

74.768/ZSO

KIVONAT

Aloe-fajok mikroszaporítása

A találmány tárgyát aloe fajok mikroszaporítására alkalmas eljárás képezi. Az eljárás szerint az aloe növények nagy mennyiségbe, megbízhatóan szaporíthatók a találmány szerint kikísérletezett táptalajok alkalmazásával. Az ismertett eljárás az aloe fajok üzemi szintű szaporítását is lehetővé teszi, amelyre eddig megbízható megoldás nem létezett. A módszer további előnye, hogy a nagyszámú szaporulat elérése mellett a növény kifogástalan morfológiai stádiumba kerül a gyökereztetés befejeztével.



74.768/ZSO

Aloe-fajok mikroszaporítása

A jelen találmány tárgyát aloe-fajok mikroszaporítása képezi.

Az aloe felhasználására irányuló kereslet világszerte erőteljesen növekszik, hiszen a növény minden része hasznosítható, feldolgozható. A gyógyszeripar által felhasznált fontos fajták az aloe ferox, aloe africana, aloe succotrina, aloe plicatilis, melyek felhasználási területe a sebgyógyítás, gyulladáscsökkentés, immunrendszer-erősítés, emésztőrendszeri betegségek kezelése területén jelentős. A kozmetikai ipar által hasznosított fajta az: aloe vera, azaz aloe barbadensis, amelyet elsősorban a bőrápolás, bőrregenerálás területén alkalmaznak, mint az arckrémek, pakolások, lemosók, testápolószerek alapanyagát. A vegyipar a festékgyártásnál, mint színezőanyagot, konzerválóanyagot hasznosítja, de bizonyos rovarölő szereknek is fontos alkotórésze. Az élelmiszeripar által felhasznált fajták: (aloe vera vagy aloe barbadensis) egészségmegőrző programokban táplálék-kiegészítőként ismertek.

Hagyományos eljárással a szaporítás korlátozott és nem gazdaságos. A magvetéshez a magbeszerzés jelenti a legfőbb gondot, továbbá rovarporozta növényenél a beporzás bizonytalan. A virágok ritkán és kevés magot hoznak. A nyári magvetés csak a következő év tavaszán kel ki. A növekedés üteme a legtöbb fajnál igen alacsony (több év alatt csak 8-10 cm magas). A kapott állomány heterogén. Dugványozással, töosztással egy anyatőről csak meghatározott mennyiségű utód szaporítható. A szaporítás évente csak egyszer, a nyári hónapokban végezhető. Nagy töszámú telepítéshez nagy anyató állomány fenntartása szükséges. A kapott állomány heterogén. További problémát jelenthet a minőség ingadozása, mivel a természetes úton szaporított növények esetén nem nyerhető ki állandóan jó tulajdonságokkal rendelkező alapanyag.

Ellenben a mikroszaporítással az anyatelepek megszüntethetők, és néhány m² laboratóriumi felülettel kiválthatók. A kapott szaporítóanyag homogén és tetszés szerint programozható.

Az aloe-ról szóló szakirodalom mind nemzetközi, mind hazai szinten meglehetősen hiányos (pl. a szukkulensek mikroszaporításának nincs szakirodalma). A 133 344 sz. dél-koreai szabadalom aloe vera előállítására alkalmas eljárást ismertet. Ezzel az eljárással ugyan ténylegesen jobb eredmények érhetők el, mint az addig alkalmazott hagyományos szaporítási eljárásokkal, ugyanakkor alkalmazása körülményes, és az anyagi ráfordítás is jelentős.

Ennek megfelelően, igény mutatkozik olyan eljárás kidolgozására, amellyel az aloe fajok nagy mennyiségben, könnyen, gyorsan és olcsón előállíthatók, és amely eljárás a szakirodalomból ismert eddigi módszerek hátrányait kiküszöböli.

A jelen találmány tárgyát ennek megfelelően egy olyan, aloe előállítási eljárás képezi, amellyel a jelzett növények mikroszaporítási-gyökereztetési feladatai sikeresen megoldhatók. Mint azt korábban említettük, a természetes szaporítási eljárással a minőség-ingadozás nem küszöbölhető ki, míg a jelen találmány szerinti megoldással a magas hatóanyag-tartalmú egyedek szelekciójával állandó, kiváló minőségű állomány hozható létre.

Az eljárás során a kísérletre kiválasztott fajokból kezdésként azok fejlettségétől függően néhány anyató kerül előkészítésre. Így feltehetően jelentősebb mennyiségű kiindulási (in vitro) anyaggal fogunk rendelkezni az inkubációs idő letelte után is, a sterilizációs veszteség mellett.

Ezt követően a hajtáscsúcsot, az 1-2 cm-es levelet, levélrészét több fokozatban fertőtlenítyük, majd az explantátumokat termosztátba tesszük (24-25 °C). Kalluszosodás után, mikor az első rügyecskék megjelennek, fokozatosan fényre helyezzük. Az általánosan elfogadott fényerősség csak a rügyek megjelenéséig alkalmazható. A levelek 5 mm-es nagyságot elérve erős fény hatására elszíneződnek, megbarnulnak, ezért ebben a stádiumban a fényerőt 2/3-ra kell csökkenteni, majd 2-3 hét elteltével fokozatosan kell növelni. Az első növényregeneráció után a szaporítás 8-10 hetes passzálási időnként elérhető.

Ezt követi maga a szaporítási folyamat, amely történhet egy vagy kétfázisú módszer alkalmazásával, átmeneti szakasz beiktatásával.

Kétfázisú szaporításnál a sokszorozó táptalaj két részből áll: egy agar-agarral szilárdított médiumból és egy folyékony, agarmentes táptalajból. Az átmeneti szakaszra a 2-3 cm-es hajtások leválasztása után megmaradt rügyekkel, esetleg 5-10 mm-es kis hajtásokkal elborított



kemény kalluszszerű szövetdarabkák kerülnek. Ha a nagy hajtások leválasztása után a kallusz túl nagy (1cm^3 körüli méret), akkor 2-3-4 felé vághatjuk úgy, hogy a kis rügyek, hajtások ne sérüljenek. A darabkák táptalajra helyezésekor a szilárd táptalajra annyi folyékony táptalajt öntünk, hogy a szilárd felületet 1-2 mm vastagságban befedje, és a kallusz darabkákat vágás-felülettel lefelé a táptalajba ültetjük.

Az átmeneti fázisban kihajtó hajtások száma lényegesen nagyobb, mint az egyfázisú sokszorozás esetében, ugyanis a hormon hatására differenciálódott nagyszámú rügy az átmeneti szakaszban teljes növénné regenerálódik.

Az átmeneti szakaszban - erre alkalmas termesztőedényekkel (pl. veg - box konténer) - a hajtásleválasztást többször is elvégezzük anélkül, hogy a tenyészeteket megszüntetnénk, vagy friss táptalajra helyeznénk (élő munka -, és anyagtakarékos megoldás). A fejlődéshez szükséges tápanyagszintet folyékony táptalaj utántöltésével biztosítjuk. 2-3 leszedés után a kultúrában lévő alvórügyek kimerülnek, így ezek tenyésztését befejezzük.

Kellő növényszám elérése után megindul a gyökereztetés. A gyökereztetési idő 4-5 hét. A gyökereztetési folyamat során 2-4 cm nagyságú, egészséges, ép levélzetű, 0,5-3 cm hosszú erőteljes gyökérrzel rendelkező növények képződnek

A teljes előállítási folyamatnál igen lényeges és meghatározó az alkalmazni kívánt táptalaj megfelelő kiválasztása. Ez azt jelenti, hogy a tenyészetek növekedési-fejlődési szakaszainak különböző periódusaiban más és más összetételű táptalajt kell használni ahhoz, hogy a megfelelő minőséget és az adott célt. (így pl.: intenzív szaporodás, funkcionális gyökeresedés) elérhessük. Az eddigi munkánk során szerzett tapasztalatok az alkalmazott táptalajreceptek (összetétel-megválasztások) terén azt mutatják, hogy az általunk kikísérletezett alábbi táptalaj-összetételekkel megoldható az aloe fajok laboratóriumi előállítása (1. sz. táblázat).



1. sz. táblázat

TÁPTALAJOK ÖSSZETÉTELE

1l táptalaj / mg alkotórész

	Vegyszerek mg/l	A	B	C	D	E	F	G	H	I		10	20	30	40	FO
M M	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	370	370	370	370	370	370	370	370		185	185	185	370	370
S A	Ca Cl ₂ ·2H ₂ O	440	440	440	440	440	440	440	440	440		220	220	220	440	440
C	NH ₄ NO ₃	1650	1650	1650	1650	1650	1650	1650	1650	1650		825	825	825	1650	1650
R	KH ₂ PO ₄	170	170	170	170	170	170	170	170	170		85	85	85	170	170
O	KNO ₃	1900	1900	1900	1900	1900	1900	1900	1900	1900		950	950	950	1900	1900
M M	MnSO ₄ ·H ₂ O	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9	16,9		16,9	16,9	16,9	16,9	16,9
S I	KJ	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83		0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
C	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025		0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
R	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6		8,6	8,6	8,6	8,6	8,6
O	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025		0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
	H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2		6,2	6,2	6,2	6,2	6,2
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O		170	85		170		85	340	85						
	FeNa EDTA	40	40	30	30	40	40	40	30	25		30	25	25	20	30
	INOZIT	100	100	100	100	100	100	100	100	100		100	100	100	100	100
	ADENIN SZULFÁT		80			80										
	GLICIN (GLIKOKOLL)	2	2			2	2								2	
	B ₁ TIAMIN.HCL	40	0,4	0,4	1	0,4	40	1	0,4	0,4		3	0,4	0,4	15	1
	B ₆ PIRIDOXIN.HCL	1	0,5			0,5	1	1							0,5	
	NIKOTINSÁV	0,5	0,5			0,5	0,5	0,5							0,5	
	BIOTIN														0,12	
	KINETIN							4								
	BA N ⁶ BENZYLADENINE	0,5-1	4	0,5-2	5	4	1									
	2ip[N ⁶ -2-ISOPENTENIL]- -ADENIN								20	10						
	IAA (INDOL ECETSAV)		0,1			0,1		0,5					1	1		
	IBA (INDOL VAJSAV)											1				
	WUXAL (foly.lombtrágya)											2ml	2ml	2ml	2ml	
	PEPTON														500	
	CUKOR	30000	30000	30000	40000	30000	30000	30000	30000	30000		30000	30000	30000	30000	40000
	AGAR-AGAR	8000	8000	8000	8000			8000	8000	8000		8000	8000	8000	8000	
	CASEIN	40														
	AKTÍV SZÉN													1000		
	PH	5,7	5,7	5,5- 5,7	5,7	5,5	5,7	5,7	5,5-5,7	5,7		5,7	5,7	5,7	5,7	5,7

Jelmagyarázat:

Sokszorozó táptalajok: A B C D E F G H K

Gyökereztető táptalajok: 10, 20, 30, 40

Folyékony: FO

Úgy találtuk, hogy az aloe fajok szaporítására általánosan alkalmazható az alábbi táptalaj-összetétel:

Összetevő	menyiség (mg/l)
NH_4NO_3	1000
KNO_3	1000
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	360
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	400
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	260
H_3BO_3	4,5
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,5
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	7,5
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,037
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,37
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,037
$\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	165
Fe EDTA	37
L-Tirozin	50
Adenin-szulfát	80
Inozit	100
B_1 -Thiamin HCl	15
B_6 -Piridoxin HCl	1
Nikotinsav	10
Kinetin	5-10
IAA	0,5
Thidiazuron	0,05
Cukor	40 (g/l)
Agar-agar	6 (g/l)

IAA: indol-ecetsav

A fenti összetételű táptalaj pH-ja=5,7.

Szakirodalomban elfogadott a receptet rövidítve közölni, ennek megfelelően a fenti táptalajt az alábbiak szerint adhatjuk meg:

Módosított Murashige & Skoog alap táptalaj és vitaminok; kiegészítés: 80 mg/l adenin-szulfát, 5-10 mg/l kinetin, 0,5 mg/l IAA, 0,05 mg/l thidiazuron és 6 g/l agar-agar.

Mint azt a fentiekben említettük, a megadott táptalajon a különböző aloe-variánsok jól szaporíthatók, de fajtára szabott, az általánostól eltérő médiumon az általánosnál jobb eredmények érhetők el.

Az eljárás kivitelezése során figyelembe kell venni, hogy bizonyos szaporítási és gyökereztetési folyamatok egymással időszakonként átfedik egymást. Így a munka során lehetőség adódik a korrekcióra, a folyamatos szelekcióra amelyet minden munkafázisban alkalmazhatunk. A regenerálódott egyedeket minden alkalommal válogatjuk: a szaporítási fázisba csak a szabályosan fejlett szép növényeket vonjuk be; a még fejletlen rügyeket átmeneti médiumon tovább növeljük a technológia biztonságának növelésére valamint a még jobb gazdasági eredmény biztosítására.

Fontos kiemelnünk, hogy a jelen találmányban ismertetett eljárás az aloe fajok üzemi szintű szaporítását is lehetővé teszi, amelyre eddig nem volt példa. A módszer további előnye, hogy a nagyszámú szaporulat elérése mellett a növény kifogástalan morfológiai stádiumba kerül a gyökereztetés befejeztével.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás aloe fajok mikroszaporítására, azzal jellemezve, hogy szaporítóközegként az 1. táblázatban szereplő összetételű táptalajokat vagy azok kombinációit alkalmazzuk.
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy táptalajként az alábbi összetételűt alkalmazzuk:

Összetevő	menyiség (mg/l)
NH_4NO_3	1000
KNO_3	1000
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	360
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	400
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	260
H_3BO_3	4,5
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,5
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	7,5
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,037
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,37
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,037
$\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	165
Fe EDTA	37
L-Tirozin	50
Adenin-szulfát	80
Inozit	100
B_1 -Thiamin HCl	15
B_6 -Piridoxin HCl	1
Nikotinsav	10
Kinetin	5-10
IAA	0,5
Thidiazuron	0,05
Cukor	40 (g/l)
Agar-agar	6 (g/l)

1. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a növények növekedési-fejlődési szakaszainak különböző periódusaiban más és más összetételű táptalajt alkalmazunk.

A meghatalmazott



Szentpéteri Zsolt
szabadalmi ügyvivő

S.P.G. & K. Szabadalmi Ügyvivői Iroda
tagja

1062 Budapest, Andrássy út 113.
Tel: 461-1000 Fax: 461-1099