). При культивировании суспензионных культур в биореакторе с барботажем и в биореакторе барабанного типа жизнеспособность культур находится в пределах 81,0–96,0 %. Это, в свою очередь, может быть обусловлено повреждающим действием мешалки на суспензионные культуры.

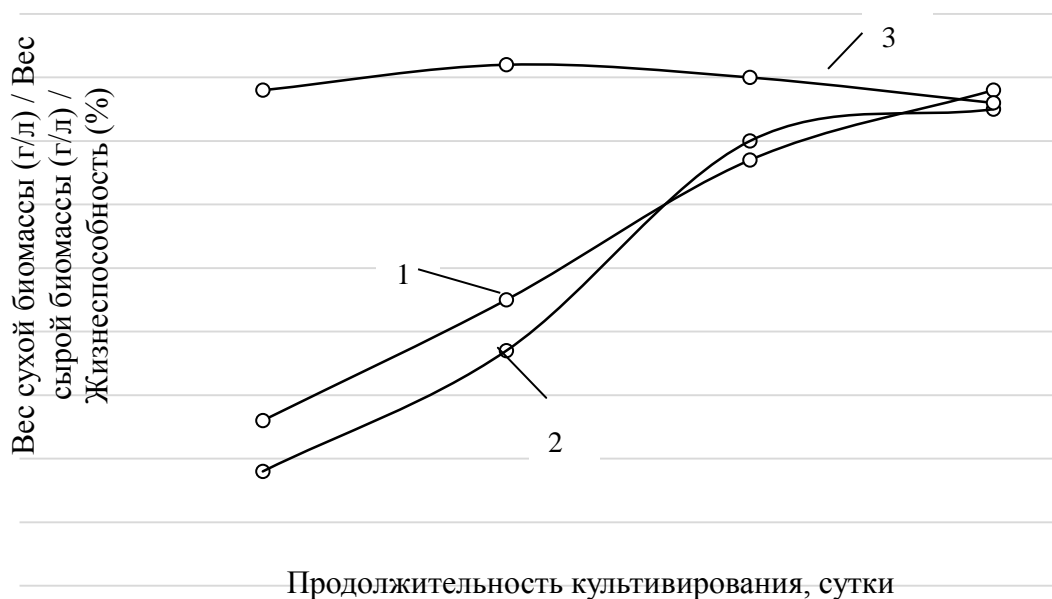


Рис. 1. Динамика ростовых характеристик суспензионной культуры шлемника байкальского при культивировании в жидкофазном биореакторе колонного типа с механическим перемешиванием: 1 – вес сухой биомассы, 2 – вес сырой биомассы, 3 – жизнеспособность культуры

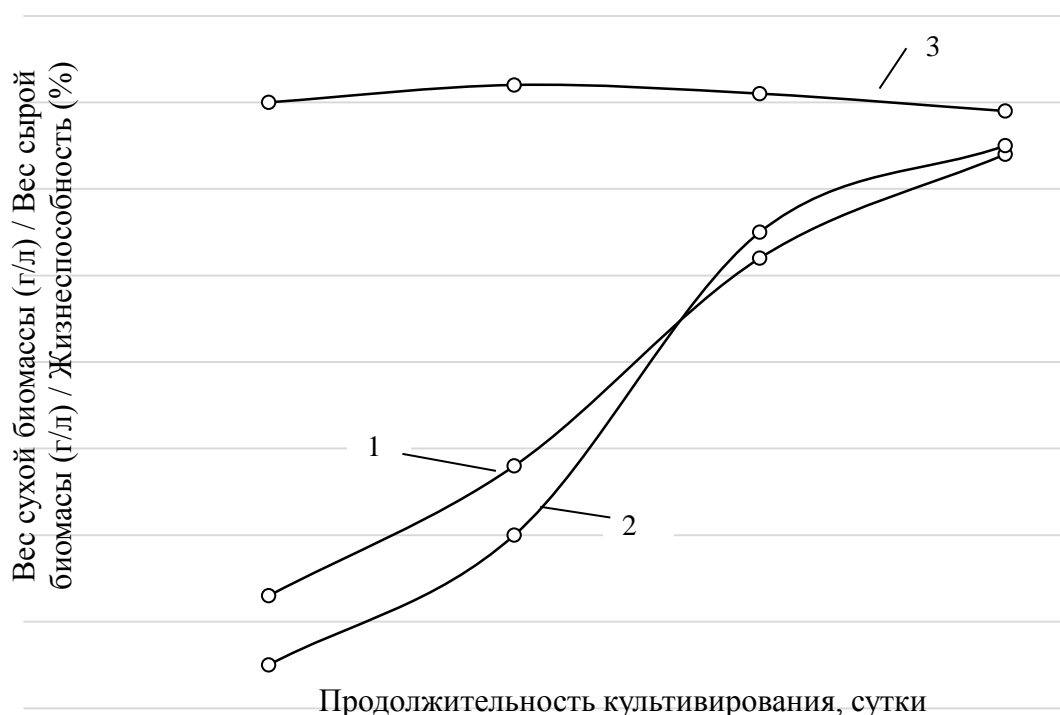


Рис. 2. Динамика ростовых характеристик суспензионной культуры шлемника байкальского при культивировании в жидкофазном биореакторе колонного типа с барботажем: 1 – вес сухой биомассы, 2 – вес сырой биомассы, 3 – жизнеспособность культуры



Рис. 3. Динамика ростовых характеристик суспензионной культуры шлемника байкальского при культивировании в жидкофазном биореакторе барабанного типа: 1 – вес сухой биомассы, 2 – вес сырой биомассы, 3 – жизнеспособность культуры

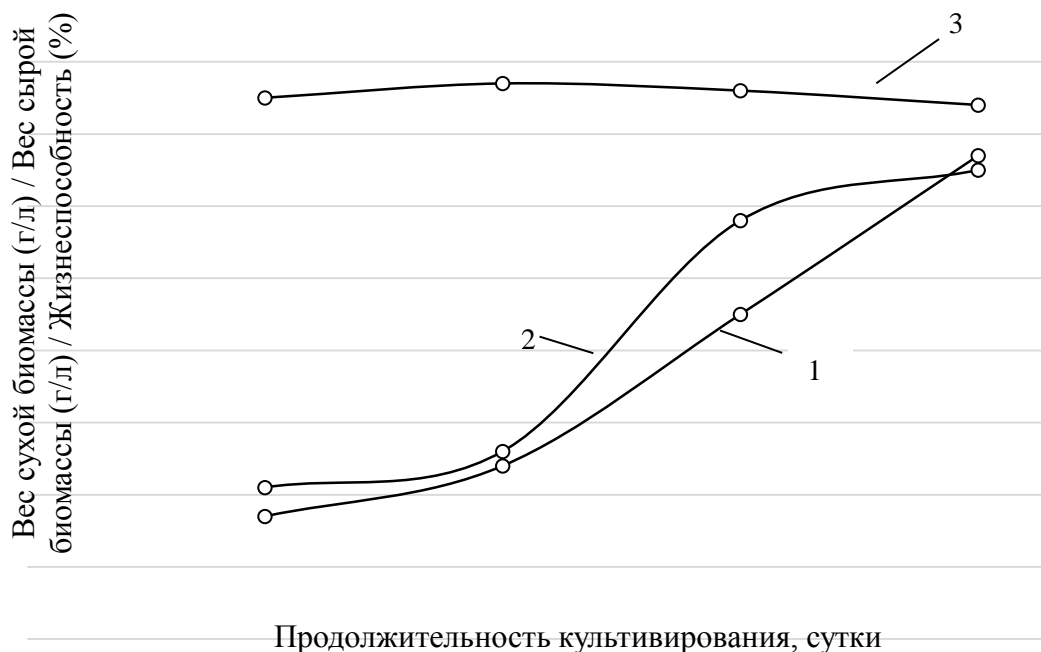


Рис. 4. Динамика ростовых характеристик суспензионной культуры шлемника андрахновидного при культивировании в жидкофазном биореакторе колонного типа с механическим перемешиванием: 1 – вес сухой биомассы, 2 – вес сырой биомассы, 3 – жизнеспособность культуры

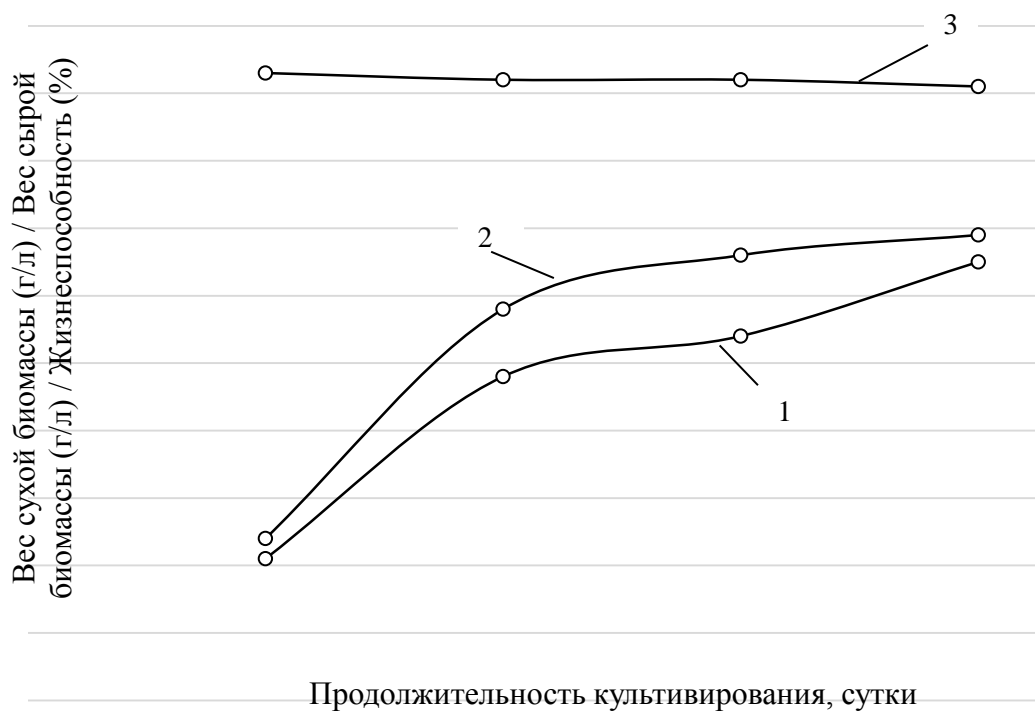


Рис. 5. Динамика ростовых характеристик суспензионной культуры шлемника андрахновидного при культивировании в жидкофазном биореакторе колонного типа с барботажем: 1 – вес сухой биомассы, 2 – вес сырой биомассы, 3 – жизнеспособность культуры

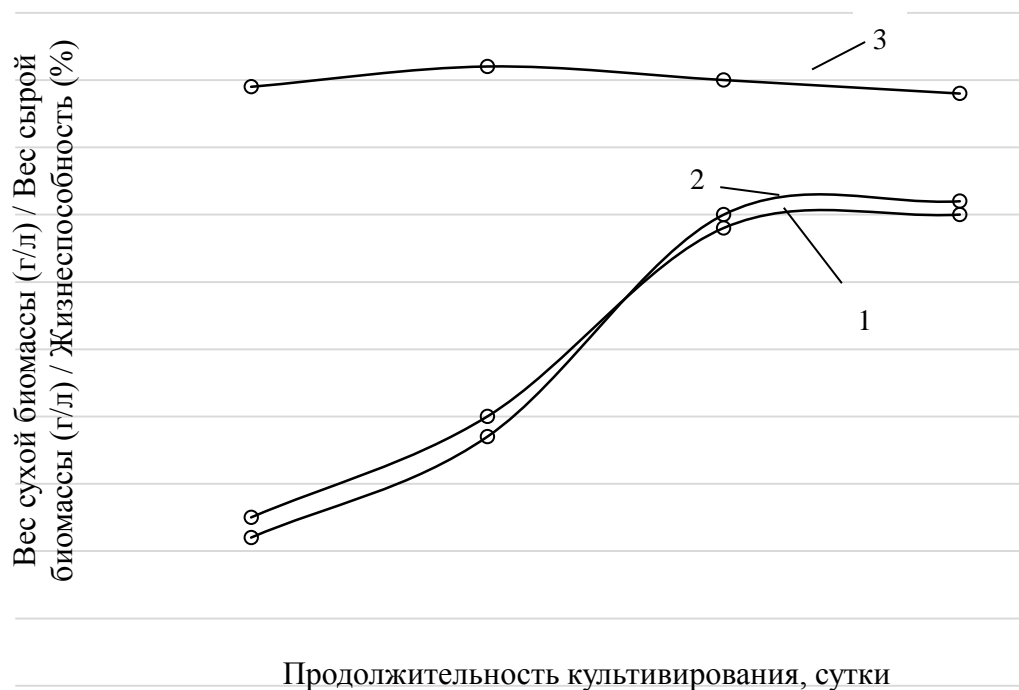


Рис. 6. Динамика ростовых характеристик суспензионной культуры шлемника андрахновидного при культивировании в жидкофазном биореакторе барабанного типа: 1 – вес сухой биомассы, 2 – вес сырой биомассы, 3 – жизнеспособность культуры

Таблица 1

Ростовые характеристики суспензионных культур растений

Наименование культуры	Индекс роста (I)	Удельная скорость роста ( $\mu$ ), сут <sup>-1</sup>	Экономический коэффициент (Y)	Суммарное содержание биохимических соединений, мг/г сухого веса
Жидкофазный биореактор колонного типа с механическим перемешиванием				
Шлемник байкальский	6,58–7,08	0,15–0,16	0,43–0,44	15,05–17,19
Шлемник андрахновидный	8,80–9,92	0,23–0,24	0,30–0,31	10,17–12,67
Жидкофазный биореактор колонного типа с барботажем				
Шлемник байкальский	6,98–7,44	0,19–0,21	0,46–0,47	15,77–18,09
Шлемник андрахновидный	9,25–10,30	0,27–0,28	0,33–0,34	11,08–13,40
Жидкофазный биореактор барабанного типа				
Шлемник байкальский	6,75–7,18	0,17–0,18	0,42–0,43	15,13–17,25
Шлемник андрахновидный	8,84–9,88	0,25–0,26	0,29–0,30	10,30–12,86

Анализ ростовых характеристик суспензионных культур растений представлен в табл. 1 в зависимости от варианта выращивания их.

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что предпочтительным вариантом выращивания суспензионных культур всех тестируемых лекарственных растений является использование жидкофазного биореактора колонного типа с барботажем, поскольку в данном случае достигаются максимальные значения индекса роста, удельной скорости роста и экономического коэффициента, а также суммарного содержания основных биохимических соединений.

Для характеристики роста корневых культур использовался показатель индекса роста (рис. 7, 8), а также содержание основных биохимических соединений (табл. 2).

Из рис. 7, 8 следует, что для корневой культуры шлемника байкальского максимальный индекс роста достигается при культивировании в течение 14 суток в газофазных биореакторах туманного и дождевального типа, для корневой культуры шлемника андрахновидного – в газофазном биореакторе туманного типа. Полученные результаты согласуются с данными, представленными в табл. 2.

В корневой культуре шлемника байкальского, выращенных в газофазных биореакторах туманного и дождевального типа, зафиксировано максимальное содержание основных биохимических соединений. Для корневой культуры шлемника андрахновидного наибольшее содержание биохимических соединений отмечено при культивировании в газофазном биореакторе туманного типа.

**Вывод**

Таким образом, подобраны системы аппаратного выращивания полученных суспензионных культур клеток и корневых культур *in vitro* в биореакторах различной конструкции и объема при различных режимах культивирования:

– для суспензионных культур клеток шлемника байкальского и шлемника андрахновидного – использование жидкофазного биореактора колонного типа с барботажем (рабочий объем 50 л);

– для корневых культур шлемника байкальского – использование газофазных биореакторов туманного и дождевального типа (рабочий объем 30 л);

– для корневой культуры шлемника андрахновидного – использование газофазных биореакторов туманного типа (рабочий объем 30 л).

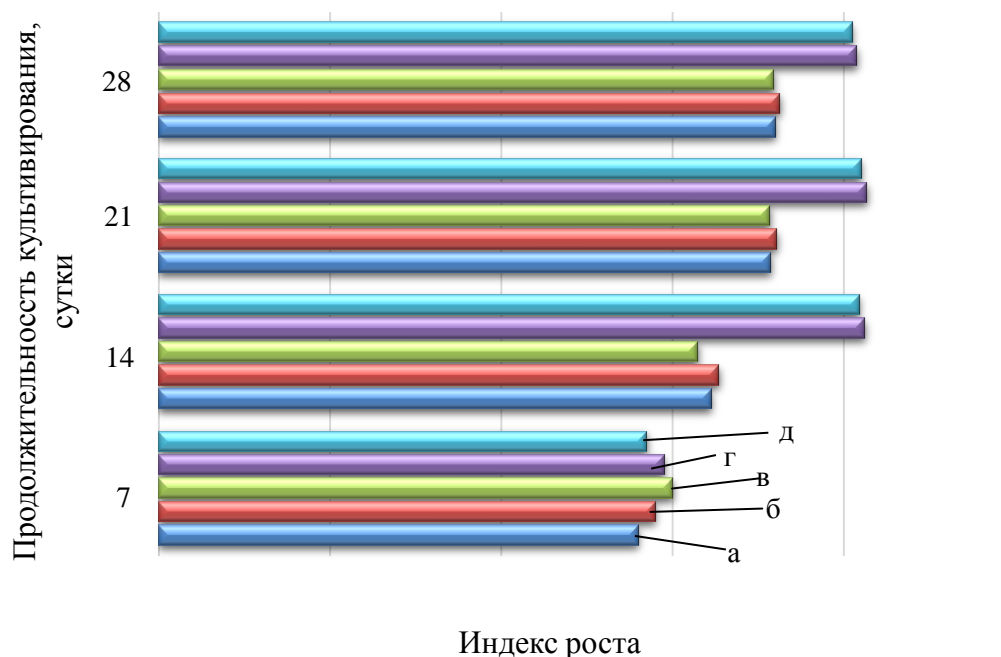


Рис. 7. Индекс роста корневых культур шлемника байкальского: а – жидкофазный биореактор колонного типа с механическим перемешиванием; б – жидкофазный биореактор колонного типа с барботажем; в – жидкофазный биореактор барабанного типа; г – газофазный биореактор туманного типа; д – газофазный биореактор дождевального типа

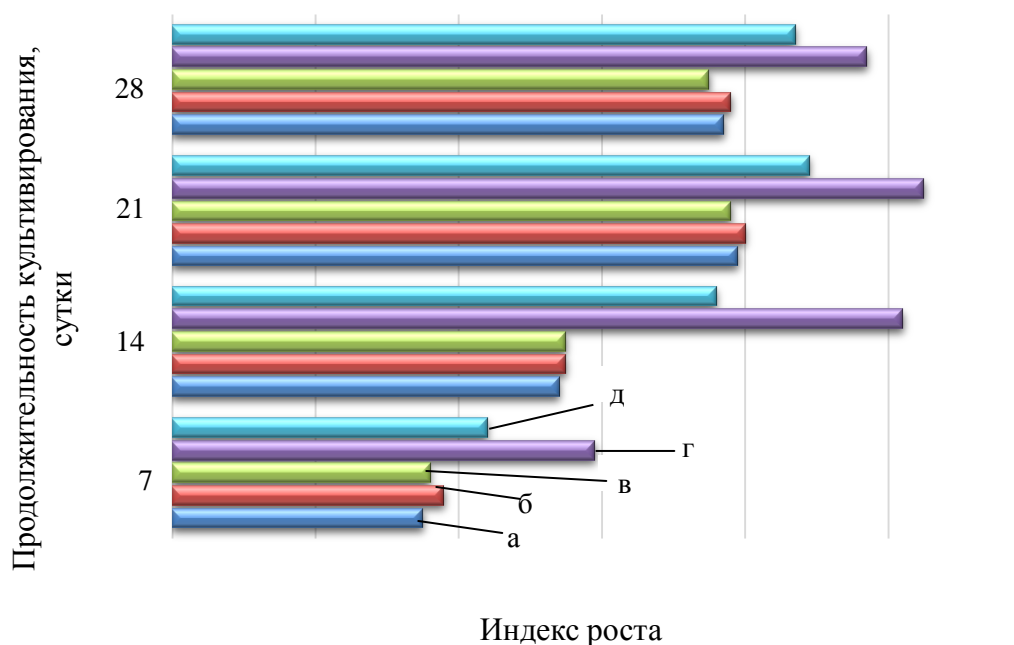


Рис. 8. Индекс роста корневых культур шлемника андрахновидного: а – жидкофазный биореактор колонного типа с механическим перемешиванием; б – жидкофазный биореактор колонного типа с барботажем; в – жидкофазный биореактор барабанного типа; г – газофазный биореактор туманного типа; д – газофазный биореактор дождевального типа



Таблица 2  
Результаты определения содержания биохимических соединений в корневых культурах  
лекарственных растений

Наименование растения	Суммарное содержание биохимических соединений, мг/г сухого веса				
	Жидкофазный биореактор колонного типа с механическим перемешиванием	Жидкофазный биореактор колонного типа с барботажем	Жидкофазный биореактор барабанного типа	Газофазный биореактор туманного типа	Газофазный биореактор дождевального типа
Шлемник байкальский	24,97–27,08	25,10–27,15	25,03–27,22	26,55–29,10	26,70–29,18
Шлемник андрахновидный	23,10–25,54	23,07–25,48	23,01–25,40	24,66–26,15	23,75–25,90

Работы выполняются в рамках государственного задания по теме «Скрининг биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих геропротекторными свойствами, и разработка технологии получения нутрицевтиков, замедляющих старение» (номер темы FZSR-2020-0006).

#### Литература

1. Быков, В.А. Биоразнообразие растений, здоровье человека / В.А. Быков // Вестник РАН. – 2016. – Т. 86, № 6. – С. 553–556.

2. Левента А.И., Усов Л.А., Семинский И.Ж. и др. Исторические аспекты и современные методологические подходы к поиску новых лекарственных средств на основе растительного сырья из биоразнообразия Байкальской Сибири (к 90-летию кафедры фармакологии ИГМУ) // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 105–111.

3. Буко, Т. Конспект флоры высших сосудистых растений Кузнецкого Алатауского заповедника // Бот. исследования Сибири и Казахстана. 2002. № 8. С. 35–53.

4. Ботоева, Е.А. Фитотерапия воспалительных заболеваний женских половых органов / Э.А. Ботоева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 1-2 (77). – Р. 31–34.

5. Эбель, А.Л. Новые виды сосудистых растений для Кемеровской области / А.Л. Эбель, Т.Е. Буко, С.А. Шереметова, Г.И. Яковлева, А. Куприянов // Ботанический журнал. – 2009. – № 1. – С. 106–113.

6. Определитель растений Кемеровской области / под ред. ИХ. Красноборов. – Новосибирск, 2001. – 477 с.

7. Эбель А.Л. Флористические находки в бассейне Томи (Западная Сибирь) / А.Л.

Эбель, С. А. Шереметова, Т. Е. Буко // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. – 2009. – Т. 114, № 3. – С. 65–67.

8. Goldberg, A.A. Dry *Scutellaria Baikal* extract as a hemostimulant in the conditions of anti-tumor chemotherapy in patients with lung cancer / A.A. Goldberg, V.M. Ryzhakov, M.G. Matyazh et al. // *Experimental and Clinical Pharmacology*. – 1997. – Т. 60 (3). – Р. 28–30.

9. Красноборов И.М. Исследователи флоры Кемеровской области // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – 2006. – Вып. 12. – С. 134–147.

10. Кузовкина, И. Флавоны генетически трансформированных корней *Scutellaria baicalensis* Georgi и индукция их образования при выделении метилжасмонатом / И. Кузовкина, А. Гусева, Д. Ковач, Э. Секе, М.Ю. Вдовиченко // Физиология растений. – 2005. – Vol. 52. – Р. 90–96.

11. Ключевые ботанические территории Кемеровской области / под ред. А.Н. Куприянова. – Кемерово, 2009. – 113 с.

12. Medicinal Plants to Strengthen Immunity during a Pandemic / O. Babich, S. Sukhikh, A. Prosekov, L. Asyakina, S. Ivanova // *Pharmaceuticals*. 2020. Vol. 13 (313). DOI: 10.3390/ph13100313

13. Modern Trends in the In Vitro Production and Use of Callus, Suspension Cells and Root Cultures of Medicinal Plants / Babich O., Sukhikh S., Pungin A., Ivanova S., Asyakina L., Prosekov A. // *Molecules*. 2020. Vol. 25 (24). P. 5805. DOI: 10.3390/molecules25245805

14. Assessment of the content of heavy metals in medicinal plants of genus *trifolium* from

the growing area on the example of the siberian federal district / A. I. Dmitrieva, O.V. Belashova, I. S. Melenteva, S. A. Ivanova, A.Yu. Prosekov // *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020. Vol. 12. Issue 4. P. 480–493. DOI: 10.31838/ijpr/2020.12.03.262

15. Optimization of extraction parameters of biologically active substances from dried biomass of callus, suspension cells and root cultures *in vitro* // L.K. Asyakina, O.O. Babich, A.V. Pun-

gin, A.Yu Prosekov, A.D. Popov, T.V. Voblikova // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 613. 2020. P. 012008. DOI: 10.1088/1755-1315/613/1/012008

16. Murashige T, Scoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum*. 1962. Vol. 15. P. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

**Асякина Людмила Константиновна**, кандидат технических наук, доцент кафедры бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» (г. Кемерово), <https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>, [alk\\_kem@mail.ru](mailto:alk_kem@mail.ru)

**Дышлюк Любовь Сергеевна**, доктор технических наук, доцент кафедры бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» (г. Кемерово), <https://orcid.org/0000-0002-7333-8411>

**Позднякова Анна Владимировна**, кандидат технических наук, доцент кафедры бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» (г. Кемерово).

**Просеков Александр Юрьевич**, доктор технических наук, профессор РАН, заведующий кафедрой бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» (г. Кемерово), <https://orcid.org/0000-0002-5630-3196>

*Поступила в редакцию 2 июня 2021 г.*

---

DOI: 10.14529/food210305

### SELECTION OF A SYSTEM FOR APPARATUS CULTIVATION OF SUSPENSION CULTURES OF CELLS AND ROOT CULTURES *IN VITRO* IN BIOREACTORS OF VARIOUS DESIGNS AND VOLUMES

**L.K. Asyakina, L.S. Dyshlyuk, A.V. Pozdnyakova, A.Y. Prosekov**

*Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation*

The production of biologically active substances from medicinal plants is currently an urgent task. The ways of obtaining these substances are varied. This article discusses the instrumental cultivation of suspension cultures of cells and root cultures *in vitro* in bioreactors of *scutellaria baicalensis* and *scutellaria andrachnoides*. For cultivation the following are offered: liquid-phase column-type bioreactor with mechanical stirring (stirring speed 50 rpm), working volume 30 l; liquid-phase column-type bioreactor with bubbling (bubbling of sterile air or gas mixture supplied from below), working volume 50 l; drum-type liquid-phase bioreactor, working volume 100 l; fog-type gas-phase bioreactor (diameter of nutrient medium droplets 20–25 microns), working volume 30 l; sprinkler-type gas-phase bioreactor (diameter of nutrient medium droplets 500 microns), working volume 30 liters. Data were obtained that the cultivation of suspension cultures of *scutellaria andrachnoides* and *scutellaria baicalensis* is the use of a liquid-phase column-type bioreactor with a bubble gum, since in this case the maximum values of the growth index, specific growth rate and economic coefficient, as well as the total content of the main biochemical compounds. In the root culture of *scutellaria baicalensis*, grown in gas-phase bioreactors of the fog and sprinkler type, the maximum content of the main biochemical compounds was recorded. For the root culture of *scutellaria andrachnoides*, the highest content of biochemical compounds was noted during cultivation in a fog-type gas-phase bioreactor.

**Keywords:** *scutellaria baicalensis*, *scutellaria andrachnoides*, bioreactor, suspension cell cultures, in vitro root cultures, media composition, growth characteristics.

### References

1. Bykov V.A. Plant biodiversity human health. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences*, 2016, vol. 86, no. 6, pp. 553–556. (in Russ.)
2. Leventa A.I., Usov L.A., Seminsky I. Zh. et al. Historical aspects and modern methodological approaches to the search for new drugs based on plant raw materials from the biodiversity of Baikal Siberia. *Siberian medical journal*, 2012, no. 1, pp. 105–111. (in Russ.)
3. Buko T.E. Abstract of the flora of higher vascular plants of the Kuznetsk Alatau reserve. *Bot. issledovaniya Sibiri i Kazakhstana* [Bot. research Siberia and Kazakhstan], 2002, no. 8, pp. 35–53. (in Russ.)
4. Botoeva E.A. Phytotherapy of inflammatory diseases of female genital organs. *Acta biomedica scientifica*, 2011, no. 1-2 (77), pp. 31–34.
5. Ebel A.L., Buko T.E., Sheremetova S.A., Yakovleva G.I., Kupriyanov A.N. New species of vascular plants for the Kemerovo region. *Bot. zhurn.*, 2009, no. 1, pp. 106–113. (in Russ.)
6. Krasnoborov I.M. (Ed.) *Opredelitel' rasteniy Kemerovskoy oblasti* [Keys to Plants of the Kemerovo Region]. Novosibirsk, 2001. 477 p.
7. Ebel A.L., Sheremetova S.A., Buko T.E. Floristic findings in the Tom basin (Western Siberia). *Bull. MOIP. Dept. biol.*, 2009, vol. 114 (3), pp. 87–90. (in Russ.)
8. Goldberg A.A., Ryzhakov V.M., Matyazh M.G. et al. Dry *Scutellaria* Baikal extract as a hemostimulant in the conditions of antitumor chemotherapy in patients with lung cancer. *Experimental and Clinical Pharmacology*, 1997, vol. 60 (3), pp. 28–30.
9. Krasnoborov I.M. Researchers of the flora of the Kemerovo region. *Bot. issledovaniya Sibiri i Kazakhstana* [Bot. research Siberia and Kazakhstan], 2006, iss. 12, pp. 134–147. (in Russ.)
10. Kuzovkina I.N., Guseva A.V., Kovacs D., Seke E., Vdovitchenko M.Yu. Flavones of genetically transformed roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi and induction of their formation during elicitation with methyl jasmonate. *Plant Physiology*, 2005, vol. 52, pp. 90–96. (in Russ.)
11. Kupriyanov A.N. (Ed.) *Klyuchevyye botanicheskiye territorii Kemerovskoy oblasti* [Key botanical territories of the Kemerovo region]. Kemerovo, 2009. 113 p.
12. Babich O., Sukhikh S., Prosekov A., Asyakina L., Ivanova S. Medicinal Plants to Strengthen Immunity during a Pandemic. *Pharmaceuticals*, 2020, vol. 13 (313). DOI: 10.3390/ph13100313
13. Babich O., Sukhikh S., Pungin A., Ivanova S., Asyakina L., Prosekov A. Modern Trends in the In Vitro Production and Use of Callus, Suspension Cells and Root Cultures of Medicinal Plants. *Molecules*, 2020, vol. 25 (24), pp. 5805. DOI: 10.3390/molecules25245805
14. Dmitrieva A.I., Belashova O.V., Melenteva I.S., Ivanova S.A., Prosekov A.Yu. Assessment of the content of heavy metals in medicinal plants of genus *trifolium* from the growing area on the example of the Siberian federal district. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 2020, vol. 12, iss. 4, pp. 480–493. DOI: 10.31838/ijpr/2020.12.03.262
15. Asyakina L.K., Babich O.O., Pungin A.V., Prosekov A.Yu., Popov A.D., Voblikova T.V. Optimization of extraction parameters of biologically active substances from dried biomass of callus, suspension cells and root cultures in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 613, 2020, p. 012008. DOI: 10.1088/1755-1315/613/1/012008
16. Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum*, 1962, vol. 15, pp. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

**Lyudmila K. Asyakina**, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo State University, Kemerovo, <https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>, [alk\\_kem@mail.ru](mailto:alk_kem@mail.ru)

**Lyubov S. Dyshlyuk**, Doctor of Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo State University, Kemerovo, <https://orcid.org/0000-0002-7333-8411>

**Anna V. Pozdnyakova**, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo State University, Kemerovo.

**Alexander Yu. Prosekov**, Doctor of Technical Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo State University, Kemerovo, <https://orcid.org/0000-0002-5630-3196>

*Received June 2, 2021*

---

### ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Подбор системы аппаратурного выращивания суспензионных культур клеток и корневых культур *in vitro* в биореакторах различной конструкции и объема / Л.К. Асыкина, Л.С. Дышлюк, А.В. Позднякова, А.Ю. Просеков // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2021. – Т. 9, № 3. – С. 41–52. DOI: 10.14529/food210305

### FOR CITATION

Asyakina L.K., Dyshlyuk L.S., Pozdnyakova A.V., Prosekov A.Y. Selection of a system for apparatus cultivation of suspension cultures of cells and root cultures *in vitro* in bioreactors of various designs and volumes. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2021, vol. 9, no. 3, pp. 41–52. (in Russ.) DOI: 10.14529/food210305

---