



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 00924

(22) Data de depozit: 20.09.2011

(41) Data publicării cererii:
30.05.2014 BOPI nr. 5/2014

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA DE VEST
"VASILE GOLDIȘ" DIN ARAD,
BD. REVOLUȚIEI NR. 94-96, ARAD, AR, RO

(72) Inventatori:
• ARDELEAN MIRELA, NR.42A, TĂGĂDĂU,
COMUNA BELIU, AR, RO;
• CACHIȚĂ-COSMA DORINA,
ALEEA SNAGOV NR. 2, SC. 4, AP. 74,
ET. 3, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• STANA IULIAN OCTAVIAN,
STR. HECTOR NR. 32, ARAD, AR, RO

(54) ILUMINAREA VITROCULTURILOR VEGETALE CU
MATERIALE FOSFORESCENTE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o incintă utilizată pentru iluminarea unor vitroculturi care necesită o creștere lentă. Incinta conform invenției are forma de paralelipiped dreptunghic format din niște plăci sau panouri realizate din materiale fosforescente, având o lungime de 0,4 m, o lățime de 0,2 m și o înălțime de 0,3 m, în placa de bază fiind amplasate sferule din material plastic, transparent și incolor, având încorporate particule fosforescente,

printre recipiente cu fitoinoculi, incinta fiind expusă la lumină naturală timp de 14 h, după care materialele fosforescente emit fitoinoculilor lumină timp de 8...12 h la întuneric.

Revendicări: 1
Figuri: 4



Iluminarea vitroculturilor vegetale cu materiale fosforescente

Rezumat

Vitroculturile vegetale, sau cele algale, sunt practicate pe medii aseptice, ce pot fi stocate în „băncile de gene”, în regim de „creștere încetinită” (creștere lentă), ceea ce presupune – în primul rând – o reducere a intensității luminoase, o scădere a temperaturii ambientale și o rărire a intervalului de subcultură, în consecință, scad costurile operaționale și reduce riscurile de infectare a vitroculturilor cu germeni. Pentru a înlătura dependența „băncilor de gene vegetale” de consum de energie electrică pentru alimentarea instalațiilor de iluminare a culturilor cu tuburi fluorescente, invenția noastră înlocuiește sistemele de iluminare alimentate cu curent electric, prin utilizarea unor plăci de dimensiuni variate sau/și formațiuni sub formă de sferule constituite din materiale fosforescente ce sunt încărcate la lumină naturală (dar nu direct la soare). Plăcile, după încărcare, la întuneric, emit un număr de cca. 8 ore lumină fosforescentă, care poate fi utilizată pentru menținerea vitroculturilor dependente de lumină la un regim lent de creștere, cutiile cu fitoinoculi și cu plăci sau cu sferule fosforescente putând fi amplasate și în frigider, ele nemodificând temperatura și nefiind necesară alimentarea lor cu curent electric, ci doar expunerea acestora la lumina zilei timp de câteva ore.

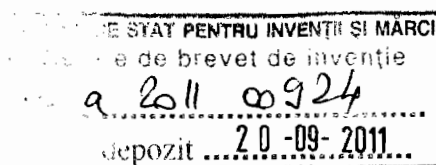
Vitroculturile vegetale servesc multor scopuri biotehnologice, cum ar fi în industria de micropropagare a plantelor libere de viroze, sau în clonarea genotipurilor vegetale nou create prin tehnicile de ameliorare convenționale sau nonconvenționale, ori a celor rezultate din procedurile de inginerie genetică – valorificate în producția agricolă sau ca modele experimentale în cercetările efectuate pe plante – dar și a culturilor de celule, ori de calus utilizate ca agenți biologici în obținerea industrială de produși secundari de metabolism, de interes pentru prepararea de compuși fitofarmaceutici etc.

Toate procedurile menționate, utilizate în biotehnologia vegetală modernă, sunt „tributare” menținerii pe cât mai lungă durată a calităților genotipurilor ce dețin variate capacități performante, fapt care poate fi realizat doar printr-o conservare corectă a plantelor, acele calități în „băncile de gene” sau în „băncile de germoplasmă”, folosind materialul vegetal stocat în astfel de unități ca și „cap de clone” în realizarea – atunci când se dorește – readucerii eşantioanelor vegetale la un regim de viață activă, reluându-se regimul de multiplicare a celulelor, embrionilor, lăstarilor, după dorință, cu regenerarea de plante și utilizarea lor în condițiile normale, naturale, de creștere.

Modul în care pot fi conservați fitoinoculii, respectiv vitroplantulele, lăstarii, embrionii, celulele sau protoplaștii, în laboratoare sau în „băncile de gene”, variază în funcție de scopul urmărit, tipul de vitrocultură utilizat, resursele de care se dispune în unitățile axate pe folosirea unor astfel de surse biologice, durata de timp pe care o avem la dispoziție pentru a „revigora” eşantioanele vegetale, până la valorificarea acestora etc.

Există variate modalități de stocare a materialului vegetal în „băncile de gene”, sau în unitățile care au în profilul laboratoarelor lor, sau a industriilor axate pe un astfel de obiect de activitate, cerința de a menține – la nivel de totipotență – eşantioane biologice de natură variată (țesuturi și organe vegetale, polen, celule etc.). În astfel de cazuri, principiul de bază care trebuie respectat este acela al conservării calităților biologice ale materialelor conservate, de o așa manieră încât probele care au fost stocate în „banca de gene”, sau în camere frigorifice, să poată fi readuse la totipotența lor caracteristică și să poată să servească operatorilor în realizarea scopurilor avute în vedere înainte de stocarea acestora.

Dacă într-o serie de „bănci de gene” axate pe stocarea de organe, țesuturi sau de celule vegetale, animale sau umane (cum este și cazul „băncilor de spermă” ori de embrioni), tehnica ideală de conservare constă în plonjarea probelor și submersarea acestora în azot lichid (-196°C) și în menținerea lor în acest regim timp îndelungat (teoretic pe durată nelimitată), la plante existând și proceduri care se referă la conservarea vitroculturilor vegetale în regim de „creștere lentă”, la temperaturi de +27°C până la +4°C, metode care presupun fie inhibarea creșterii fitoinoculilor prin



introducerea în substratul lor de cultură a unor inhibitori de creștere, cum este alarul (abreviat B9), fie prin mărirea presiunii osmotice a mediului lor de cultură (prin adăugarea în acesta de concentrații sporite de zaharoză, ori de sorbitol sau de manitol), ceea ce facilitează menținerea vitroculturilor vegetale un timp cât mai lung (uneori și mai mult de un an de zile), la temperaturi pozitive – dar coborâte – fără operarea de subculturi și fără afectarea capacității lor regenerative, respectiv a totipotenței, fapt care permite reducerea costurilor de întreținere a probelor și evitarea riscului de a se produce infecții în momentul efectuării operațiunilor lunare de sucultivare a fitoinoculilor.

O altă metodă de conservare constă în păstrarea fitoinoculilor într-un regim combinat, asociind un inhibitor vegetal de creștere, introdus în mediul de cultură, cu coborârea la 4-7°C a temperaturii de păstrare a recipientelor cu fitoinoculi. Alături, la toate aceste măsuri se recomandă și reducerea intensității luminoase de la 1700-2400 luși (Fig. 1 A), la 500 de luși. În acest mod, la unele vitroculturi vegetale, asociind diferiți factori, se poate mări intervalul de operare a subculturilor de întreținere a acestora de la 1-3 luni, la 3-4 ani, sau chiar mai mult.

Cu cât se mărește mai mult intervalul de subkultură, cu atât se reduc costurile de menținere și întreținere a fitoinoculilor, fără alterarea genotipului și a capacității regenerative a acestora. La vitroculturile vegetale, cu excepția situației crioconservării acestora, culturilor le este *indispensabilă lumina*; dacă dar intensitatea luminoasă este redusă se încetinește mult creșterea fitoinoculilor. Totuși, lumina este indispensabilă pentru menținerea totipotenței celulelor vegetale. Dar, introducerea surselor de lumină în „băncile de gene vegetale” ridică probleme în ceea ce privește creșterea costurilor de întreținere, devenind obligatorie ventilarea incintelor cu probe, pentru menținerea temperaturilor la valori optime (coborâte), ventilarea sporind consumul de energie, pe de o parte, dar producând și o puternică deshidratare a mediilor de cultură, pe de altă parte, fapt care impune operarea mai frecventă de subculturi, din cauza scăderii umidității optime în substratul din recipientele de vitrokultură și crăparea acestora.

Toate aspectele descrise ne-au determinat să concepem noi proceduri pentru realizarea unei „temporizări” a creșterii inoculilor vegetali, cu mărirea intervalului de subkultură, fără a afecta capacitatea regenerativă a acestora, prin menținerea recipientelor cu fitoinoculi în frigider, sau în camere reci, în care sursa de lumină amplasată în vecinătatea recipientelor cu fitoinoculi să fie reprezentată de o „lumină rece”, neconsumatoare de energie electrică și care să nu producă căldură. Totodată, dacă se dorește, recipientele cu fitoinoculi pot fi păstrate și la temperatura laboratorului, doar iluminarea să fie asigurată în regim alternativ prin utilizarea unor surse luminoase **fosforescente**. Plăcile sau alte materiale fosforescente, de exemplu sferule (Fig. 2 B și D) periodic trebuie reîncărcate la o sursă de lumină. Astfel, după o expunere a patru plăci, de 40 cm lungime, 20 cm lățime și 2,5 mm grosime (Fig. 2 A și C), timp de 14 ore, la lumină naturală, transferate la întuneric total, acestea emit – cca. 8 ore – lumină după care plăcile trebuie reîncărcate. Dacă în încăperea există o lumină difuză, slabă, placa se descarcă în cca. 12 ore. Dacă într-o incintă sunt montate mai multe plăci fosforescente (Fig. 3) sau într-un frigider cu ușă de sticlă și iluminat slab cu neon, intensitatea luminoasă sporește. Plăcile pot fi poziționate orizontal, vertical sau curbate (boltite) (Fig. 4 C). Cutiile cu plăci fosforescente ce conțin fitoinoculi amplasați în medii de cultură, pot fi amplasate în frigider și nu necesită alimentarea lor cu energie electrică.

Deci, prezenta *invenție se referă* la utilizarea ca surse de lumină a unor **materiale fosforescente**, cum ar fi a unor plăci (Fig. 2 B și C), care după ce sunt încărcate cu energie luminoasă, naturală, sau provenită de la surse artificiale de iluminare, se introduc pe rafturile din camerele de creștere ale fitoinoculilor, sau în frigiderele destinate depozitării vitroculturilor vegetale, pentru a rări astfel cât mai mult cu puțință intervalul de subkultură, mai ales în cazul în care se urmărește imprimarea la nivelul fitoinoculilor a unei *creșteri lente*. Această nouă procedură de iluminare dă posibilitatea – pe de o parte – la stocarea fitoinoculilor în încăperi nealimentate cu energie electrică, iar – pe de altă parte – la economisirea de energie electrică, utilizată pentru asigurarea iluminării camerelor de creștere, destinate cultivării în regim aseptice a vitroculturilor vegetale, a plăcilor fosforescente care permit o scurtare a duratei de iluminare a fitoinoculilor cu

Revendicare

Materialele fosforescente, plăci, sferule sau panouri în care sunt încorporate săruri fosforescente, potrivit prezentei invenții, pot fi utilizate pentru iluminarea vitroculturilor ce necesită o sursă slabă de lumină, de exemplu a fitoinoculilor, ori a culturilor algale aflate în mediu aseptice, menținute fiind în regim de „creștere lentă”, fără a fi expuse la surse de lumină care să le alimenteze cu energie electrică. Recipientele cu vitroculturi vor fi amplasate în partea bazală a cutiei cu fitoinoculi, în timp ce cutia cu plăci fosforescente va fi expusă zilnic la lumina zilei, pentru a se reîncărca energetic. Placa bazală a cutiei poate rămâne în camera de creștere sau în frigider și după reîncărcarea plăcilor cu lumină acestea vor fi utilizate pentru a reacoperi cu ele recipientele de vitrocultură.

Bibliografie

1. CACHITĂ C.D., DELIU C., TICAN P.L., ARDELEAN A., 2004, T. 1, p. 10

Experimentele efectuate de noi au avut în vedere – în cadrul unor teme de cercetare axate pe studii de biotehnologie vegetală, orientate pe problematica conservării biodiversității în lumea plantelor, atât a florei amenințată cu extincția (a speciilor menționate în „Cartea roșie”, ca fiind pe cale de dispariție), cât și a genotipurilor de larg interes în practicile agricole sau silvice, ori în bioindustria care valorifică produși secundari de metabolism – o scădere a costurilor de întreținere a colecțiilor de plante stocate în regim de vitrocultură, cu mărirea intervalului de subkultură, conservând integral capacitatea regenerativă a fitoinoculilor. Plăcile fosforescente pot fi amplasate în diferite poziții (Fig. 3 și 4 A-C), între recipientele de cultură, dublând sau triplând numărul acestora, reușind astfel să creștem intensitatea luminoasă din imediata apropiere a fitoinoculilor. Pentru a mări intensitatea sursei de lumină, pe lângă amplasarea a una sau mai multe plăci fosforescente în cutiile cu fitoinoculi, se poate suplimenta lumina fosforescentă prin utilizarea de „sferule” (Fig. 2 C și D și Fig.4 A și B), din material plastic, transparent și incolor, în care se află încorporate minuscule *particule fosforescente*. Acestea pot fi amplasate printre recipientele cu fitoinoculi, ceea ce facilitează iluminarea lor și din lateral. Astfel de sferule pot fi amplasate și în bioreactoare pentru a asigura o iluminare a culturilor vegetale submerse. Plăcile fosforescente pot fi încărcate cu lumină naturală și prin utilizarea de fibre optice (Fig.5).

Deci procedura de iluminare a vitroculturilor vegetale sau algele cu materiale fosforescente asigură acestor inoculi o sursă suficientă de lumină, care să mențină viabilitatea și totipotența acestora, fără a fi necesară o alimentare permanentă a acestora sau a instalației cu curent electric.

Revendicare

Materialele fosforescente, plăci, sferule sau panouri în care sunt încorporate săruri fosforescente, potrivit prezentei invenții, pot fi utilizate pentru iluminarea vitroculturilor ce necesită o sursă slabă de lumină, de exemplu a fitoinoculilor, ori a culturilor algele aflate în mediu aseptice, menținute fiind în regim de „creștere lentă”, fără a fi expuse la surse de lumină care să le alimenteze cu energie electrică. Recipientele cu vitroculturi vor fi amplasate în partea bazală a cutiei cu fitoinoculi, în timp ce cutia cu plăci fosforescente va fi expusă zilnic la lumina zilei, pentru a se reîncărca energetic. Placa bazală a cutiei poate rămâne în camera de creștere sau în frigider și după reîncărcarea plăcilor cu lumină acestea vor fi utilizate pentru a reacoperi cu ele recipientele de vitrocultură.

Bibliografie

1. CACHIȚĂ C.D., DELIU C., TICAN R.L., ARDELEAN A., 2004, *Tratat de biotehnologie vegetală*, vol.I, Editura Dacia, Cluj-Napoca.
2. CACHIȚĂ C.D., ARDELEAN A., 2009, *Tratat de biotehnologie vegetală*, vol.II, Editura Dacia, Cluj-Napoca.
3. CACHIȚĂ C.D., CONSTANTINOVICI D., 2008, *Conservarea resurselor vegetale în bănci de gene, sub formă de fitoinoculi*, Lucrările celui de al XVI-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, Editura Risoprint, Cluj-Napoca.
4. CACHIȚĂ C.D., 2006, *Micropropagarea speciilor de interes economic prin utilizarea de dispozitive automate sau de roboți*, Lucrările celui de al XV-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, Editura Risoprint, Cluj-Napoca.

Autorii,

Asist. cerc. drd. Ardelean Mirela,
Prof.univ.dr. Cachiță Dorina Marioara,
Lector drd. Stana Iulian

tuburi fluorescente, prin stingerea câtorva ore a acestora și continuarea iluminării lor – un număr de ore – cu plăci fosforescente.

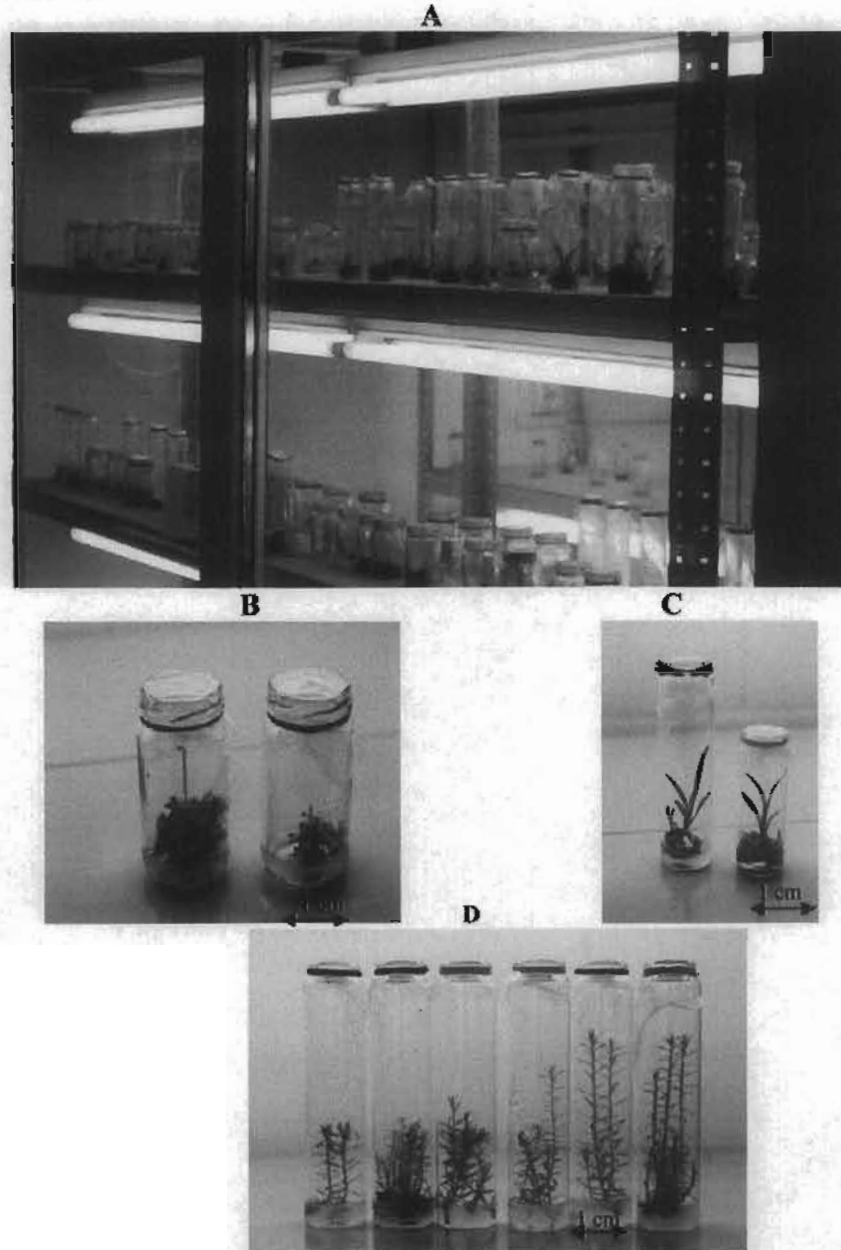


Fig. 1-Recipiente cu fitoinoculi expuse la tuburi fluorescente, în camera de creștere climatizată (A); variate recipiente de cultură cu medii aseptice în care au fost implantate explantele (B, C și D).

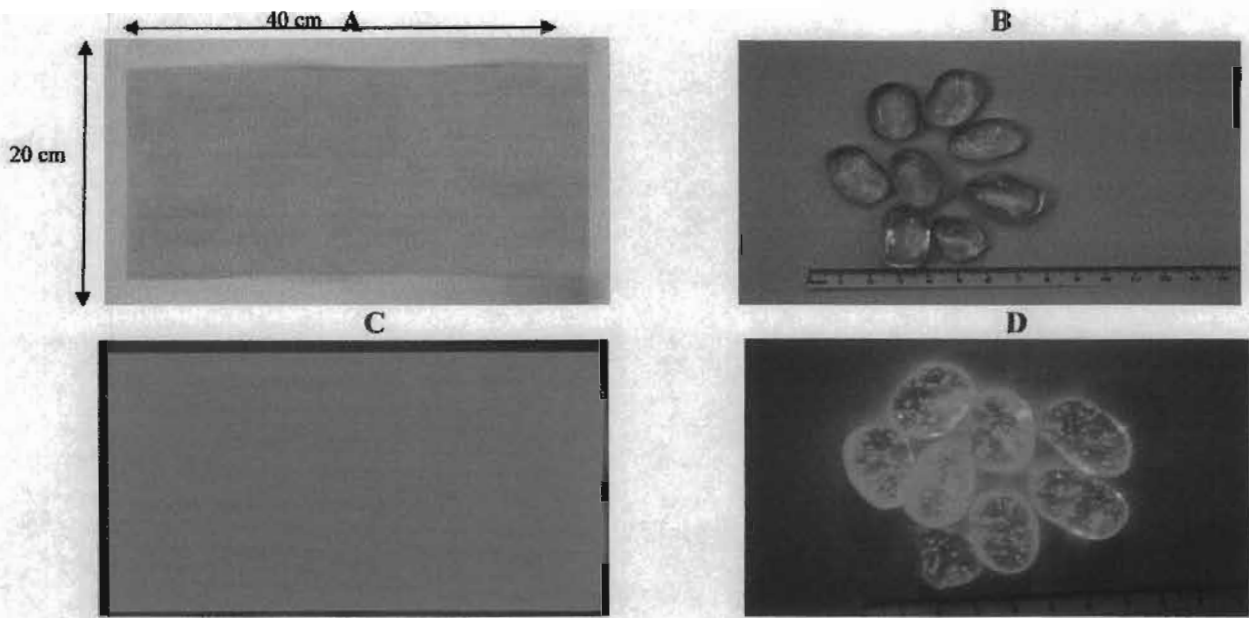


Fig.2- Materiale fosforescente care sunt ținute la lumina din laborator (A și B) și care trecute la întuneric luminează (C și D), unde: A și C- plăci fosforescente; B și D- sferule din material plastic, transparent cu material fosforescent răspândit în masa acestora, unde: B- văzute la lumină; D- trecute la întuneric.

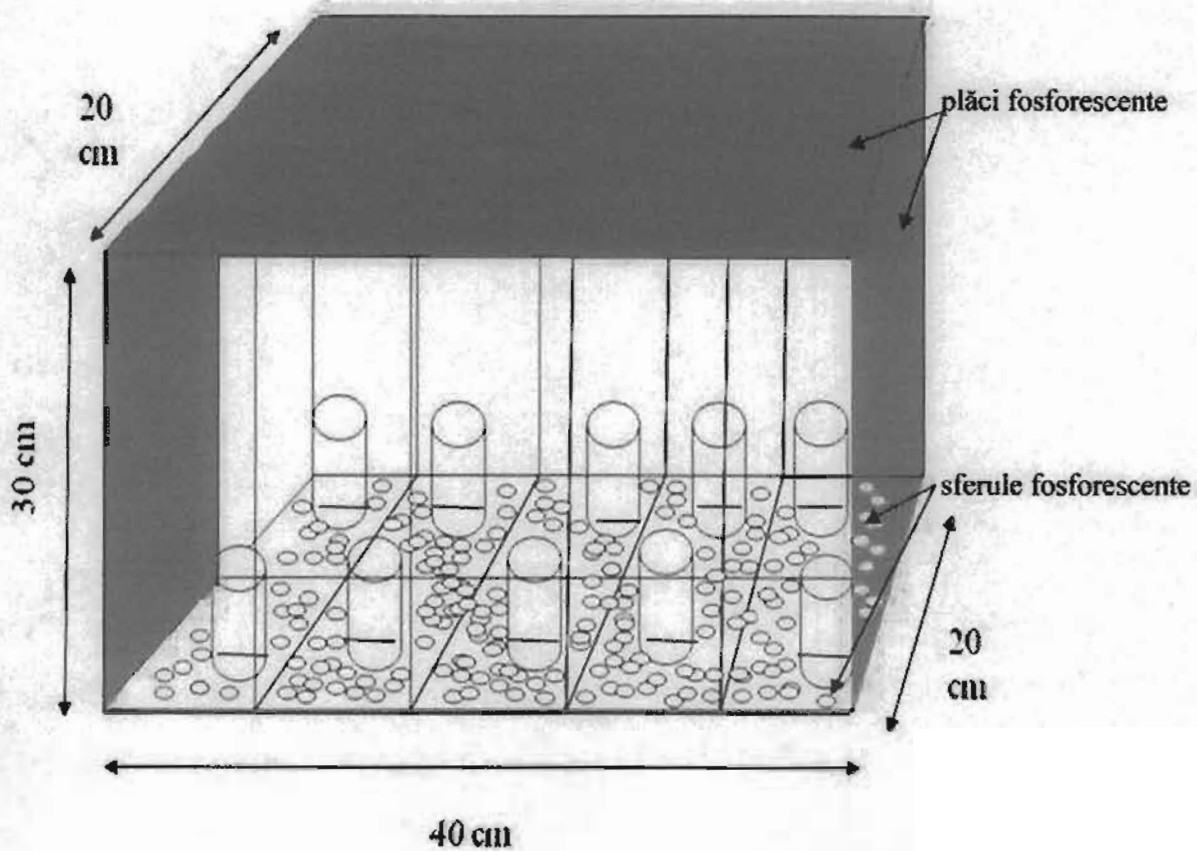


Fig.3- Schemă privind cutia cu plăci fosforescente și sferule fosforescente în care sunt amplasate recipientele cu vitroculturi vegetale.

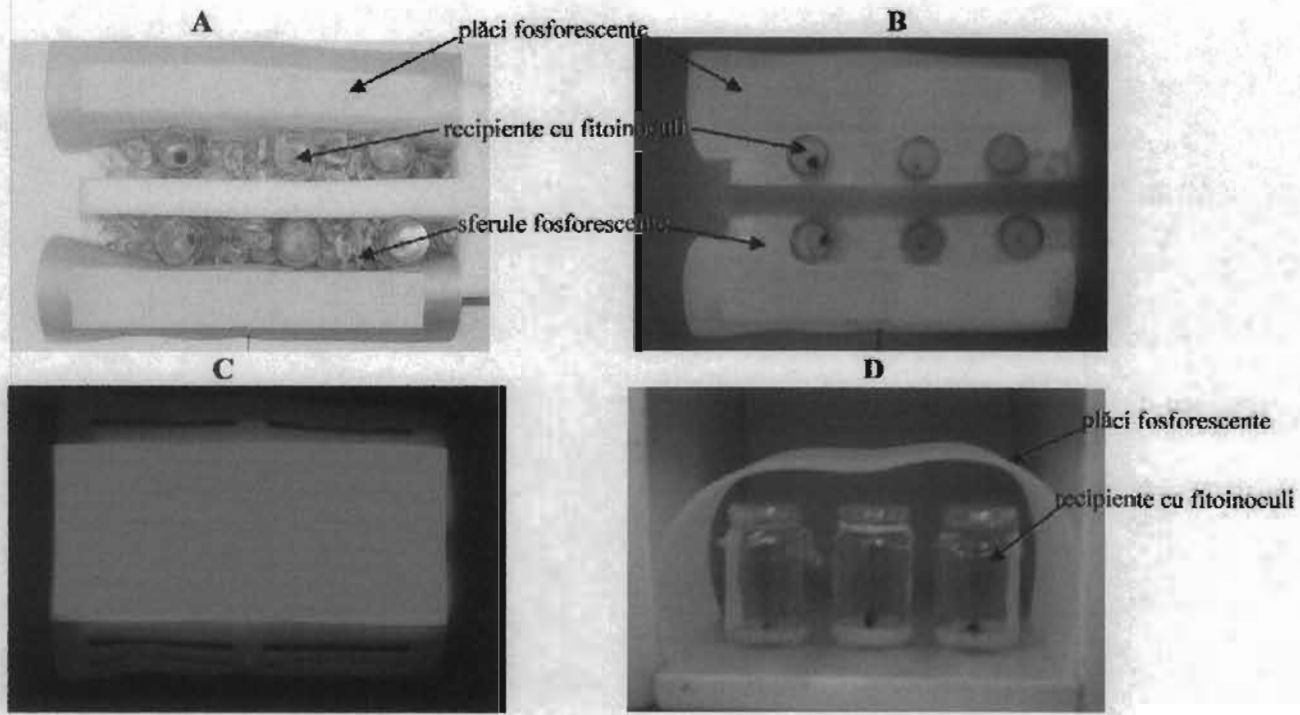


Fig.4- Conținutul unei cutii cu vitroculturi vegetale văzută de sus (A- cutie văzută la lumina zilei ; B- cutie văzută la întuneric, cu plăci fosforescente pe lateral și cu sferule fosforescente în care sunt amplasate recipientele cu fitoinoculi ; C- acoperirea cutiei de la poziția B cu un capac fosforescent ; D- boltirea unei plăci fosforescente sub care sunt așezate recipientele cu vitroculturi vegetale).

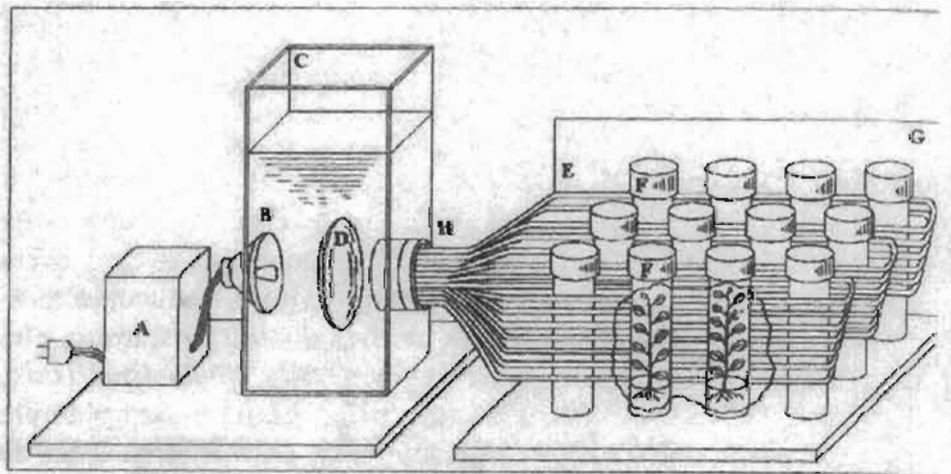


Fig. 5 Diagrama schematică a unui nou sistem de iluminare prin difuziune optică a luminii prin fibre optice utilizat în micro-propagarea vitroplantelor fotoautotrofe; A – sursa electrică de putere; B – lampă cu reflector; C – tanc de apă pentru absorbiția căldurii; D – lentilă condensatoare; E – fibre optice difuzive; F – vase de cultură; G – oglindă reflectorizantă H – fibre optice transparente (Kozai, 1991).