

## 6. ZÁVĚR

- z dostupných informačních zdrojů byl vypracován přehled týkající se rostliny *Scutellaria baicalensis* Georgii a biologické aktivity hlavních obsahových látek. Tento přehled byl publikován a jeho podstatná část je součástí teoretické části této disertační práce.
- podařilo se založit kalusovou kulturu *Scutellaria baicalensis* Georgii a z ní odvodit další typy explantátových kultur: kulturu suspenzní a kulturu kořenovou.
- protože se v literatuře nepodařilo najít HPLC metodu úplně vyhovující našim podmínkám a vybavení, byla vypracována vlastní HPLC analytická metoda pro kvantitativní stanovení sledovaných flavonoidů (baicalin, baicalein).
- při studiu kultivačních podmínek byl nejvyšší obsah obou sledovaných flavonoidů pozorován u MS půdy obsahující 10 mg.l<sup>-1</sup> NAA. Na této půdě rostly také kultury nejrychleji. Kultivace v trvalé tmě přinesla sice zvýšení obsahu flavonoidů, ale zároveň zpomalila růst kultur. Vlivem umístění kalusových kultur do trvalého světla byla iniciována biosyntéza anthokyaninů.
- množství baicalinu a baicaleinu v kulturách bylo zvýšeno po přidavku některých potenciálních prekurzorů. Jako nejlepší se ukázal přídavek CINNA v koncentraci 5 mg.l<sup>-1</sup>, kdy došlo ke zdvojnásobení produkce baicalinu oproti kontrole.
- při sledování vlivu vybraných elicitorů bylo zjištěno, že množství baicalinu a baicaleinu lze zvýšit přidáním MB do kultivačního média. Pro obsah baicalinu byla optimální koncentrace MB

- 10 mg.l<sup>-1</sup> při odběru po 24 hodinách, pro baicalein to byla koncentrace 0,1 mg.l<sup>-1</sup> a 8 h odběr.
- při zavádění kultivace suspenzní kultury v laboratorním bioreaktoru se jako klíčová ukázala role rychlosti míchání a rychlosti vzdušnění. Pro růst kultury bylo nezbytné udržovat množství kyslíku rozpuštěného v médiu nad relativní hodnotou pO<sub>2</sub> = 20%. Toho bylo docíleno při rychlosti míchání 150 otáček za minutu a vzdušněním 0,6 l.min<sup>-1</sup>. Rychlost růstu pak byla pozitivně ovlivněna přidávkem Pluronicu F68 do živného média, a to v koncentraci 2 g.l<sup>-1</sup>.
- ve spolupráci s katedrou biochemie byl testován vliv baicalinu a baicaleinu na aktivitu aspartat-aminotransferasy. Bylo zjištěno, že obě látky silně snižují aktivitu tohoto enzymu, který je zodpovědný za konverzi aminokyseliny na příslušné ketokyseliny a naopak.<sup>17)</sup>

U suspenzních kultur *Scutellaria baicalensis*, které jsou na našem pracovišti pěstovány již 4 roky, bylo dosaženo trvale produkční linie. Obsah baicalinu a baicaleinu v jednotlivých pasážích sice kolísá, ale součet jejich obsahů byl u posledních 10 sledovaných pasáží vždy nad hranicí 2 %. Biotechnologickými metodami jako je elicítace a přidávání prekurzorů lze toto množství v kulturách dále zvýšit a dosáhnout až 4 % těchto flavonoidů v sušině.

Dále byla prokázána možnost převést tuto kulturu do bioreaktoru a produkovat biomasu *S. baicalensis* (respektive baicalin a baicalein) ve větších množstvích touto biotechnologickou cestou. Kultivace v bioreaktoru ještě nebyla plně optimalizována, ale podařilo se zvýšit produkci biomasy na hodnoty obvyklé u kultur pěstovaných v baňkách a aplikovat i stejné postupy

pro zvýšení obsahu sekundárních metabolitů, lze v budoucnu počítat s produkcí 0,4 až 1,0 g baicaleinu na litr média.