

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **223425**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **406575**

(22) Data zgłoszenia: **18.12.2013**

(51) Int.Cl.

**A01C 1/00 (2006.01)**

**A01N 59/20 (2006.01)**

**A01N 59/00 (2006.01)**

**A01P 1/00 (2006.01)**

**A01P 3/00 (2006.01)**

(54) **Sposób powierzchniowego wyjąławiania nasion z wykorzystaniem metalicznych  
cząstek srebra i miedzi w suspensji wodnej**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

**22.06.2015 BUP 13/15**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

**31.10.2016 WUP 10/16**

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET  
TECHNOLOGICZNO-PRZYRODNICZY  
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH  
W BYDGOSZCZY, Bydgoszcz, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**KAROL BOCIAN, Otmianowo, PL  
PIOTR MALCZYK, Bydgoszcz, PL  
MAGDALENA TOMASZEWSKA-SOWA,  
Bydgoszcz, PL  
PIOTR WOJEWÓDZKI, Bydgoszcz, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzec. pat. Piotr Jankowski**

**PL 223425 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób powierzchniowego wyjaławiania nasion z wykorzystaniem metalicznych cząstek srebra i miedzi w suspensji wodnej, mający zastosowanie do odkażania nasion w procesie kiełkowania w kulturach *in vitro*.

Techniki *in vitro* są jedną z metod biotechnologicznych umożliwiającą tworzenie nowych, wartościowych materiałów hodowlanych, oraz prowadzącą do doskonalenia odmian roślin uprawnych i ozdobnych. Wdrożenie procedur i procesów technologicznych w których wykorzystywane są komórki, tkanki, organy roślinne, lub całe rośliny wymaga uprzedniego uzyskania materiału wolnego od mikroorganizmów. Procedury prowadzące do uzyskania aseptycznego materiału roślinnego inicjującego kultury opierają się najczęściej na sterylizacji powierzchniowej eksplantatów pierwotnych. Sterylizacja chemiczna opiera się na wykorzystaniu bakterio i grzybobójczych właściwości alkoholu etylowego, podchlorynu sodu lub podchlorynu wapnia, chloraminy T lub sublimatu rtęciowego ( $\text{HgCl}_2$ ). Stężenie aktywnego czynnika sterylizującego i czas trwania sterylizacji dobiera się eksperymentalnie dla każdego rodzaju eksplantatu. Proces odkażania kończy się kilkukrotnym wypłukaniem środka sterylizującego z powierzchni materiału roślinnego za pomocą sterylnej wody destylowanej.

Znane są preparaty i sposoby stosowane do odkażania nasion, z patent PL 172955 znany jest płynny preparat do odkażania nasion i innych części roślin działający bakterio- i grzybobójczo. Istotą wynalazku jest wykorzystanie podchlorynu sodu, kwasu mlekowego, octanu miedzi i cynku, kwasu borowego, molibdenianu sodu, potasu lub amonu, azotanu srebra i zmiażdżonego czosnku oraz zwilżacza (karboksymetylocelulozy).

Patent PL 180374 przedstawia agrochemiczny środek do ochrony roślin przed zakażeniami grzybiczymi i owadami. Preparat stanowi kombinację benzylidenoazolilometylocykloalkanu i związku owadobójczego zawierającego grupę pirazolową, pirolową lub fenyloimidazolową.

W patencie PL 199803 jest mowa o preparacie do zaprawiania nasion przeciwko sprawcom chorób wirusowych, bakteryjnych i grzybowych. Preparat bazuje na dwuchlorku miedzi oraz chlorków cynku manganu, amonu, magnezu, wapnia oraz chlorku żelazowego.

Patent PL 185788 prezentuje sposób obróbki cieplnej nasion dla odkażania nasion z patogenów i innych niepożądanych grzybów i bakterii.

Nie stwierdzono w ujawnionych rozwiązaniach, opisach patentowych i literaturze sposobu wyjaławiania nasion z wykorzystaniem metalicznych nanocząstek srebra i miedzi w suspensji wodnej, analogicznego do będącego przedmiotem wynalazku.

Wadą znanych sposobów jest: zastosowanie środków, które mogą uszkadzać nasiona bądź bezpośrednio zarodek uniemożliwiając kiełkowanie, skomplikowanie i wieloetapowość zabiegów, np.: odkażanie nasion, detoksykacja, zaprawianie uzupełniające, stosowanie wieloetapowego odkażania nasion, kolejne etapy, zwłaszcza płukanie nasion mogą być przyczyną wtórnych zakażeń, sposoby przewidziane są na ogół dla nasion jednego gatunku roślin, nie są uniwersalne.

Istota sposobu powierzchniowej sterylizacji nasion z wykorzystaniem metalicznych nanocząstek srebra i miedzi w suspensji wodnej wg wynalazku polega na zastosowaniu metalicznych nanocząsteczek srebra i miedzi w suspensji wodnej jako aktywnego czynnika wyjaławiającego powierzchniowo nasiona, będące eksplantatami pierwotnymi inicjującymi kulturę *in vitro* roślin danego gatunku. Istotą rozwiązania jest zastosowanie  $1\text{--}50\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , korzystnie  $5\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , wodnego roztworu koloidowego nanocząsteczek srebra i miedzi, którym traktuje się eksplantaty przeznaczone do odkażania. Wymiary metalicznych nanocząstek srebra i miedzi wynoszą  $1\text{--}100\text{ nm}$ , najkorzystniej  $5\text{--}10\text{ nm}$ . Suspensje nanocząstek stabilizuje się za pomocą surfaktantów, korzystnie takich które niwelują możliwość koagulacji nanocząstek (PVP–poliwinylopirolidon, masa cząsteczkowa  $5000\text{--}10000$ , korzystnie  $7000$ , dodatek w ilości  $0,01\text{--}2\%$ , korzystnie  $0,5\%$ ). Suspensja wodna nanocząstek srebra i miedzi powinna być wolna od ewentualnych zanieczyszczeń powstających podczas etapu ich wytwarzania. Czas sterylizacji nasion od  $1$  do  $10$  minut, zależnie od rozwinięcia powierzchni właściwej nasion, korzystnie  $1\text{ min.}$  dla nasion gładkich i  $5\text{ min.}$  dla nasion o chropowatej powierzchni łupiny nasiennej.

Zaletą sposobu według wynalazku jest znaczne skrócenie czasu przeprowadzenia tego procesu. Proces sterylizacji chemicznej materiału roślinnego przebiega w kilku etapach, co powoduje iż jest to często zabieg czasochłonny, wymagający licznych przygotowań. W trakcie prowadzenia konwencjonalnych procedur sterylizacji materiał roślinny po potraktowaniu aktywną substancją sterylizującą musi być kilkukrotnie wypłukany w sterylnej wodzie bidestylowanej co wydłuża znacznie czas zabiegu i zwiększa liczbę przeprowadzanych manipulacji. Wieloetapowość zabiegu dezynfekcji wiąże się

z wyższym prawdopodobieństwem wystąpienia infekcji. Zastosowanie nanocząsteczek srebra i skrócenie procesu do jednej fazy zmniejsza możliwość kontaminacji, skraca czas przygotowania nasion do kiełkowania, a także w porównaniu do powszechnie stosowanych środków odkażających charakteryzuje się mniejszym stopniem uszkodzenia eksplantatów. Eliminacja etapu płukania nasion przed ich wyłożeniem na pożywki przeznaczone do kiełkowania, dzięki zastosowaniu suspensji wg wynalazku w znacznym stopniu zmniejszenie możliwości zakażenia eksplantatów.

Sposób według wynalazku przedstawiono bliżej w poniższych przykładach wykonania.

#### Przykład 1

W celu wyjąłwienia powierzchni małych, gładkich nasion stosuje się następujące etapy odkażania:

1. Przygotowanie suspensji wodnej metalicznych nanocząstek srebra i miedzi o stężeniu każdego metalu  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ .
2. Dodanie do roztworu nanocząstek środka powierzchniowo czynnego: PVP, M = 7000, dodatek 0,5%.
3. Zamoczenie nasion w suspensji nanocząstek miedzi i srebra na czas 1 minuty.
4. Wyłożenie nasion na pożywki o znanym składzie (np. pożywka Murashige i Skooga, a (1962), zestalanej 0,7% agarem) w celu inicjacji kiełkowania.

#### Przykład 2

W celu wyjąłwienia powierzchni nasion o chropowatej powierzchni stosuje się następujące etapy odkażania:

1. Przygotowanie suspensji wodnej metalicznych nanocząstek srebra i miedzi o stężeniu każdego metalu  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ .
2. Dodanie do roztworu nanocząstek środka powierzchniowo czynnego: PVP, M = 7000, dodatek 0,5%.
3. Zamoczenie nasion w suspensji nanocząstek miedzi i srebra na czas 5 minut.
4. Wyłożenie nasion na pożywki o znanym składzie (np. pożywka Murashige i Skooga, a (1962), zestalanej 0,7% agarem) w celu inicjacji kiełkowania.

#### Przykład 3

W celu wyjąłwienia powierzchni dużych nasion o chropowatej powierzchni stosuje się następujące etapy odkażania:

1. przygotowanie suspensji wodnej metalicznych nanocząstek srebra i miedzi o stężeniu każdego metalu  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ .
2. Dodanie do roztworu nanocząstek środka powierzchniowo czynnego: PVP, M = 7000, dodatek 0,5%.
3. Zamoczenie nasion w suspensji nanocząstek miedzi i srebra na czas 10 minut.
4. Wyłożenie nasion na pożywki o znanym składzie (np. pożywka Murashige i Skooga, a (1962), zestalanej 0,7% agarem) w celu inicjacji kiełkowania.

## Zastrzeżenie patentowe

Sposób wyjąłwienia powierzchni nasion, przeznaczonych do kiełkowania w warunkach *in vitro*, **znamienny tym**, że jako czynnik wyjąłwiający zastosowano metaliczne nanocząsteczki srebra i miedzi w suspensji wodnej, przy czym proces wyjąłwienia przebiega jednoetapowo w czasie 1–10 min przy użyciu suspensji wodnej metalicznych nanocząstek srebra i miedzi o stężeniu  $1\text{--}50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , korzystnie  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  i wymiarach 1–100 nm.

