Farmacie 1-07 8.2.2007 9:18 Str. 21
proLékaře.cz | 27.4.2026

# *Genista tinctoria in vitro*

TŮMOVÁ L., ŠÁRKOVÁ T., DUŠEK J.
Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakognozie

Došlo: 25. října 2006 / Přijato: 1. prosince 2006

SOUHRN

***Genista tinctoria in vitro***
Práce se zabývá vlivem různých růstových regulátorů při kultivaci kalusové kultury *Genista tinctoria* na MS médiu za různých světelných režimů na růst kultury a produkci isoflavonoidů. Z testovaných regulátorů byl největší růst kultury zjištěn při použití BAP 10 mg/l při nepřetržitém osvětlení. Při použití BAP 0,1 mg/l a za normálního světelného režimu produkce genistinu a daidzeninu byla dokonce vyšší než v intaktní rostlině. Z pěti stanovovaných isoflavonoidů byly v kalusové kultuře prokázány čtyři, a to: genistin, genistein, daidzein a formononetin. V intaktní rostlině se podařilo stanovit daidzein, genistein a biochanin A.
**Klíčová slova:** *Genista tinctoria* – kalusová kultura – regulátory růstu – isoflavonoidy

**Čes. slov. Farm., 2007; 56, 21–26**

SUMMARY

***Genista tinctoria in vitro***
The paper deals with the effects of different growth regulators on the growth of the culture and production of isoflavonoids in the cultivation of the callus culture *Genista tinctoria* on MS medium under varying light regimens. Of the regulators tested, the highest growth of the culture was found when using BAP 10 mg/l under continuous lighting. With the use of BAP 0.1 mg/l and under normal light regimen, the production of genistine and daidzenin was even higher than in the intact plant. Of the five isoflavonoids determined, four were demonstrated in the callus culture: genistine, genistein, daidzein, and formononetin. In the intact plant the authors managed to determine daidzein, genistein, and biochanin A.
**Key words:** *Genista tinctoria* – callus culture – growth regulators – isoflavonoids

**Čes. slov. Farm., 2007; 56, 21–26** *Má*

## *Úvod*

*Genista tinctoria* – kručinka barvířská, *Fabaceae*, je 20–60 (až 200) cm vysoký polokeř rozšířený téměř po celé Evropě i v Asii. Je to typická rostlina světlých lesů (doubrav), sušších luk, mezí, pastvin, slunných strání od nížin do podhorského pásma [1–3]. Kvetoucí nať se sbírá od května do srpna. V lidovém léčitelství se používá pro svůj značně močopudný účinek při chorobách ledvin a močových cest jako diuretikum. Diuretický účinek způsobují hlavně flavony a silice. Též se podává při nedostatečné srdeční činnosti a při otocích. Zrychluje střevní peristaltiku [2–4]. Aplikuje se formou nálevu.

Rostlina obsahuje chinolizidinové alkaloidy, flavonové glykosidy, silice, třísloviny, kumariny, slizy, vedle toho také hořčiny, antokyanidy, saponiny a další [1,4–6]. *Genista tinctoria* obsahuje převážně isoflavonoidy. Luczkiewicz ve své práci prokázal, že kalusové kultury rodu *Genista* produkují větší množství isoflavonoidů než mateřská rostlina [7]. Kalusová kultura produkovala 14 isoflavonoidů se zřetelnou dominací v produkci genistinu [7]. Isoflavonoidy prokázané Luczkiewiczem v kalusové kultuře *Genista tinctoria*: genistein-7-O-glykosid, purearin, 2‘-hydroxygenistein-7-O-glykosid, genistin, genistin malonát, 3‘,4‘,7‘-trihydroxyisoflavon, genistin acetát, genistein, daidzein, daidzin, ononin, equol, liquiritigenin, sissotrin [7].

**Autor pro korespondenci:**
doc. PharmDr. Lenka Tůmová. Ph.D.
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakognozie
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
e-mail: tumova@faf.cuni.cz

Farmacie 1-07 8.2.2007 9:18 Str. 22
proLékaře.cz | 27.1.2026

Isoflavonoidy totiž patří k nejznámějším fytoestrogenům. Fytoestrogeny jsou rozmanitá skupina látek získaných z rostlin, které strukturně nebo funkčně kopírují savčí estrogeny. Fytoestrogeny hrají důležitou roli v prevenci menopauzálních příznaků, osteoporózy, aterosklerózy, kardiovaskulárních onemocnění a inhibují rozvoj a růst buněk nádorů prsu, vaječníků, prostaty a štítné žlázy [7–14]. Role fytoestrogenů v prevenci rakoviny je stále dále zkoumána a diskutována.

Luczkiewicz odvodil kalusové kultury z šesti druhů rodu *Genista* s cílem, co nejvyšší produkce isoflavonoidů s fytoestrogenní aktivitou, konkrétně genisteinu a genistinu [7].

Fytochemickým průzkumem bylo zjištěno, že kalusová kultura *Genista tinctoria* produkuje vysoké množství isoflavonoidů. V případě *in vitro* kultur *Genista tinctoria* bylo množství isoflavonoidů mnohem větší něž v intaktní rostlině i v rostlině *Glycine max*, která je dosud považována za nejbohatší zdroj těchto látek [7].

Biotechnologický výzkum zahrnoval těchto šest druhů: *Genista tinctoria*, *Genista sagittalis*, *Genista germanica*, *Genista radiata*, *Genista aethnesis* a *Genista monospessulana*. U kultur byly optimalizovány podmínky pro růst a produkci isoflavonoidů obměnou různých živných médií a přítomností nebo absencí světla [7].

Luczkiewicz použil jak média bohatá na minerály a organické látky (SH médium, MS médium, MS médium s přídavkem 100 mg/l PVP), tak média ochuzená o minerály a organické látky (G-5 médium, NN médium, Mill médium, MC médium). Ke všem médiím byly přidány růstové regulátory 2,4-D (22,6 μmol/l), kinetin (23,2 μmol/l), 3% (m/v) sacharosy a 0,7% (m/v) agaru. Kultury byly vystaveny nepřetržitému osvětlení (o intenzitě 88±8 μmol/m$^2$s) a teplotě 25±2 °C. Výjimkou bylo SH médium, kdy byla kalusová kultura pěstována jak za nepřetržitého osvětlení, tak za nepřetržitého zatemnění [7].

Výzkum ukázal, že rod *Genista* se jen obtížně kultivuje *in vitro*. Na G-5 médiu ze všech druhů explantátů jen 20 % vytvořilo kalus se silným sklonem k odumírání a na MS médiu 45 % explantátů vytvořilo krémový až hnědý kalus s omezenou životaschopností.

Experiment ukázal, že změna složení média i světelného režimu má významný dopad jak na růst kalusové kultury, tak na produkci isoflavonoidů [7].

Nejlepšího růstu a nejvyšší produkce isoflavonoidů bylo dosaženo pod nepřetržitým osvětlením na SH médiu s přídavkem 2,4-D (22,6 μmol/l), kinetinu (23,2 μmol/l), 3% (m/v) sacharosy. Kalusové kultury všech druhů produkovaly více isoflavonoidů než mateřská rostlina. Skupina vyprodukovaných isoflavonoidů byla složena ze 14 sloučenin s jasnou převahou genistinu [7].

Isoflavonoidy prokázané v kalusové kultuře: genistein-7-O-glykosid, purearin, 2‘-hydroxy-genistein-7-O--glykosid, genistin, genistin malonát, 3‘,4‘,7‘-trihydroxyisoflavon, genistin acetát, genistein, daidzein, daidzin, ononin, equol, liquiritigenin, sissotrin [7].

Kalus s nejvyšším obsahem isoflavonoidů byl získán z *Genista tinctoria*, produkující 6586,5 mg celkových isoflavonoidů na 100 g sušiny, ze kterých byl HPLC analýzou identifikován genistin v množství 3016,3 mg.

Kromě SH média relativně vysoký nárůst kalusu byl také na MS médiu, což ukázalo, že kalusová kultura rodu *Genista* vyžaduje média bohatá na minerály a organické látky. Nejmenší růst i produkce byla prokázána na MC médiu. Výjimkou mezi médii s nízkým obsahem minerálních a organických látek bylo Mill médium, kde navzdory malému růstu kalus produkoval značné množství isoflavonů. Luczkiewicz se domnívá, že produkci v případě Mill média ovlivňuje obsah aminokyselin (fenylalaninu, glycinu, cytisinu) a jejich komplexu (hydrolyzát kaseinu).

Přítomnost světla, nebo jeho absence se projevila na biosyntéze esterů genisteinu. Kalus *Genista tinctoria* kultivovaný na SH médiu při nepřetržitém osvětlení produkoval mnohem více genistein malonátu než genistein acetátu. Naopak za nepřetržitého zatemnění byla produkce acetátu větší než malonátu.

Světelný režim měl dopad i na růst kalusu. Kalus *Genista tinctoria* měl nižší hodnotu růstového faktoru ve tmě než za nepřetržitého osvětlení.

Ve všech médiích byly hlavní komponenty ze zkoumaných isoflavonoidů deriváty genisteinu ve formě monoglykosidů, diglykosidů, esterů kyseliny malonové a octové. Ostatní isoflavonoidy byly přítomny v podstatně menším množství [7].

Další Luczkiewiczova studie se zaměřila na závislost morfogeneze na akumulaci fytoestrogenů v *in vitro* kultuře *Genista tinctoria*. Zabývala se hledáním vztahu mezi metabolizmem genisteinu a daidzeinu během růstu v buněčné suspenzní kultuře, zárodečné kultuře, výhonkové kultuře a kořenové kultuře. Studie ukázala, že akumulace isoflavonoidů závisí na typu použité kultury.

Neorganizovaná suspenzní kultura produkovala největší množství glykosidů i aglykonů isoflavonoidů (9445 mg/100 g sušiny). Výhonkové kultury jsou charakterizovány největším obsahem esterů genistinu, což ukazuje, že biosyntéza těchto látek také souvisela s diferenciací. Kořenové kultury kumulovaly velké množství primárního metabolitu isoliquiritigeninu (978,4 mg/100 g sušiny), jedná se o prekurzor isoflavonů, který se nevyskytuje v intaktní rostlině. Poměr akumulovaných isoflavonů byl ovlivněn tkáňovou diferenciací [15].

## POKUSNÁ ČÁST

### *Chemikálie*

Agar, Dufci Laboratoriem, USA; ajatin, Profarma–Produkt, ČR; benzylaminopurin, Lachema, ČR; Biochanin A p.a., Sigma, USA; Daidzein p.a., Fluka, Švýcarsko; dihydrogenfosforečnan draselný p.a.,Lachema, ČR; dusičnan amonný, p.a., Penta, ČR; dusičnan draselný p.a., Lach–Ner, ČR; ethanol 96%, Lachema, ČR; ethylester kyseliny octové p.a., Lachema, ČR; formononetin p.a., Fluka, Švýcarsko; Genistein p.a., Sigma, USA

Genistin p.a., Fluka, Švýcarsko; glycin, Aldrich, USA; hydrolyzát kaseinu, Imuna, Slovensko; chlorid kobaltnatý p.a., ($COCl_2.6\ H_2O$), Lachema, ČR; chlorid vápenatý p.a., Penta, ČR; chlorové vápno, Spolana, ČR; jodid draselný p.a., Lachema, ČR; kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová, Aldrich, USA;

Farmacie 1-07 8.2.2007 9:18 Str. 23
proLékaře.cz | 27.1.2026

kyselina boritá p.a., Lachema, ČR; kyselina nikotinová, Lachema, ČR; kyselina o-fosforečná, Lachema, ČR; kyselina α-naftylocová, Sigma, USA;

methanol HPLC grade, Merk, Německo; methanol p.a. Penta, ČR; molybdenan sodný, Lachema, ČR; myo-inositol, Fluka, Švýcarsko; propylether p.a., Lachema, ČR;

pyridoxin puriss., Koch-Light Laboratories, Velká Británie; sacharosa čistá, Lachema, ČR;

síran hořečnatý p.a., Lachema, ČR; síran manganatý p.a., Lachema, ČR; síran měďnatý p.a., Lachema, ČR; síran zinečnatý ($ZnSO_4.7\ H_2O$), Lachema, ČR; síran železnatý čistý ($FeSO_4.7\ H_2O$), Lachema, ČR; Thiamin, Koch-Light Laboratories, Velká Británie.

***Biologický materiál***

Byla použita tkáňová kultura odvozená z kořenové části klíční rostliny *Genista tinctoria* v 3.–11. pasáži.

***Kultivace tkáňové kultury***

Byla použita tkáňová kultura odvozená z kořenové části klíční rostliny *Genista tinctoria*. Semena byla před kultivací povrchově sterilizována.

Po sterilizaci byla semena jednotlivě přenesena do sterilních Erlenmayerových baněk s živnou půdou Murashigeho a Skooga (MS) s přídavkem agaru a růstového regulátoru 2,4-dichlorfenoxyoctové kyseliny v koncentraci 1,0 mg/l. Kultivace probíhala za normálního světelného režimu, tzn. 16 hodin světlo, 8 hodin tma a při teplotě 25 °C.

Kalus vytvořený z kořenové části klíční rostliny byl přenesen do sterilní Erlenmeyerovy baňky na papírový můstek s obsahem MS média s přídavkem růstového regulátoru 2,4 D o koncentraci 1,0 mg/l. Za těchto podmínek probíhala kultivace kultury do 3. pasáže. Od 3. pasáže byly do živného média přidány růstové regulátory α-NAA, BAP o koncentracích 0,1; 1,0; 10,0 mg/l, 2,4 D o koncentraci 0,1; 1,0 mg/ l a 2,4 D s přídavkem kinetinu o koncentraci 0,1 + 0,1; 0,1 + 1,0; 1,0 + 0,1; 1,0 + 1,0 mg/l.

Po čtyřech týdnech kultivace byla stanovena hmotnost narostlých kalusů a vyhodnocení růstu bylo provedeno pomocí růstového faktoru R [16)].

***Stanovení obsahu flavonoidů [17)]***

Sušené vzorky kalusů byly po rozdrobnění v třecí misce naváženy a dvakrát extrahovány vždy 10 ml 80% methanolu po dobu 20 minut na vodní lázni pod zpětným chladičem. Oba extrakty byly spojeny a doplněny na 20 ml a zbaveny chlorofylu vytřepáním s petroletherem. Po filtraci byl asi 1,7 ml roztoku převeden přes mikrofiltr do vialek a analyzován metodou HPLC [17)].

***Parametry HPLC analýzy***

*Chromatograf:* Jasco (AS-2055 Plus, PU-2089 Plus, MD-2015, MD-2020)

*Kolona:* Kolona Li ChroCART 250 x 4, sorbent Li Chrospher 5 μm

*Objem nástřiku:* 20 μl

*Detekce:* DAD Jasco MD-2015, λ = 200–650 nm, vyhodnoceno při 260–266 nm

Fluorescenční detektor Jasco MD-2020, $\lambda_{ex}$ = 340 nm, $\lambda_{em}$ = 470 nm

*Mobilní fáze:* fáze A: methanolický roztok kyseliny o-fosforečné (0,15 % m/v)

fáze B: vodný roztok kyseliny o-fosforečné (0,15 % m/v)

*Eluční profil:* 0–4 min, 50 % A a 50 % B (izokratická eluce)

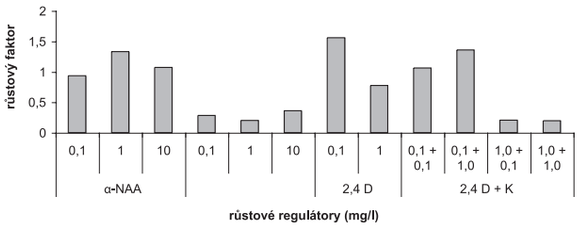
4–13 min z 50 % A v B → 100 % A (gradientová eluce)

*Standardy:* genistin, genistein, daidzein, formononetin, biochanin A

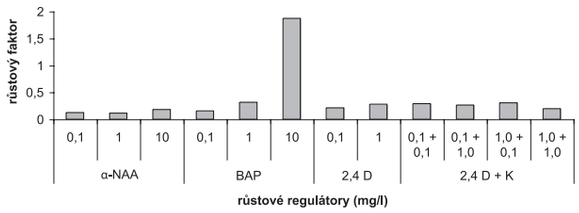
*Průtok:* 1,1 ml/min

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Důležitým krokem k odvození explantátové kultury s vysokou produkcí sekundárních metabolitů je zajištění optimálních podmínek kultivace. Jedná se o složení živného média, vliv světelného režimu a přítomnost růstového regulátoru v odpovídající koncentraci, důležitou roli hraje i velikost explantátu. Nezbytným předpokladem je také aseptická práce.




*Obr. 1. Růst kalusové kultury Genista tinctoria na MS médiu s přídavkem různých regulátorů o různých koncentracích za neustálého osvětlení*




*Obr. 2. Růst kalusové kultury Genista tinctoria na MS médiu s přídavkem různých regulátorů o různých koncentracích za normálního světelného režimu*

Při hodnocení růstu kalusové kultury po přidání růstového regulátoru BAP v různých koncentracích k MS médiu a za různých světelných režimů byl největší růst zjištěn u koncentrace 10,0 mg/l při nepřetržitém osvětlení (R = 1,868) (obr. 1). Zároveň byla zjištěná hodnota růstového faktoru kultury nejvyšší ze všech testovaných regulátorů.

Při hodnocení růstu kalusové kultury na MS médiu s přídavkem regulátoru α-NAA v různých koncentracích a za různých světelných režimů byl největší růst zaznamenán při koncentraci 1,0 mg/l za normálního světelného režimu (R = 1,331) (obr. 2).

Při použití růstového regulátoru 2,4 D v různých koncentracích a za různých světelných režimů bylo maximálního růstu dosaženo při koncentraci 0,1 mg/l za normálního osvětlení (R = 1,564) (obr. 2).

Při použití kombinace růstových regulátorů 2,4 D s kinetinem byl největší růst zaznamenán při koncentracích 0,1 mg/l + 1,0 mg/l za normálního světelného režimu (R = 1, 356) (obr. 2).

Farmacie 1-07 8.2.2007 9:18 Str. 24
proLékaře.cz | 27.4.2026

*Tab. 1. Produkce genisteinu, genistinu, daidzeinu, formonetinu a biochaninu A v kalusové kultuře pěstované na MS médiu s obsahem různých koncentrací růstových regulátorů a za rozdílného světelného režimu*

| Růstový regulátor – světelný režim | genistin (%) | daid (%) | gen (%) | form (%) | bio A (%) | navážka (g) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,1 mg/l α-NAA NR | 0 | 0,01 | | | | 0,3618 |
| 1,0 mg/l α-NAA NR | 0 | 0,02 | 0 | | | 0,2539 |
| 10,0 mg/l α-NAA NR | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0,3493 |
| 0,1 mg/l α-NAA NO | 0 | 0,01 | 0 | 0 | 0 | 0,2093 |
| 1,0 mg/l α-NAA NO | 0,01 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,1811 |
| 10,0 mg/l α-NAA NO | 0 | 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0,1634 |
| 0,1 mg/l α-NAA TMA | 0 | 0,01 | 0 | 0 | 0 | 0,2254 |
| 1,0 mg/l α-NAA TMA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,3393 |
| 10,0 mg/l α-NAA TMA | 0 | 0 | | 0 | | 0,2276 |
| 0,1 mg/l BAP NR | 0,05 | 0,04 | 0 | 0 | 0 | 0,1948 |
| 1,0 mg/l BAP NR | 0,03 | 0,02 | 0 | | 0 | 0,2535 |
| 10,0 mg/l BAP NR | 0,01 | 0,03 | 0 | 0 | 0 | 0,3717 |
| 0,1 mg/l BAP NO | 0 | | | | | 0,1738 |
| 1,0 mg/l BAP NO | 0 | | 0 | 0 | | 0,1485 |
| 10,0 mg/l BAP NO | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0,261 |
| 0,1 mg/l BAP TMA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2608 |
| 1,0 mg/l BAP TMA | | | | 0 | | 0,1421 |
| 10,0 mg/l BAP TMA | 0 | | | 0 | 0 | 0,2187 |
| 0,1 mg/l 2,4D NR | 0 | 0,01 | | | 0 | 0,1958 |
| 1,0 mg/l 2,4D NR | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,303 |
| 0,1 mg/l 2,4D NO | 0 | 0,02 | | 0 | | 0,1938 |
| 1,0 mg/l 2,4D NO | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0,2647 |
| 0,1 mg/l 2,4D TMA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,2208 |
| 1,0 mg/l 2,4D TMA | | 0 | 0 | | 0 | 0,2107 |
| 0,1 mg/l 2,4D + 0,1 mg/l K NR | 0 | 0,01 | | 0 | | 0,1728 |
| 0,1 mg/l 2,4D + 0,1K mg/l K TMA | | | 0 | 0 | | 0,1552 |
| 0,1 mg/l 2,4D + 0,1K mg/l NO | 0 | 0,02 | | 0 | | 0,398 |
| 0,1 mg/l 2,4D + 1,0 mg/l K NR | 0 | 0,01 | | 0 | | 0,2432 |
| 0,1 mg/l 2,4D + 1,0 mg/l K TMA | 0,01 | | | 0 | | 0,2684 |
| 0,1 mg/l 2,4D + 1,0 mg/l K NO | 0,02 | 0,04 | 0 | | | 0,2761 |
| 1,0 mg/l 2,4 D + 0,1 mg/l K NR | 0 | | | 0 | | 0,1237 |
| 1,0 mg/l 2,4 D + 0,1 mg/l K TMA | 0 | | 0,01 | 0 | 0 | 0,1489 |
| 1,0 mg/l 2,4 D + 0,1 mg/l K CO | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,1164 |
| 1,0 mg/l 2,4 D + 1,0 mg/l K NR | 0 | | | 0 | | 0,1094 |
| 1,0 mg/l 2,4 D + 1,0 mg/l K TMA | 0 | | | 0 | 0 | 0,1229 |
| 1,0 mg/l 2,4 D + 1,0 mg/l K NO | | 0,01 | 0 | | | 0,1544 |

NR – normální světelný režim, NO– neustálé osvětlení, TMA – neustále zatemnění

### *Vliv různých růstových regulátorů na produkci kalusové kultury*

Při hodnocení produkce kalusové kultury po přidání růstového regulátoru BAP v různých koncentracích k MS médiu a za různých světelných režimů byla největší produkce daidzeinu zaznamenána při koncentraci 0,1 mg/l při normálním světelném režimu (0,04 %) (tab. 1). Vysoká produkce genistinu nastala také při koncentraci 0,1 mg/l za normálního světelného režimu (0,05 %) (tab. 1). Ostatní isoflavonoidy byly obsaženy v téměř nedetekovatelných množstvích. Stanovené množství genistinu a daidzeinu v kultuře pěstované na MS médiu s přídavkem BAP o koncentraci 0,1 mg/l při normálním světelném režimu bylo nejvyšší ze všech testovaných regulátorů.

Produkce genistinu a daidzeninu byla dokonce vyšší než v intaktní rostlině (tab. 1). Zde se potvrdilo předchozí zjištění Luczkiewicze, který také uvádí zvýšenou produkci isoflavonoidů v kalusu v porovnání s intaktní rostlinou [7].

Ostatní sledované isoflavonoidy (formononetin, biochanin A a genistein) byly při kultivaci kultury na MS médiu zaznamenány jen v nepatrných množstvích. Při přidání ostatních růstových regulátorů k MS médiu byla produkce isoflavonoidů téměř nulová s výjimkou média s přídavkem: 1,0 mg/l BAP a 10,0 mg/l BAP za normálního světelného režimu a 0,1 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l kinetinu za neustálého osvětlení, kdy byla zjištěna nepatrná produkce genistinu a daidzeinu (tab. 1).

Při hodnocení produkce kalusové kultury na MS médiu s přídavkem regulátoru α-NAA v různých koncentracích a za různých světelných režimů vysokou produkci daidzeinu vykazovala kultura pěstovaná za přidání α-NAA o koncentraci 1,0 mg/l za normálního světelného režimu (0,02 %) (tab. 1). Vysoká produkce genistinu byla zaznamenána při koncentraci α-NAA 1,0 mg/l při nepřetržitém osvětlení (0,01 %) (tab. 1). Ostatní isoflavonoidy byly při přidání tohoto růstového regulátoru na hranici detekovatelnosti.

Při použití růstového regulátoru 2,4 D v různých koncentracích a za různých světelných režimů byla pozoro-

Farmacie 1-07 8.2.2007 9:18 Str. 25
proLékaře.cz | 27.1.2026

vána vysoká produkce daidzeinu při koncentraci 0,1 mg/l za nepřetržitého osvětlení (0,02 %) (tab. 1). Ostatní isoflavonoidy se nepodařilo stanovit.

Při použití kombinace růstových regulátorů a to 2,4 D s kinetinem byla největší produkce daidzeinu zaznamenána při koncentraci 0,1 mg/l + 1,0 mg/l za nepřetržitého osvětlení (0,04 %) (tab. 1). Vysoká produkce genistinu při 0,1 mg/l + 1,0 mg/l za nepřetržitého osvětlení (0,02 %) (tab. 1) a vysoká produkce genisteinu při 1,0 mg/l + 0,1 mg/l za nepřetržitého zatemnění (0,01 %) (tab. 1).

### *Vliv světelného režimu na růst a produkci kalusové kultury*

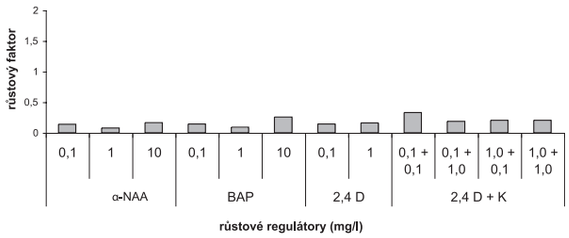
Vedle růstových regulátorů patří světlo k důležitým faktorům ovlivňujícím intenzitu biosyntézy a akumulace sekundárních metabolitů v tkáňové kultuře [19)].

Pokus potvrdil významný vliv světelného režimu na růst a produkci kalusové kultury. Růst kultury za nepřetržitého zatemnění byl výrazně menší než za normálního světelného režimu nebo za nepřetržitého osvětlení (obr. 1, 2, 3). Produkce kultury byla vyšší při nepřetržitém osvětlení za použití těchto růstových regulátorů: 2,4 D a 2,4 D s přídavkem kinetinu, za normálního světelného režimu při použití regulátorů: α-NAA a BAP. Za nepřetržitého zatemnění byla produkce isoflavonoidů v kalusové kultuře minimální (tab. 1). Zde se potvrdilo předchozí zjištění Luczkiewicze, který dosáhl nejlepšího růstu a nejvyšší produkce isoflavonoidů v kalusové kultuře pod nepřetržitým osvětlením [7)].

Z pěti stanovovaných isoflavonoidů byly v kalusové kultuře prokázány čtyři, a to: genistin, genistein, daidzein a formononetin. Dostupná literatura se o případném výskytu formononetinu v *in vitro* kultuře ani v intaktní rostlině nezmiňuje. V intaktní rostlině se podařilo stanovit daidzein, genistein a biochanin A.

Luczkiewicz porovnával ve své studii také jiné flavonoidy obsažené v rostlině a kalusové kultuře než již dříve zmíněných 14 sloučenin, a to: apigenin-7-O-diglykosid, luteolin-7-O-glykosid, luteolin, coumestrol, isoliquiritigenin. Zjistil, že apigenin-7-O-diglykosid, luteolin-7-O-glykosid a luteolin jsou obsaženy pouze v intaktní rostlině *Genista tinctoria*. Naopak liquiritigenin je obsažen pouze v kalusové kultuře a coumestrol, isoliquiritigenin se ani v rostlině ani v kalusové kultuře nevyskytují [7)]. Formononetin neprokázal ani v kalusové kultuře ani v intaktní rostlině. Důvodů pomalého růstu a nízké produkce mohlo být několik.

Jedním z nich mohlo být nevhodně zvolené médium, na kterém kultura očividně odumírá. Některé kalusy byly po čtyřtýdenní kultivaci tmavě hnědé a tvrdé na rozdíl od ostatních světle béžových a měkkých kalusů. Zde se potvrdilo předchozí zjištění Luczkiewicze, že rod *Genista* se jen obtížně kultivuje *in vitro*. Zjistil, že na MS médiu 45 % explantátů vytvořilo krémový až hnědý kalus s omezenou životaschopností, naopak výborných výsledů dosáhl při použití SH média [7)]. Vhodnější by bylo kultivovat kalusovou kulturu právě na SH médiu. Dalším problémem bylo stanovování pouze hlavních isoflavonoidů, s opomenutím jejich derivátů ve formě




*Obr. 3. Růst kalusové kultury Genista tinctoria na MS médiu s přídavkem různých regulátorů o různých koncentracích za nepřetržitého zatemnění*

monoglykosidů, diglykosidů, esterů kyseliny malonové a octové. Jak už bylo zmíněno dříve, Luczkiewicz stanovil v kalusové kultuře 14 isoflavonoidů včetně jejich glykosidů, malonátů a acetátů [7)].

Jedním ze způsobů, jak by se mohla zvýšit produkce isoflavonoidů, je použití suspenzní kultury nebo pěstování kultury v bioreaktoru.

Luczkiewicz ve své práci zaměřené na výhonkové kultury a kultury z odvozené z kořenového vlášení *Genista tinctoria* používá speciálně upravený bublinový bioreaktor. Kultury produkovaly až 38x víc daidzinu než intaktní rostlina [18)]. Kultury odvozené z kořenového vlášení *Genista tinctoria* kultivované v bioreaktoru s bublinovým vzdušněním produkovaly také významné množství isoliquiritigeninu [20)]. Dalším způsobem zvýšení růstu a produkce by mohla být elicitace. Působení stresu na tkáňovou kulturu může výrazně ovlivnit její růst i produkci.

Práce byla vypracována za finanční podpory výzkumného záměru MS M0021620822.

## LITERATURA

1. **Baloun, J., Jahodář, L., Seifertová, I., Štípek S.:** Rostliny způsobující otravy a alergie. Praha, Avicenum, 1989, s. 112.
2. http://faf.vfu.cz/html/index.2html. 6. 4. 2006
3. **Korbelář, J., Endris, Z.:** Naše rostliny v lékařství. Praha, Avicenum, 1985, 216.
4. **Janča, J., Zentrich, J. A.:** Herbář léčivých rostlin 2.díl. Praha, Eminent, 1995, 264.
5. **Sovová, M.:** Vybrané kapitoly z produkce léčivých rostlin. Praha, SPN, 1990, 9.
6. **Hubík, J., Dušek ,J., Spilková, J.:** Obecná farmakognozie II. Praha, SPN, 1989, 31-41, 174-176.
7. **Luczkiewicz, M., Głód, D.:** Plant Sci., 2003; 165, 1101-1108.
8. **Bello, R., Barrachina, M. D., Martínez–Cuesta, M.A., Esplugues, J.:** Phytother. Res., 1995; 9, 495-499.
9. **Ososki, L. A., Kennelly, E. J.:** Phytother. Res., 2003; 17, 845-869.
10. **Jedinak, A., Farao, J., Psenkova, I., Maliar, T.:** Biol., 2004; 59, 697-710.
11. **Spilková, J.:** Čas. čes. lékárníků, 2001; 9, 12-14.
12. **Luczkiewicz, M., Głód, D., Bączek, T., Buciński, A.:** Chromatographia, 2004; 60, 179-185.

Farmacie 1-07 8.2.2007 9:18 Str. 26
proLékaře.cz | 27.1.2026

13. **Garritano, S., Pinto, B., Giachi, I., Posekli, L. et al.:** Phytomedicine, 2005; 12, 143-145.
14. **Radzikowski, C., Wietrzyk, J., Grynkiewicz, G., Opolski, A.:** Prostepy Hig. Med. Dosw. (Online), 2004; 58, 128-139.
15. **Luczkiewicz, M., Głód, D.:** Plant. Sci., 2005; 168, 967-979.
16. **Dušek, J.:** Studium pesticidů jako exogenních faktorů ovlivňujících jakost drog (kandidátská dizertační práce), Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta Hradec Králové, 1993.
17. **Eva de Rijke, Hem, C., Joski, R., Anderson, Freek Areese et al.:** Anal. Chim. Acta, 2002; 468, 3-11.
18. **Luczkiewicz, M., Kokotkiewicz, A.:** Plant Sci., 2005; 169, 862-871.
19. **Kováč, J.:** Explantátové kultury rostlin. Olomouc, Vydavatelství Univerzity Palackého, 1995, 1-18, 79-82.
20. **Luczkiewicz, M., Kokotkiewicz, A.:** J. Biosci., 2005; 60, 867-875.

# NOVÉ KNIHY

**Vývoj biotechnologie a průmyslové chemie**. Editor J. Folta. Praha, Společnost pro dějiny věd a techniky v edici Práce z dějin techniky a přírodních věd, svazek 12, 2006, 144 s. ISSN 1801-0040, ISBN 80-7037-156-0.

Obsah publikace je tematicky rozdělen do dvou částí. První: **Vývoj moderních biotechnologií. Příspěvek českých zemí** rozdělil autor prof. RNDr. Bohumil Sykita, DrSc. do 13 kapitol, které popisují charakteristiku a základní disciplíny v biotechnologii, stručnou historii biotechnologie od počátečních období do roku 1865, přes éru Pasteura, penicilinu, aminokyselin, bílkovin z jednobuněčných mikroorganizmů, kultivace živočišných buněk, technických a imobilizovaných enzymů a buněk, zpracování odpadů na bioplyn, mikrobních polysacharidů a ethanolu do pohonných směsí k novým technologiím monoklonálních protilátek, genovému inženýrství, bioinformatice a k analýze lidského genomu, genové terapii a nanobiotechnologii. Přístroje a zařízení pro biotechnologické postupy jsou názorně zastoupeny fermentory a bioreaktory a zařízeními pro pěstování řas. V další kapitole se autor věnuje výzkumu a výrobě antibiotik v českých zemích od roku 1941 do roku 1990, výzkumu a výrobě aminokyselin, jmenovitě lysinu. Biosyntéza a výroba námelových alkaloidů v letech 1946–1980, resp. podíl českých pracovišť na řešení této problematiky byl mezinárodně uznáván. Kontinuální kultivace mikroorganizmů a buněk je jednou z nejvýznamnějších priorit biotechnologického výzkumu vedoucího k objevu oscilační aktivity, která je vlastní každé buněčné populaci. Popisují se imobilizované biokatalyzátory (enzymy, buňky). Vyvinuté technologie byly zhodnoceny a zavedeny do výroby některých produktů, např. 6-amonopenicilánové kyseliny. V dalších kapitolách této části se popisuje činnost malých biotechnologických podniků v České republice v letech 1970–1990. Jedná se o likvidaci zemědělských odpadů, výrobu bakteriálních hnojiv, mléčných kultur a probiotik, přípravu feromonů, využití explanátorových kultur a výrobu biologických insekticidů. Farmaceutický průmysl, zemědělství i potravinářství je i v oblasti biotechnologií ovlivněn po roce 1990 současnou tržní ekonomikou. V závěru první části publikace autor analyzuje i politické a ekonomické problémy, na jejichž pozadí se u nás historie biotechnologií odvíjela. V přílohách autor zveřejňuje informace o ideologizaci vědy v oblasti biotechnologií. Jako poslední je kapitola o významu a úloze českých sbírek mikroorganizmů a jejich historii. Součástí monografie o moderním vývoji biotechnologií je seznam 44 literárních citací použitých v textu.

Druhou část publikace **Trendy průmyslové chemie od konce 19. století ve světě a v českých zemích** autorka RNDr. Ivana Lorencová rozdělila do 16 kapitol, ve kterých chronologicky popisuje vývoj a situaci v chemickém průmyslu ve světě a v přímé návaznosti i v českých zemích od poloviny 19. do konce sedmdesátých let 20. století. Kapitoly postupně popisují situaci v chemickém průmyslu do první světové války ve světě, převážně v Německu, v Anglii, ve Francii, ve Švýcarsku a u nás. Najdeme zde i chemické výroby a výrobce léčiv, zahraniční i domácí. V období světových válek autorka poukazuje na militarizaci průmyslové chemie, mezi nimi na její stagnaci v období světové hospodářské krize. V Čechách měl chemický výzkum perspektivní trend bez většího ohledu na válečný stav ve světě. Kapitoly věnované chemickému výzkumu a výrobě od konce 2. světové války do roku 1973 ve světě i u nás poskytují množství informací o situaci v poválečném období ve vzájemné konfrontaci. V posledních kapitolách se čtenář seznámí s produkty chemického průmyslu na konci 20. století.

Tato část publikace je doplněna 58 citacemi, které tvoří monografie, sborníky, periodika a internetové odkazy. Jednotlivé kapitoly jsou napsány přehledně, s možností konfrontovat vždy situaci nejen mezi jednotlivými zeměmi v zahraničí, ale i s vývojem v našich zemích. Oceňuji, že v každé kapitole je vždy v rámci trendů v průmyslové chemii uveden i příspěvek farmaceutického chemického výzkumu a výroby.

V úvodu autorka vysvětluje svůj záměr zmapovat za použití pramenného materiálu trendy v rozvoji průmyslové chemie s ohledem na vývoj chemie ve 20. století a zasadit je do takových souvislostí, které by mohly být východiskem pro další práci v této oblasti. Příspěvek se snaží podat svědectví o úrovni chemické vědy a techniky, o souvislostech výrob s politickými a ekonomickými podmínkami a případně zachytit podíl významných jedinců, ale i velkých firem v tomto procesu. Jako mezníky zvolila obě světové války a ropnou krizi v 70. letech, které považuje do jisté míry za významné body ve vývoji technologie. Čtenáři jistě usoudí, že tento záměr se autorce dobře vydařil.

Nová publikace v edici Práce z dějin techniky a přírodních věd vhodně doplňuje předešlé tituly a podává čtenářům ucelený obraz o vývoji výzkumu a výroby v oblasti přírodních věd, týkajícího se biotechnologie a oblasti průmyslové chemie. Jsme rádi, že můžeme informaci spolu s recenzí této publikace zveřejnit v časopise Česká a slovenská farmacie, neboť čtenář zde najde mnoho informací z oblasti farmacie. Navíc je text obou částí psán poutavým způsobem a srozumitelně, což umožní jeho četbu, nebo studium nejen zájemcům z řad odborné veřejnosti, případně studentům, ale i všem, kteří se o historii biotechnologie a chemických výrob zajímají.

*P. Komárek*