



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2013 00226**

(22) Data de depozit: **13/03/2013**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/06/2021** BOPI nr. **6/2021**

(41) Data publicării cererii:
28/02/2014 BOPI nr. **2/2014**

(73) Titular:
• **TONY INVENT SRL,**
STR. VASILE ALECSANDRI NR. 1, AP. 6,
ORADEA, BH, RO

(72) Inventatori:
• **BLIDAR CRISTIAN - FELIX, BD. DACIA**
NR. 10, BL. A5, AP. 32, ORADEA, BH, RO

(74) Mandatar:
INTELECT S.R.L., BD.DACIA NR.48,
BL.D10, AP.3, OP 9-CP 128, ORADEA,
JUDEȚUL BIHOR

(56) Documente din stadiul tehnicii:
BLIDAR ȘI AL., "USING THE FILTER
PAPER BRIDGE TECHNIQUE FOR THE
INITIATION OF VITROCULTURES OF
MAIZE", ANALELE UNIVERSITĂȚII DIN
ORADEA, FASCICULA BIOLOGIE, VOL. 19,
ISSUE 1, PP. 17-22, 2012; "EVOLUȚIA
PROTOCORMILOR DE CYMBIDIUM
HYBRIDUM CULTIVAȚI IN VITRO PE MEDII
LICHIDE, PE PUNȚI DIN HÂRTIE DE
FILTRU, ÎN FUNCȚIE DE SEZONUL DE
INOCULARE", LUCRĂRILE CELUI DE AL
XII-LEA SIMPOZION NAȚIONAL DE
CULTURI DE ȚESUTURI ȘI CELULE
VEGETALE, "FIZIOPATOLOGIA CELULEI
VEGETALE ÎN REGIM DE
VITROCULTURA", PP. 213-227

(54) **PUNTE DIN HÂRTIE DE FILTRU PENTRU VITROCULTURI**
VEGETALE, MICOLOGICE ȘI ALGALE



RO 129231 B1

1 Invenția se referă la o punte din hârtie de filtru pentru susținerea vitroculturilor
vegetale, micologice și algale, utilizată ca metodă alternativă la folosirea mediilor de cultură
3 agarizate, cu scopul scăderii costurilor de cercetare și producție a vitroculturilor și pentru
proliferarea vitroculturilor într-un ritm mai ridicat, având aplicații în domeniul biotehnologiei
5 vegetale.

Pentru menținerea la suprafața mediilor lichide a inoculilor, evitând în acest fel starea
7 de hipoxie a vitroculturilor vegetale, au început să fie utilizate cu precădere cartușe/punți de
hârtie de filtru (Gautheret, 1959; White, 1963), sau suporturi din poliuretan (Deliu și colab.,
9 1981), ori suporturi de tip lignoskeleton confecționat din burete vegetal (Cachiță și colab.,
1995).

11 Sunt cunoscute, pentru susținerea culturilor de țesuturi vegetale în mediu lichid,
utilizând ca suport hârtie de filtru, două metode mai importante și practice: metoda Heller și
13 metoda White.

Conform metodei Heller, peste un tub de sticlă vertical se pune o rondelă de hârtie
15 de filtru și peste acesta se pune un tub cu marginea ca un gulerăș cu un diametru ușor
superior celui dintr-un tub de sticlă; se coboară tubul superior, imprimându-i-se o ușoară
17 mișcare rotațională ce îndoaie în jos marginile rondelii; se retrage apoi tubul, antrenând în
el vârful de hârtie de filtru; se aplică deschizătura tubului extern peste o sticlă de cultură și
19 cu ajutorul unui tub se împinge și se coboară suportul de hârtie de filtru până la câteva
centimetri peste suprafața liberă a lichidului; se retrage tubul folosit pentru împingerea
21 suportului, și apoi se obturează cu folie de polietilenă sterilizată în prealabil; în momentul
repicării, se pune un explant pe fața plană a suportului și aceasta se scufundă în soluție în
23 așa manieră încât suprafața lui să fie cu 1...2 mm sub cea a lichidului - această operațiune
se realizează la toate tuburile, apoi se sterilizează la autoclav.

Conform metodei White, în tubul de cultură se introduce o foaie de hârtie de filtru
25 pliată ca un acordeon peste care sunt depuse unul sau mai multe explante; soluția nutritivă
se găsește la fundul tubului și hârtia se impregnează prin capilaritate; tuburile nu trebuie
27 puse vertical, ci plasate pe un suport care le menține în poziție oblică; este necesar ca hârtia
de filtru să fie manipulată cu precauție, pentru a evita căderea coloniei în soluție.

Aceste metode prezintă următoarele dezavantaje:

31 - la metoda Heller: lipsa contactului dintre circumferința rondelii din hârtie și fundul
tubului de sticlă, conduce la imersarea vitroplantulelor atunci când greutatea acestora apasă
33 suficient de puternic pe suprafața punții din hârtie de filtru, provocând instalarea stării de
hipoxie, respectiv posibilitatea inducerii necrozei;

35 - la metoda Heller: aplicarea metodei necesită numeroase proceduri manuale, ceea
ce determină durata extensivă;

37 - la metoda Heller: rădăcina plantulei nu poate trece pe lângă rondela de hârtie, fiind
imposibil între în contact direct cu mediul fluid, ceea ce determină creșterea numărului de
39 subcultivări într-o perioadă de timp determinată;

41 - la metoda Heller: inoculul poate să rămână suspendat, fără a mai intra în contact
cu mediul fluid, din cauza consumării mediului de cultură până când hârtia de filtru nu mai
intră în contact direct cu mediul de cultură;

43 - metoda White: necesită utilizarea unui spațiu extins pe rafturile iluminate din
camerele de vegetație, la un număr redus de recipiente cu vitroculturi;

45 - metoda White: impune utilizarea unor suporturi de susținere pentru
eprubetele/tuburile cu vitroculturi, fiind inefficientă sub aspect economic din cauza costului
47 ridicat;

RO 129231 B1

- metoda White: distanța de la mediu până la inoculul cel mai îndepărtat de mediul de cultură poate provoca adsorbția unor componente din mediul de cultură, acesta ajungând la inocul în mod selectat;	1
- metoda White: suportul acordeonului este un corp opac care umbrește inoculul;	3
- metoda White: nutrirea și hidratarea sunt neuniforme, deoarece inoculul aflat mai aproape de mediul de cultură beneficiază de tot aportul de elemente nutritive din compoziția mediului de cultură comparativ cu inoculul aflat mai departe de mediu, la care nutrirea poate fi incompletă;	5
- metoda White: substanțele eliminate de către un inocul pot interacționa cu anumiți nutrienți organici sau minerali din puntea de hârtie de filtru, ceea ce poate provoca blocarea nedorită a nutrienților, provocând un deficit de nutriție ori chiar intoxicarea inoculilor mai îndepărtați de mediul de cultură;	7
- metoda White: nu există uniformitate de reactivitate a culturilor <i>in vitro</i> - astfel încât metoda nu se pretează la studii de cercetare.	9
Avantajul invenției îl constituie facilitarea germinării în cazul vitroculturilor vegetale și a celor micologice, precum și creșterea mai rapidă a vitroculturilor vegetale, micologice ori algale pentru scurtarea timpului de menținere <i>in vitro</i> a acestora, în vederea optimizării eficienței economice a vitroculturilor.	11
Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în fabricarea unei punți de hârtie de filtru pentru susținerea vitroculturilor vegetale, micologice și algale care să nu permită imersarea inoculilor sub propria greutate, în condițiile reducerii spațiului ocupat din camerele de vegetație, cu o economie proporțională de energie; utilizarea unei punți din hârtie de filtru trebuie să reducă la maximum numărul procedurilor manuale necesare, să faciliteze contactul direct al zonei absorbante a fitoinoculului și/sau vitroculturilor cu suprafața punții, să asigure uniformitatea nutriției și hidratării culturilor <i>in vitro</i> și să uniformizeze reactivitatea acestora, sporind acuratețea cercetărilor.	13
Invenția înlătură dezavantajele soluțiilor cunoscute, prin aceea că, o punte pentru susținerea vitroculturilor vegetale, micologice și algale este confecționată din hârtie de filtru, având forma unei prisme drepte cu înălțimea și forma bazei adaptate unui recipient de cultură, astfel încât după introducerea prisme într-un recipient de cultură, toate fețele laterale ale prisme drepte se vor afla în imediata vecinătate a pereților interiori ai recipientului de cultură, iar baza superioară a prisme formează o platformă poligonală paralelă cu suprafața unui mediu de cultură lichid, platforma fiind situată la o înălțime de aproximativ 2...3 mm față de nivelul inițial al mediului de cultură din recipientul de cultură.	15
Exemple de realizare și aplicare a invenției:	17
Exemplul 1	19
O punte 1 de susținere pentru un inocul vegetal este confecționată din hârtie de filtru, formând o prismă regulată; puntea 1 se introduce într-un recipient de cultură 2 astfel încât fețele laterale ale prisme care formează puntea 1 se vor afla în imediata vecinătate a pereților interiori ai recipientului; în recipientul de cultură 2 se introduce o cantitate de mediu nutritiv lichid 3 care trebuie să formeze o coloană de lichid cu înălțimea inițială suficientă pentru a hrăni în bune condiții un inocul vegetal 4 și ulterior vitrocultura vegetală pornită de la nivelul acestuia, pe întreaga perioadă experimentală; baza superioară a prisme formează o platformă paralelă cu suprafața mediului de cultură lichid, și situată la o înălțime de 2...3 mm față de nivelul acestuia.	21
	23
	25
	27
	29
	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45

RO 129231 B1

1 Exemplul 2

3 La o punte de susținere construită în conformitate cu exemplul 1, platforma poligonală
care formează baza superioară a prisme, prezintă - în zona centrului său de greutate - un
orificiu în care se introduce un minibutaș.

5 În consecință, invenția este aplicabilă la nivel industrial și contribuie în mod semni-
ficativ la dezvoltarea practică a bioeconomiei, la scăderea gradului de poluare și a efectelor
7 nefaste pe care aceasta le aduce asupra biosferei, fiind cunoscut că o mare parte din
energia electrică utilizată azi, provine din centrale electrice care utilizează combustibili fosili.

9 Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

- 11 - evitarea imersării inoculilor și a vitroculturilor sub propria greutate;
- 13 - reducerea spațiului din camerele de vegetație comparativ cu soluțiile de tip punte
din hârtie de filtru existente până în prezent;
- 15 - aclimatizarea mai facilă a vitroplantulelor la mediul septic de viață;
- 17 - germinare mai rapidă și creștere mai rapidă a vitroculturilor comparativ cu mediile
de cultură clasice (agarizate);
- 19 - reducerea perioadei de timp până la care vitroplantele ajung la dimensiune optimă
pentru subcultivare ori pentru aclimatizare;
- 21 - posibilitatea inițierii de vitroculturi calusale, călușul format fiind într-o cantitate mai
mare față de mediul de cultură clasic, de tip agarizat, călușul fiind predominant de tip friabil;
- 23 - păstrarea pe o perioadă de timp mai îndelungată a viabilității culturilor, procesele
de senescență și chiar necroză instalându-se mult mai târziu decât în cazul mediilor de
cultură agarizate;
- 25 - asigurarea unei nutriții mai eficiente a vitroculturilor, comparativ cu cea înregistrată
în cazul mediilor de cultură de tip hidrogel;
- 27 - prețul de cost mai redus al substratului de cultură, în raport cu mediile agarizate;
după scoaterea rădăcinilor din substratul nutritiv, îndepărtarea hârtiei se realizează mult mai
ușor, evitând considerabil leziunile de la nivel radicular, care sunt inerente în cazul mediilor
c cultură clasice, de tip agarizat;
- 29 - rădăcinile vitroplantulelor pot fi plasate în substratul de aclimatizare la mediul septic
de viață, împreună cu hârtia de filtru, care nu influențează în mod negativ evoluția culturii;
- 31 - invenția poate fi aplicată - în funcție de scopul urmărit - în diferite tipuri de vitroculturi
utilizând variate tipuri de fitoinoculi, precum și pentru anumite specii de culturi algale care
33 suportă contactul direct cu aerul, sau chiar culturi micologice;
- 35 - scade consumul de energie electrică, rezultând scăderea gradului de poluare și a
efectelor nocive pe care poluarea le provoacă asupra biosferei;
- simplitatea constructivă determină o fiabilitate sporită.

Revendicări

1

3

1. Punte din hârtie de filtru pentru vitroculturi vegetale, micologice și algale, **caracterizată prin aceea că**, are forma unei prisme drepte, cu înălțimea și forma bazei adaptate unui recipient de cultură, astfel încât după introducerea prisme în recipientul de cultură, toate fețele laterale ale prisme drepte se vor afla în imediata vecinătate a pereților interiori ai recipientului de cultură, iar baza superioară a prisme formează o platformă poligonală având cel puțin 5 laturi, paralelă cu suprafața unui mediu de cultură lichid, platforma fiind situată la o înălțime de aproximativ 2...3 mm față de nivelul inițial al mediului de cultură din recipientul de cultură care formează o coloană de lichid cu înălțimea inițială suficientă pentru a hrăni în bune condiții un inocul vegetal și ulterior vitrocultura vegetală pornită de la nivelul acestuia, pe întreaga perioadă experimentală.

5

7

9

11

13

2. Punte din hârtie de filtru conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că**, platforma poligonală care formează baza superioară a prisme, prezintă în zona centrului său de greutate un orificiu în care se introduce un minibutaș ca inocul.

15

