



No. 16-129111- -00000-0000

Fecha: 2016-05-17 15:37:04

Dep. 2020 DIR.NUEVASCF

Tra. 12 MODELOIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 71

AS



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creciones

SOLICITUD

PATENTE DE MODELO DE UTILIDAD

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO Biorreactor para cultivo
in vitro de plantas

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE Fibra celulose s.a.DOMICILIO Brasil74. APODERADO Fernando Triana Soto22. BOGOTÁ, D. C., Mayo 17 / 2016

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

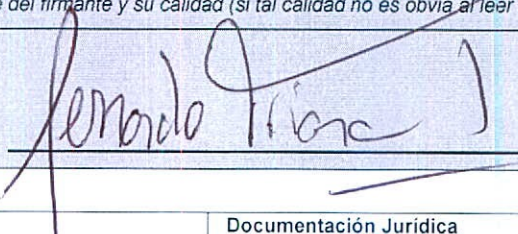
ación

No. 16-129111- -00000-0000

Fecha: 2016-05-17 15:37:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 12 MODELOIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 71

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☐ Patente de invención ☒ Capítulo I	☒ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/ BR2013/000483	Fecha 11/11/2013
Publicación Internacional No.		WO 2015/066779 A1	Fecha 14/05/2015
3	TÍTULO DE LA INVENCION (200 caracteres o espacios máximos)		
BIORREATOR PARA CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
A01C 1/02 (2006.01)			
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
1 FIBRIA CELULOSE S.A.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN RUA FIDÊNCIO RAMOS, 302 - 3º ANDAR - TORRE B VILA OLÍMPIA - CEP 04551 - 010 SÃO PAULO		No. TELÉFONO	
CIUDAD SÃO PAULO		CORREO ELECTRÓNICO	
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN BRASIL	
PAÍS DE RESIDENCIA BRASIL			
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1	PENCHEL	RICARDO MIGUEL	BRASIL
2	REIS	JOCEMAR PALAURO DOS	BRASIL
3	OLIVEIRA	MILA LIPARIZE DE	BRASIL
4			
5			
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD DIRECCIÓN
1	BRASIL		SÃO PAULO RUA ALBERTO AGUIAR WEISSOHN 337 CASA 4 CENTRO GUARAREMA, CEP 08900-000. SÃO PAULO
2	BRASIL		ARACRUZ RUA RIO SANTA MARIA, 63, BARRIO DE FATIMA CEP. 29192-204 ARACRUZ
3	BRASIL		SÃO JOSÉ DOS CAMPOS AVENIDA NOVE DE JULHO, 579 - APTO 36 VILA ADYANA CEP. 12243-000 SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
4			
5			
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
1 TRIANA SOTO		FERNANDO	C.C. 79.154.036 T.P. 45.265
DIRECCIÓN CALLE 93B No. 12-48, Piso 4o. BOGOTA, D.C., COLOMBIA		No. TELÉFONO 6019660	
CIUDAD BOGOTÁ, D.C., COLOMBIA		CORREO ELECTRÓNICO tum@tumnet.com	
PAÍS COLOMBIA		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	

10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD		☐ SI ☒ NO
1	(33) PAIS DE ORIGEN	CODIGO PAIS	(31) NÚMERO
2			(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
3			
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento. Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☒ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	Fecha
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL		
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio) 			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano 1. ☒ Descripción N° de folios: 2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 8 3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 4. ☒ Resumen. 5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso. 6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso. 7. ☒ Arte final 12 x 12. 8. ☐ Anexo formato digital. 9. ☐		Documentación Jurídica 9. ☐ Poderes, si fuera el caso. 10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. 11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso. 12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso. 13. Reducción de tasas Micro, pequeñas o medianas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004. Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar 14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud 15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	

- | | |
|--|--|
| | <p>16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.</p> <p>17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.</p> |
|--|--|

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da
Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(10) Número de Publicação Internacional

WO 2015/066779 A1

(43) Data de Publicação Internacional
14 de Maio de 2015 (14.05.2015)

WIPO | PCT

(51) Classificação Internacional de Patentes :
A01C 1/02 (2006.01)

(21) Número do Pedido Internacional :

PCT/BR2013/000483

(22) Data do Depósito Internacional :

11 de Novembro de 2013 (11.11.2013)

(25) Língua de Depósito Internacional : Português

(26) Língua de Publicação : Português

(71) Requerente : FIBRIA CELULOSE S.A [BR/BR];
Alameda Santos, 1.357 - 6º andar, Cerqueira César, CEP-
01419-001 São Paulo, SP (BR).

(72) Inventores : PENCHEL, Ricardo Miguel; Rua Alberto
Aguar Weisssohn 337, casa 4, Centro, CEP-08900-000
Guararema, SP (BR). REIS, Jocemar Palauro dos; Rua
Rio Santa Maria, 63, Bairro de Fátima, CEP-29192-204
Aracruz, ES (BR). OLIVEIRA, Mila Liparize de;
Avenida Nove de Julho, 579 - Apto 36, Vila Adyana, CEP-
12243-000 São José dos Campos (BR).

(74) Mandatário : WEGMANN, Ana Cristina Almeida
Müller; Avenida Almirante Barroso, 52 - 33ª andar,
Centro, CEP-20031-000 Rio de Janeiro, RJ (BR).

(81) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

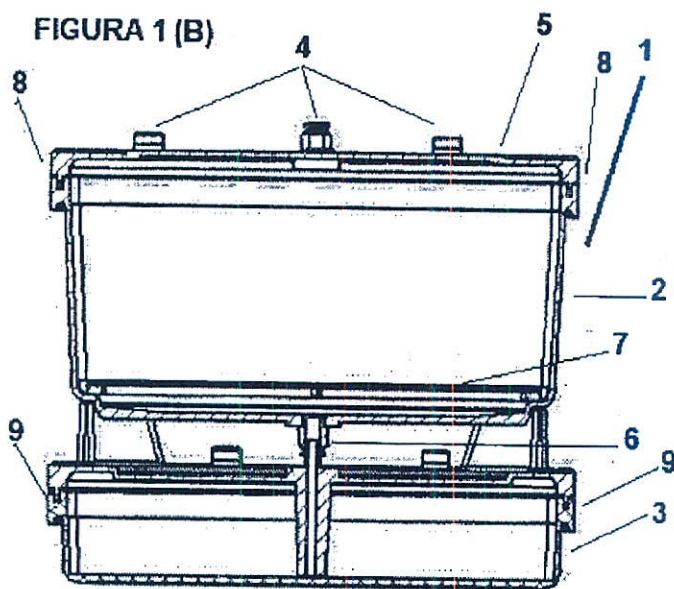
(84) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

— com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))

(54) Title : BIOREACTOR FOR *IN VITRO* PLANT CULTURE

(54) Título : BIORREATOR PARA CULTIVO *IN VITRO* DE PLANTAS



(57) Abstract : The present utility model aims at providing a bioreactor for *in vitro*, temporary immersion plant culture, comprising: (i) an upper container (2) having transparent walls for the propagation material, preferably eucalyptus explants, the container (2) being provided with (a) diffusers for gaseous exchange with the outer environment, (b) humidifier (12), and (c) artificial illumination (14); (ii) a lower container (3) for the liquid nutrient medium, having transparent walls, an aluminium tray (15) and a water and/or nutrient medium inlet (13) located in the bottom of said container (3); (iii) air/oxygen/carbon dioxide injection/withdrawal points (4) located in the transparent cover (5); (iv) additional carbon dioxide injection point (11) with a dripping tube, near the bottom of said upper container (2); (v) hermetic connection means (6) between the upper and lower containers, allowing the nutrient medium to be supplied to and drained from the upper container; (vi) a support for the screen (7) carrying the propagation material, with the option of using screens having different mesh sizes; (vii) means (8) for locking the cover in order to seal the upper container

hermetically; (viii) means (9) for locking the upper container so that it is hermetically closed on the lower container; and (ix) means (10) for pneumatically conveying the liquid nutrient medium between the upper container and the lower container.

(57) Resumo :

(Continua na página seguinte)



O presente modelo de utilidade objetiva proporcionar um biorreator para cultivo in vitro de plantas, do tipo de imersão temporária compreendendo: (i) um recipiente superior (2) com paredes transparentes para o material em propagação, preferencialmente explantes de eucalipto, dito recipiente (2) sendo provido de (a) difusores de troca gasosa com o ambiente externo, (b) umidificador (12), e (c) iluminação artificial (14); (ii) um recipiente inferior (3) com paredes transparentes para o meio nutriente líquido, tendo uma bandeja de alumínio (15) e um ponto (13) de entrada de água e/ou meio nutriente, localizado no fundo do dito recipiente (3); (iii) pontos (4) de injeção/retirada de ar/oxigênio/gás carbônico localizados na tampa transparente (5); (iv) ponto (11) de injeção adicional de gás carbônico com tubo gotejador, próximo ao fundo do dito recipiente superior (2); (v) meios (6) de conexão hermética entre os recipientes superior e inferior para o abastecimento/drenagem do meio nutriente para e do recipiente superior; (vi) suporte de tela (7) para o material em propagação, com possibilidade de troca de telas de diferentes malhas; (vii) meios (8) de travamento da tampa para fechamento hermético do recipiente superior; (viii) meios (9) de travamento do recipiente superior para fechamento hermético sobre o recipiente inferior; e (ix) meios (10) de movimentação pneumática do meio nutriente líquido entre o dito recipiente superior e dito recipiente inferior.

Relatório Descritivo da Patente de Modelo de Utilidade
"BIORREATOR PARA CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS"

CAMPO DA INVENÇÃO

O presente modelo de utilidade refere-se a um
5 biorreator do tipo de imersão temporária para cultivo *in vitro* de plantas, preferencialmente a um biorreator empregado em um sistema de produção de microestacas de eucalipto em alta escala e alta produtividade.

FUNDAMENTOS DO MODELO DE UTILIDADE

10 Os biorreatores empregados na técnica de produção de mudas de plantas são equipamentos para o cultivo asséptico de plantas em regime de imersão permanente ou temporária em meio nutriente líquido ou semi-sólido. Em geral, um biorreator compreende um conjunto de recipientes que contêm
15 compartimentos e acessórios para o manejo ótimo dos principais fatores de crescimento visando maximizar o desempenho das reações biológicas. O emprego de biorreatores na produção de plantas pela técnica de imersão temporária possibilita a obtenção de maiores taxas de
20 crescimento e de multiplicação da cultura por meio do uso contínuo de meio nutriente líquido, preferencialmente suplementado com a injeção de ar e provido de iluminação artificial.

A demanda por produtos florestais e a necessidade de
25 boa qualidade da matéria-prima têm exigido altos investimentos no setor florestal, resultando em avanços consideráveis no processo produtivo e nas técnicas

utilizadas que evoluíram desde a estaquia convencional até a moderna propagação vegetativa ou micropropagação.

Consequentemente, o melhoramento genético e a biotecnologia têm requerido o desenvolvimento de novos equipamentos para a produção de mudas *in vitro*, visando potencializar os benefícios da micropropagação e reduzir as suas inerentes dificuldades. Dentre esses equipamentos, os biorreatores se destacam como a concretização de um ambiente controlado para cultivo, por imersão temporária ou permanente, de células, gemas, embriões ou qualquer tipo de propágulo apropriado para a criação de mudas de espécies, por exemplo, florestais, em escala comercial. Particularmente, a automação e o uso, em larga escala, do cultivo em meio líquido para a propagação *in vitro* de plantas vêm sendo considerados a melhor estratégia para superar as barreiras impostas pelo alto custo de produção do cultivo em meios semi-sólidos (gelificados).

Os biorreatores são classificados fundamentalmente de acordo com o modo de agitação e pela construção do recipiente, incluindo aerador agitador, tambor rotativo, filtro rotativo, borbulhador, aeração simples ou combinada e coluna de bolha, componente de levantamento de ar, membrana porosa ao oxigênio, componente de sobre-aeração e tipo de imersão temporária.

Os sistemas de imersão temporária compreendem biorreatores, que são o componente essencial desses sistemas e que se caracterizam pelo tamanho do recipiente, tipo de suporte da cultura, existência de controle computadorizado da imersão ou simples *timer*, e

adicionalmente compreendem bomba peristáltica, bomba de ar ou de movimentação mecânica do recipiente para o deslocamento do meio líquido, possibilidade de reciclo do meio líquido e separação (ou incorporação) do reservatório do meio líquido relativo ao recipiente de cultivo. Características comuns aos biorreatores são as paredes transparentes, para passagem de luz e verificação do processo de desenvolvimento da planta, e a possibilidade de serem esterilizados em autoclaves.

Os dois tipos principais de biorreatores para micropropagação de células e tecidos vegetais, em meio nutriente líquido, são o tipo RITA (Recipiente de Imersão Temporária Automatizada) e o tipo BIT (Biorreator de Imersão Temporária).

O tipo RITA caracteriza-se por uma disposição de recipientes, para o material a ser propagado e para o meio nutriente líquido, sobrepostos e pela operação e controle, dos fatores que influenciam o processo, realizados de modo automatizado. A principal vantagem do tipo RITA é a manutenção de condições estáveis e uniformes ao longo do processo e a principal desvantagem é a complexidade e dispendiosa operacionalização.

O tipo BIT mais simples e menos oneroso tem a disposição dos recipientes feita lado a lado e a duração dos períodos de imersão e ausência do meio líquido no recipiente de micropropagação, sendo que a alternância desses períodos é feita por um controlador comum de tempo (timer). Entretanto, o tipo BIT, apesar de ser menos oneroso e de operacionalização mais simples, requer um

acompanhamento mais próximo do processo de micropropagação que não é automatizado, além de exigir um espaço bem maior para a colocação lado a lado dos recipientes.

Biorreatores automatizados e não automatizados exemplificativos são descritos, por exemplo, no documento US20040209346 que mostra um biorreator de imersão intermitente realizada por meio de um mecanismo pivoteado central cuja operacionalização é automatizada; no documento WO2012061950 que detalha um biorreator automatizado para a obtenção de uma espécie da Antártida que requer condições especiais e bem controladas para a micropropagação; no documento WO2012044239 é descrito um biorreator consistindo de um recipiente que compreende um compartimento superior (para o tecido vegetal a ser propagado) e um compartimento inferior (para o meio nutriente líquido) sendo o líquido transportado, por meio de injeção de gás, do compartimento inferior para o compartimento superior de acordo com a programação do período de imersão; no documento WO2012156440 é descrito um sistema de biorreatores de imersão temporária, em que cada biorreator é composto de dois recipientes, sendo o superior destinado para o material a ser propagado e o inferior destinado ao meio nutriente líquido que é transportado para o recipiente superior para a realização do ciclo de imersão, sendo este último sistema caracterizado pelo aproveitamento máximo de espaço do ambiente de micropropagação. Apesar do avanço propiciado por esses biorreatores conhecidos do estado, podem ser percebidas certas desvantagens que influenciam negativamente na micropropagação, tais como maior

10
dificuldade de colocação/retirada do material a ser propagado, menor eficiência na movimentação do meio nutriente, menos pontos de injeção/retirada de gases, dentre outras desvantagens.

5 Assim, nós verificamos que há a necessidade de um biorreator de imersão temporária em meio nutriente líquido suplementado com injeção de ar e enriquecimento de gás carbônico, sendo provida radiação fotossinteticamente ativa dentro do recipiente contendo o material em propagação,
10 sendo que esse biorreator deve ser apropriado para a micropropagação de plantas florestais e ter formato e dimensões que maximizem o espaço do ambiente onde é realizada a propagação vegetativa, com simultânea facilidade de acesso ao recipiente de material a ser
15 propagado.

SUMÁRIO DO MODELO DE UTILIDADE

O presente modelo de utilidade objetiva proporcionar um biorreator customizado para atender às demandas fisiológicas para a propagação vegetativa de espécies
20 florestais, preferivelmente do eucalipto, possibilitando a produção intensiva em padrão ótimo de qualidade, uniformidade e vigor dos brotos produzidos, maior enraizamento de microestacas e melhor aclimatização e precocidade de produção de mudas clonais para uso
25 industrial em larga escala.

O presente modelo de utilidade é concretizado na forma de um biorreator (1) para cultivo in vitro de plantas, do tipo de imersão temporária compreendendo: (i) um recipiente

superior (2) com paredes transparentes para o material em propagação, preferencialmente explantes de eucalipto, dito recipiente (2) sendo provido de (a) difusores de troca gasosa com o ambiente externo, (b) umidificador (12), e (c) 5 iluminação artificial (14), preferencialmente do tipo LED; (ii) um recipiente inferior (3) com paredes transparentes para o meio nutriente líquido, tendo uma bandeja de alumínio (15) e um ponto (13) de entrada de água e/ou meio nutriente, preferencialmente localizado no centro do fundo 10 do dito recipiente (3); (iii) pontos (4) de injeção/retirada de ar/oxigênio/gás carbônico localizados na tampa transparente (5); (iv) ponto (11) de injeção adicional de gás carbônico com tubo gotejador, próximo ao fundo do dito recipiente superior (2); (v) meios (6) de 15 conexão hermética entre os recipientes superior e inferior para o abastecimento/drenagem do meio nutriente para e do recipiente superior; (vi) suporte de tela (7) para o material em propagação, com possibilidade de troca de telas de diferentes malhas; (vii) meios (8) de travamento da 20 tampa para fechamento hermético do recipiente superior; (viii) meios (9) de travamento do recipiente superior para fechamento hermético sobre o recipiente inferior; e (ix) meios (10) de movimentação pneumática do meio nutriente líquido entre o dito recipiente superior e dito recipiente 25 inferior.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 mostra o biorreator de acordo com o presente modelo de utilidade montado, em (A) vista lateral direita e em (B) vista frontal.

12

A Figura 2 mostra o biorreator de acordo com o presente modelo de utilidade montado, em (A) vista lateral esquerda e em (B) vista traseira.

A Figura 3 mostra o biorreator de acordo com o presente modelo de utilidade desmontado, em perspectiva, visto de baixo para cima.

A Figura 4 mostra o biorreator de acordo com o presente modelo de utilidade desmontado, em perspectiva, visto de frente.

10 A Figura 5 ilustra esquematicamente o biorreator do presente modelo de utilidade, sendo que em: (A) é mostrada uma vista de fundo do recipiente (3), (B) é mostrada uma vista de frente do biorreator, e (C) é mostrada uma vista de lado.

15 DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Existem no mercado diversos tipos de biorreatores de imersão temporária, sendo os principais o tipo RITA (Recipiente de Imersão Temporária Automatizado), tipo BIT (Biorreator de Imersão Temporária), tipo SIT (Sistema de Imersão Temporária) e BioMint (Biorreator de Imersão Temporária), tendo em comum, geralmente, o conceito de funcionamento pneumático de imersão temporária das plantas no meio nutritivo líquido. A grande diferença entre eles reside no formato dos compartimentos para as plantas e para armazenar o meio líquido. Na maioria deles, os recipientes de cultivo das plantas é separado e individualizado do compartimento de armazenamento do meio líquido.

20

25

No biorreator objeto do presente modelo de utilidade, os recipientes são acoplados um sobre o outro, em uma única plataforma, permitindo redução de espaço. O grande diferencial do biorreator, tipo BIT, do presente modelo de utilidade são suas dimensões customizadas para o hábito de crescimento de espécies arbóreas, principalmente com foco na eucaliptocultura. Além disso, o presente biorreator possui características únicas, tais como válvulas e bicos difusores, para permitir trocas gasosas (ar, oxigênio, gás carbônico, vapor d'água), controlados conforme a necessidade da cultura. Adicionalmente é provida iluminação artificial com lâmpadas, preferencialmente do tipo diodo-led para suprir fótons de luz com intensidade luminosa e comprimentos de onda específicos para maximizar as taxas fotossintéticas, permitindo elevar as taxas de assimilação do carbono e subsequentemente seu sequestro em biomassa vegetal.

Desse modo, o biorreator do presente modelo de utilidade pode ser utilizado como um sistema de produção fotoautotrófico, ou seja, um sistema no qual a planta cresce sem fonte de carboidratos no meio nutriente, sendo que o ambiente é enriquecido com alta radiação fotossintética e com alta concentração de gás carbônico, e consequentemente, resultando em altas taxas de crescimento e de produtividade e sobrevivência das plantas.

A micropropagação vegetativa realizada no biorreator do presente modelo de utilidade, quando comparada à produção de mudas em jardins clonais, possibilita um melhor controle das condições microclimáticas e nutricionais da

cultura, por meio de suprimento ótimo e contínuo de nutrientes e reguladores do crescimento; renovação da atmosfera da cultura com enriquecimento de gases; mudança e adequação do meio nutritivo de acordo com a demanda da planta em seus diferentes estágios de desenvolvimento e controle de microrganismos. A produção de mudas clonais de espécies e clones recalcitrantes é um entrave na propagação convencional porque o rejuvenescimento e/ou revigoração das matrizes nem sempre é alcançado. Além disso, a micropropagação vegetativa possibilita a automatização do fluxo de produção, o que reduz a necessidade de áreas extensas de canaletes nos jardins clonais, permitindo maior produção de microestacas em espaço reduzido de laboratório e com maior eficiência no uso de energia e mão de obra empregada na multiplicação das plantas. Adicionalmente, a micropropagação vegetativa permite a otimização dos aspectos operacionais no laboratório, uma vez que as plântulas são produzidas em grandes lotes e com menor manuseio do material vegetal, aumentando, portanto, a confiabilidade quanto à pureza e limpeza dos clones multiplicados.

Como mostrado nas Figuras 1 e 2, o biorreator (1) do presente modelo de utilidade compreende um recipiente superior (2) para o material a ser propagado e um recipiente inferior (3) para o meio nutriente destinado à imersão do material em propagação vegetativa. Os recipientes (2) e (3) têm formato adequado para maximizar o aproveitamento do espaço no ambiente destinado à micropropagação, por exemplo, forma de caixa

15
substancialmente retangular ou cúbica, preferencialmente de caixa retangular. As paredes dos recipientes (1) e (2) são transparentes e feitas de material adequado não só para permitir a passagem de luz como também para responder positivamente aos testes de funcionalidade biológica e de resistência estrutural e térmica, por exemplo, material acrílico, de polietileno, de polipropileno, de policarbonato e vidro, preferencialmente com elevada resistência mecânica.

10 O recipiente superior (2) é provido de difusores de gases, fabricados em material apropriado, por exemplo, metal ou plástico, entre o recipiente superior e o ambiente externo do biorreator para permitir trocas gasosas da cultura vegetal com o ambiente externo e também para
15 permitir o enriquecimento uniforme do recipiente superior com gás carbônico injetado pela tampa superior. Os difusores são encaixados sob pressão em furos com anel de vedação de silicone no lado interno da tampa do reservatório superior e, adicionalmente, podem ser
20 substituídos por outros de maior vazão de gases, conforme a necessidade do manejo da atmosfera interna do recipiente.

O recipiente superior (2) é provido com dois ou mais pontos (4) de injeção ou de drenagem de ar, oxigênio, gás carbônico e qualquer substância gasosa que deva ser
25 controlada para possibilitar condições aéreas ideais para a propagação vegetativa. Os ditos pontos (4) estão localizados na tampa (5) do recipiente superior, também visando evitar perda de espaço lateral entre os biorreatores colocados em paralelo sobre prateleiras, e são

16

concretizados na forma de orifícios providos de meios (6) de conexão, por exemplo, por engate, preferencialmente rosqueados, de tubulações transparentes de gases, sendo ditos meios feitos de material resistente às condições de esterilização em autoclave. Preferencialmente, os meios (6) possuem duplo travamento com anel de silicone para vedação do engate entre os recipientes superior e inferior.

No interior do recipiente superior (2) é disposto um suporte (7), feito preferencialmente de uma tela de aço inox, com moldura em material polimérico, por exemplo, nylon, para permitir a troca de telas de diferentes malhas. Preferencialmente, o suporte (7) é provido de hastes, sendo uma centralizada e a outra moldada na tela, para facilitar a remoção de toda a cultura vegetal sobre a tela após o ciclo de cultivo. É importante observar que, de acordo com o presente modelo de utilidade, de preferência, o suporte (7) compreende uma tela de inox delgada, com diferentes especificações de fios (por exemplo, nº 6, nº 8, nº 10) e espessura de malhas (por exemplo, nº 24, nº 26, nº 28) e sem flanges inferiores, ditas telas sendo intercambiáveis para permitir colocação de diferentes tipos de materiais vegetal (por exemplo, segmentos nodais, ápices caulinares, caules isolados, brotos isolados, touças de multibrotações, tufo de multibrotações).

A tampa (5) é posicionada e travada sobre o recipiente (2), através de meios (8), de modo estanque para evitar contaminação e possibilitar o adequado funcionamento de abastecimento e drenagem do meio nutriente líquido para e do recipiente (2) para execução dos períodos de imersão. Do

mesmo modo também são providos meios (9) de posicionamento e travamento do recipiente (2) sobre o recipiente (3). Preferivelmente, os meios de posicionamento e travamento (8) e (9) são providos de anel de vedação, 5 preferencialmente em silicone, e presilhas externas deslizantes em trilho injetado no recipiente superior (meios (8)) e no recipiente inferior (meios (9)). As presilhas externas de travamento de segurança entre as tampas dos recipientes superior e inferior, adicionalmente 10 permite o transporte do conjunto integrado, de um local para outro, sem risco de desacoplamento entre os recipientes. Também deve ser observado que as presilhas possuem características de duplo travamento ou duplo efeito que conferem ao biorreator do presente modelo de utilidade 15 seguintes vantagens: (1) desnecessidade de pressionar os dois recipientes para vedação do dreno; (2) segurança no transporte do conjunto evitando riscos de acidente com a separação dos recipientes; (3) duplo estágio de travamento entre os reservatórios, sendo o primeiro antes da 20 autoclavagem do conjunto recipientes e meio de cultura e o segundo após autoclavagem dos mesmos.

Adicionalmente, o recipiente inferior (3) possui uma entrada/dreno (10) para ar comprimido para a realização da movimentação pneumática do meio nutriente líquido entre os 25 recipientes (2) e (3). Essa movimentação pneumática é proporcionada por um temporizador (não mostrado) que é acionado por uma válvula solenoide (não mostrada), alternando os períodos de imersão (transferência do meio líquido para o recipiente (2) por aumento da pressão no

18

recipiente (3)) e de ausência de imersão (transferência do meio líquido para o recipiente (3) por redução da pressão neste recipiente).

Todas as peças dos recipientes superior (2) e inferior (3), incluindo tampas, presilhas, hastes e molduras de telas são injetadas em resinas de polycarbonato, ou material polimérico equivalente, translúcido e liso, com propriedades adequadas de resistência para a realização de sucessivas autoclavagens a 121°C e 1 atm, por 40 min, por exemplo, em condições normatizadas de temperatura e pressão e duração. É importante mencionar que o tipo de material polimérico, preferencialmente polycarbonato, utilizado deve ser tal que proporcione a redução de formação de bolhas, confira maior resistência às altas pressões de injeção e resulte em menores deformações estruturais nas variações de temperatura e pressão, durante o tempo de injeção e tempo de recalque no processo de fabricação.

O biorreator do presente modelo de utilidade é dimensionado de forma apropriada para permitir a eficiente micropropagação vegetativa de espécies arbóreas, preferivelmente de eucalipto, enquanto é maximizado o aproveitamento de espaço do ambiente de micropropagação. Por exemplo, o biorreator pode, preferencialmente, ter as dimensões de 300 mm comprimento x 200 mm largura x 250 mm de altura total.

Todas as publicações e pedidos de patente mencionados na presente descrição são indicativos do nível daqueles especialistas na técnica ao qual o presente modelo de utilidade se refere. Todas as publicações e pedidos de

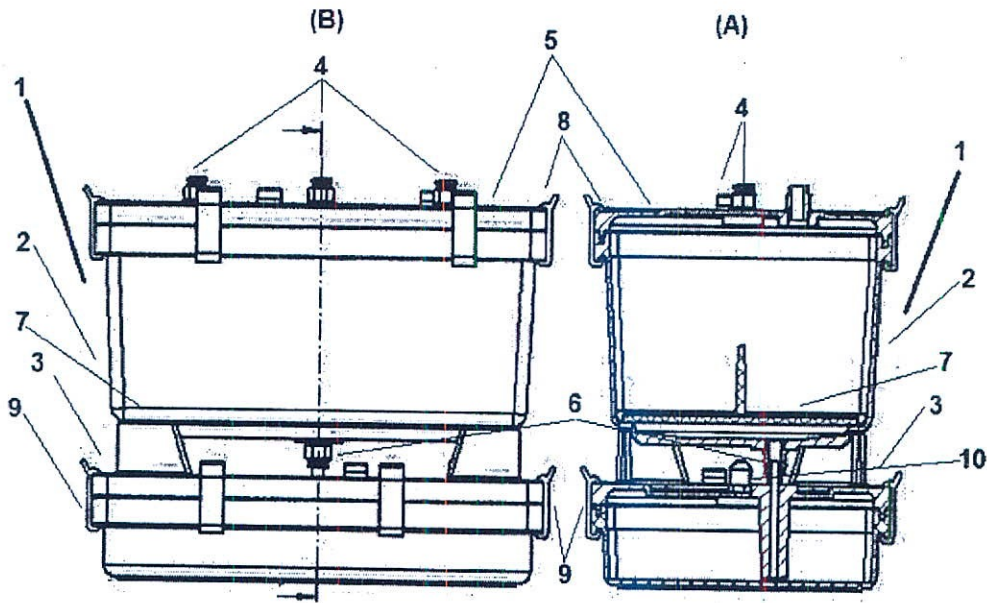
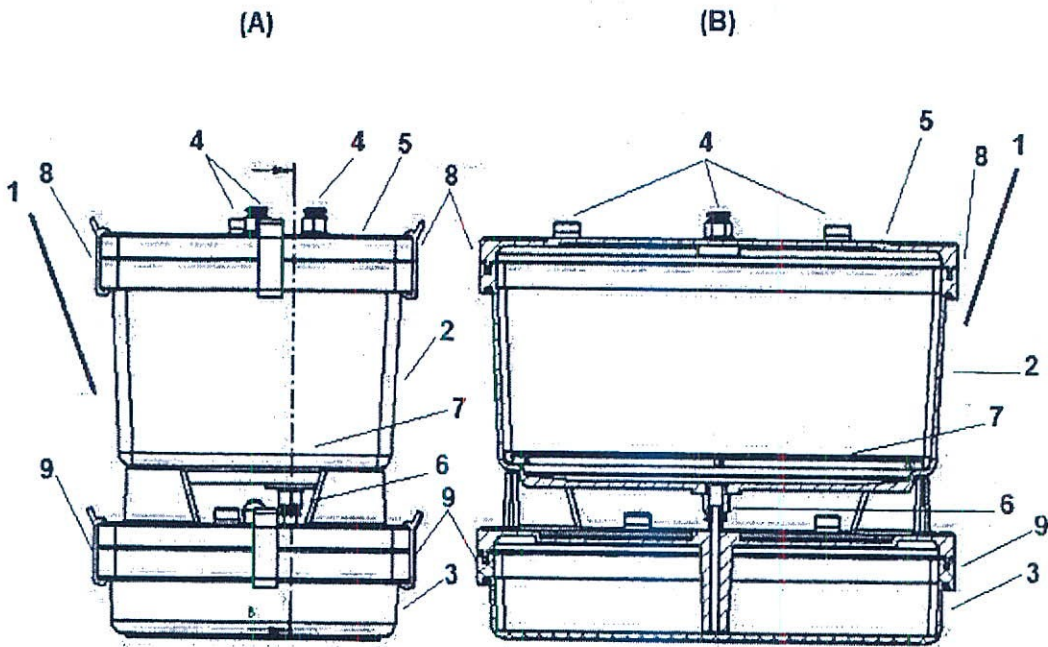
patente são aqui incorporados a título de referência na mesma extensão como se cada publicação individual ou cada pedido de patente fosse especificamente e individualmente indicado para ser incorporado a título de referência.

- 5 Apesar de certas concretizações terem sido descritas, elas foram apresentadas como um modo exemplificativo somente, e não há intenção de limitar o escopo do presente modelo de utilidade. As reivindicações que acompanham esta descrição e suas equivalentes são consideradas como
- 10 cobrindo tais formas ou modificações na medida em que elas podem estar dentro do escopo e espírito do presente modelo de utilidade.

REIVINDICAÇÃO

1. Biorreator para cultivo in vitro de plantas, do tipo de imersão temporária caracterizado por compreender:
 - i. um recipiente superior com paredes transparentes para o material em propagação, dito recipiente superior sendo provido de:
 - (a) difusores de troca gasosa com o ambiente externo,
 - (b) umidificador (12), e
 - (c) iluminação artificial (14), preferencialmente do tipo LED;
 - ii. um recipiente inferior com paredes transparentes para o meio nutriente líquido, tendo uma bandeja e um ponto de entrada de água e/ou meio nutriente, localizado no fundo do dito recipiente inferior;
 - iii. pontos de injeção/retirada de ar/oxigênio/gás carbônico localizados na tampa transparente que posiciona e veda o recipiente superior;
 - iv. ponto de injeção adicional de gás carbônico com tubo gotejador, próximo ao fundo do dito recipiente superior;
 - v. meios de conexão entre os recipientes superior e inferior para o abastecimento/drenagem do meio nutriente para e do recipiente superior;
 - vi. suporte de tela para o material em propagação, com possibilidade de troca de telas de diferentes malhas;

- 21
- vii. meios de posicionamento e travamento da tampa para fechamento hermético do recipiente superior;
- viii. meios de posicionamento e travamento do recipiente superior para fechamento hermético sobre o
- 5 recipiente inferior; e
- ix. meios de movimentação do meio nutriente líquido entre o dito recipiente superior e dito recipiente inferior.



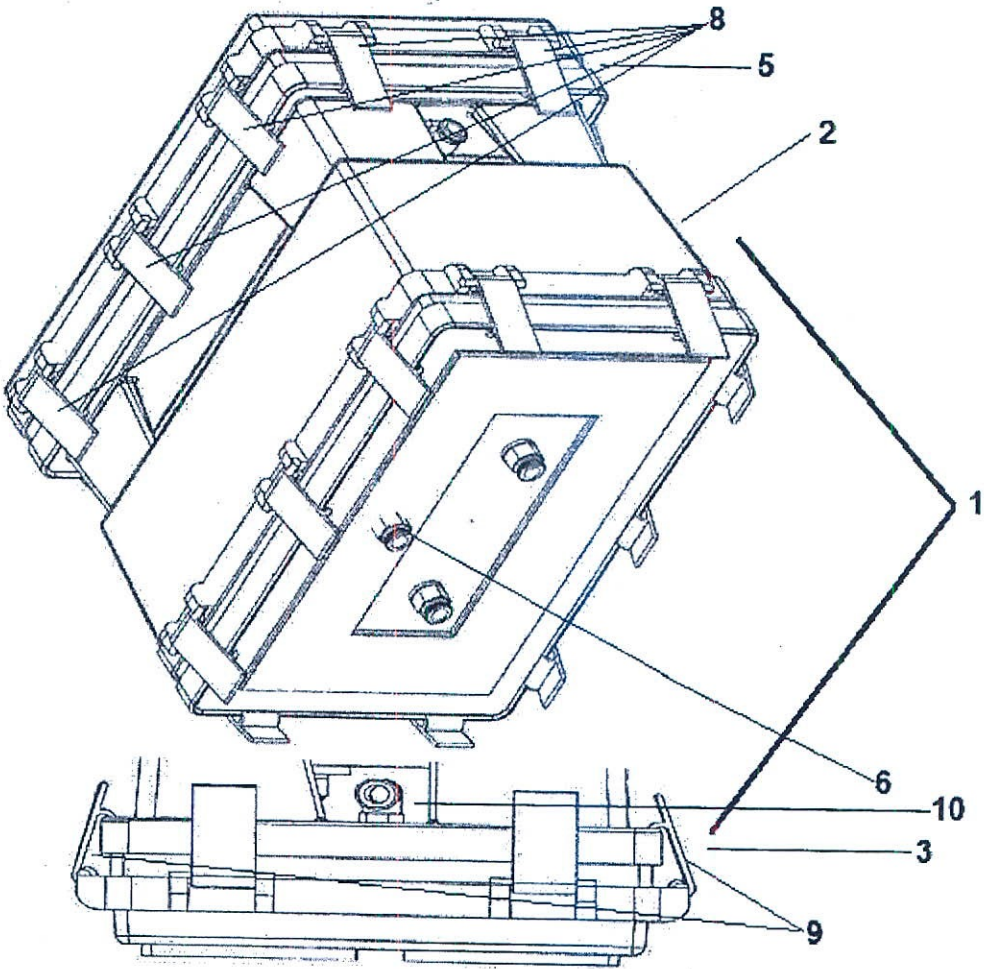


FIGURA 3

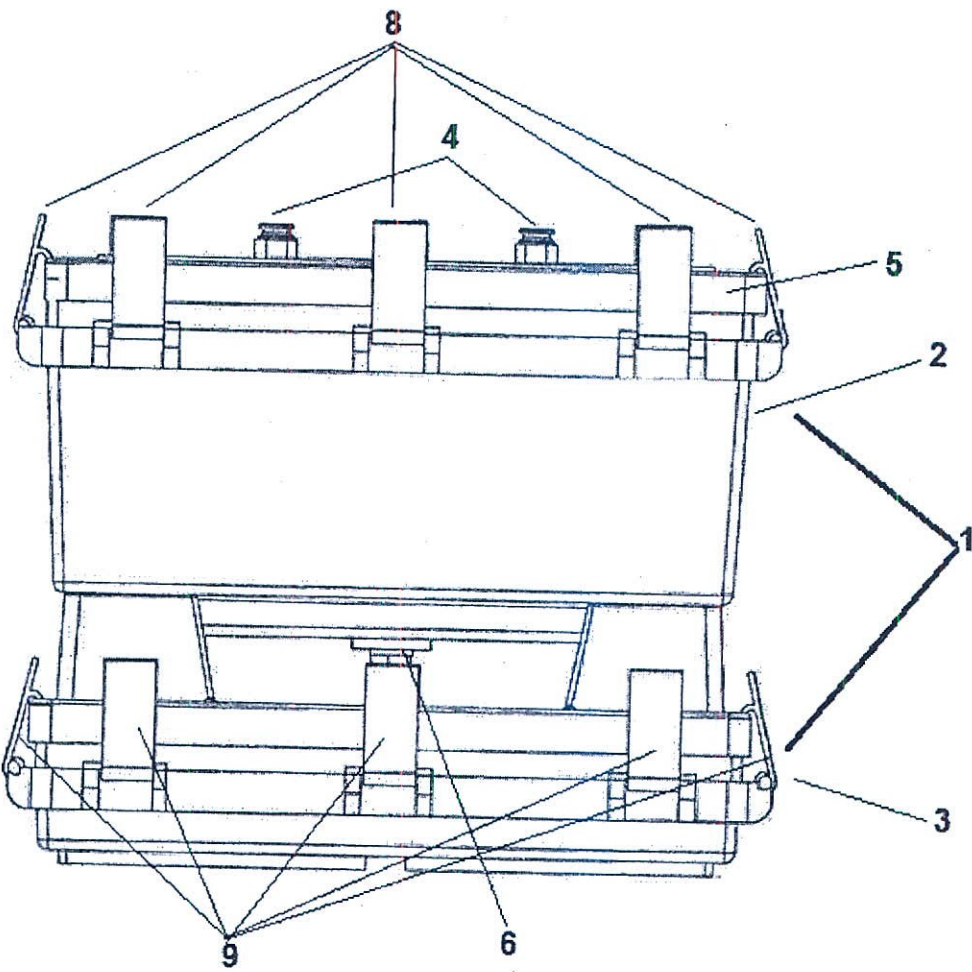


FIGURA 4

25

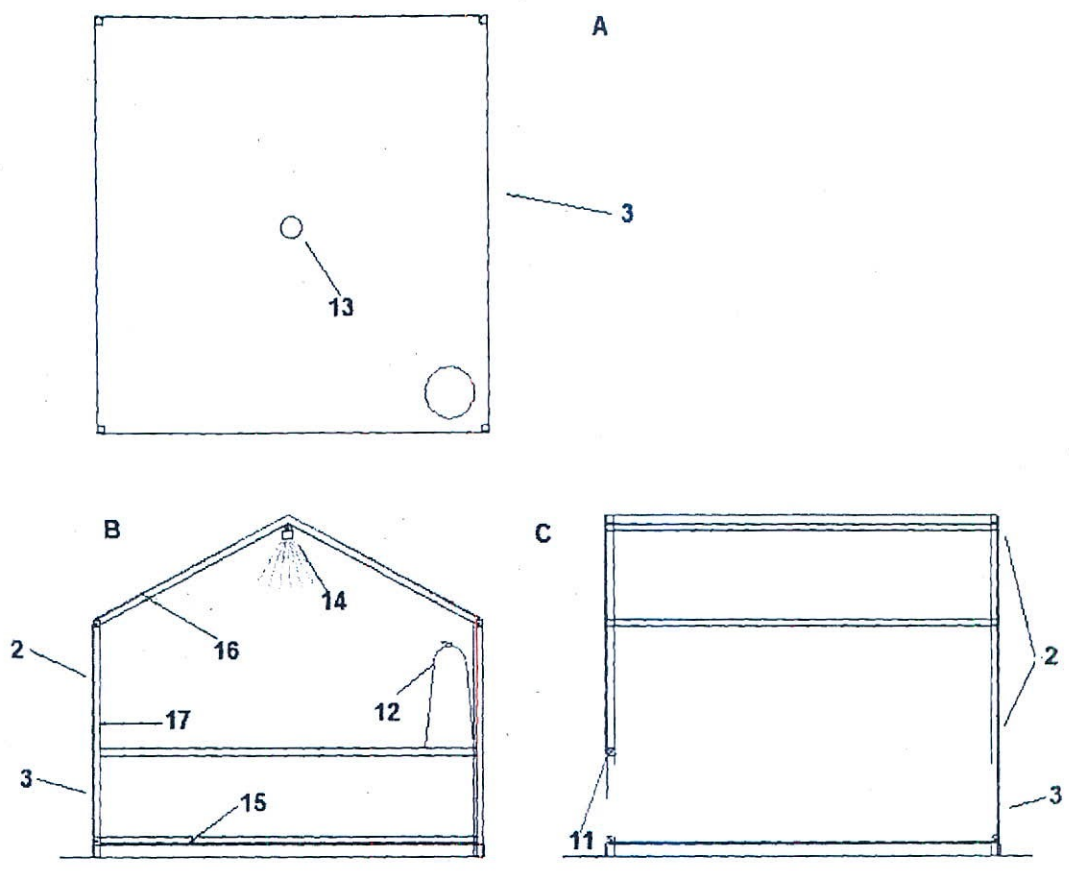


FIGURA 5

Rio de Janeiro, May 05, 2016

INTERNATIONAL BUREAU OF WIPO

34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20
Switzerland

Re.: PCT Patent Application No. PCT/BR2013/000483
Title: “Bioreactor for *in vitro* plant culture”
In the name of Fibria Celulose S.A.
Our ref.: P2673 00634101.045273 – GFV/ISF/ANA

**REQUEST FOR RECORDING OF CHANGE IN THE ADDRESS OF THE
APPLICANT PURSUANT TO PCT RULE 92bis.1(a)**

Dear Sirs/Ladies:

Pursuant to Rule 92bis of the Regulations under the PCT, we kindly request you to proceed with a record of change concerning applicant’s address.

Applicant Name: **Fibria Celulose S.A**
Old Address: Alameda Santos, 1.357 - 6º Andar
Cerqueira César – CEP: 01419-001
São Paulo - SP
Brasil

New Address: Rua Fidêncio Ramos, 302 - 3º Andar – Torre B
Vila Olímpia – CEP: 04551-010
São Paulo - SP
Brasil

1



It is respectfully requested that this change be recorded and all Offices and PCT Authorities notified as needed.

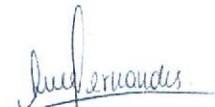
As the 30 months deadline for entering the national phases ends on **MAY 11, 2016**, an official confirmation as soon as possible would be highly appreciated.

We also look forward to receiving copies of PCT/IB/306 with the record of change mentioned above.

Please do not hesitate to contact us in case you need any further information/documents.

In the meantime, we remain


Ana Cristina Müller


Inês Fernandes



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/BR2013/000483
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A01C1/02 (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																	
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A01C1/02 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPODOC																	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>US 6067750,A 30 maio 2000 (2000-05-30)</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 4216741 A (HAZLETON SYST) 12 agosto 1980 (1980-08-12)</td> <td>**</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>ES 2002927 A6 (L S A AS [ES]) 01 outubro 1988 (1988-10-01)</td> <td>**</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>FR 2779028 A1 (BASLES DANIEL [FR]) 03 dezembro 1999 (1999-12-03)</td> <td>**</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	US 6067750,A 30 maio 2000 (2000-05-30)	1	A	US 4216741 A (HAZLETON SYST) 12 agosto 1980 (1980-08-12)	**	A	ES 2002927 A6 (L S A AS [ES]) 01 outubro 1988 (1988-10-01)	**	A	FR 2779028 A1 (BASLES DANIEL [FR]) 03 dezembro 1999 (1999-12-03)	**
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
A	US 6067750,A 30 maio 2000 (2000-05-30)	1															
A	US 4216741 A (HAZLETON SYST) 12 agosto 1980 (1980-08-12)	**															
A	ES 2002927 A6 (L S A AS [ES]) 01 outubro 1988 (1988-10-01)	**															
A	FR 2779028 A1 (BASLES DANIEL [FR]) 03 dezembro 1999 (1999-12-03)	**															
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.																	
* Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family													
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																
Date of the actual completion of the international search 17/02/2014		Date of mailing of the international search report 14 04 14															
Name and mailing address of the ISA/ Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.															

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/BR2013/000483

US 6067750 A	2000-05-30	TW 471253 U	2002-01-01
-----	-----	-----	-----
US 4216741 A	1980-08-12	CA 1116456 A1	1982-01-19
		CH 643984 A5	1984-07-13
		DE 3007946 A1	1980-09-18
		FR 2450634 A1	1980-10-03
		GB 2048043 A	1980-12-10
		JP S55150826 A	1980-11-25
		JP H0145339 B2	1989-10-03
-----	-----	-----	-----
ES 2002927 A6	1988-10-01	NONE	
-----	-----	-----	-----
FR 2779028 A1	1999-12-03	FR 2779027 A1	1999-12-03
		FR 2779028 B1	2000-08-18
-----	-----	-----	-----

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL

Depósito internacional Nº

PCT/BR2013/000483

A. CLASSIFICAÇÃO DO OBJETO

A01C1/02 (2006.01)

De acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou conforme a classificação nacional e IPC

B. DOMÍNIOS ABRANGIDOS PELA PESQUISA

Documentação mínima pesquisada (sistema de classificação seguido pelo símbolo da classificação)

A01C1/02

Documentação adicional pesquisada, além da mínima, na medida em que tais documentos estão incluídos nos domínios pesquisados

Base de dados eletrônica consultada durante a pesquisa internacional (nome da base de dados e, se necessário, termos usados na pesquisa)

EPODOC

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações Nº
A	US 6067750.A 30 maio 2000 (2000-05-30)	1
A	US 4216741 A (HAZLETON SYST) 12 agosto 1980 (1980-08-12)	**
A	ES 2002927 A6 (L S A AS [ES]) 01 outubro 1988 (1988-10-01)	**
A	FR 2779028 A1 (BASLES DANIEL [FR]) 03 dezembro 1999 (1999-12-03)	**

☐ Documentos adicionais estão listados na continuação do quadro C☒ Ver o anexo de famílias das patentes

* Categorias especiais dos documentos citados:

- "A" documento que define o estado geral da técnica, mas não é considerado de particular relevância.
- "E" pedido ou patente anterior, mas publicada após ou na data do depósito internacional.
- "L" documento que pode lançar dúvida na(s) reivindicação(ões) de prioridade ou na qual é citado para determinar a data de outra citação ou por outra razão especial.
- "O" documento referente a uma divulgação oral, uso, exibição ou por outros meios.
- "P" documento publicado antes do depósito internacional, porém posterior a data de prioridade reivindicada.

- "T" documento publicado depois da data de depósito internacional, ou de prioridade e que não conflita como depósito, porém citado para entender o princípio ou teoria na qual se baseia a invenção.
- "X" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada nova e não pode ser considerada envolver uma atividade inventiva quando o documento é considerado isoladamente.
- "Y" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada envolver atividade inventiva quando o documento é combinado com outro documento ou mais de um, tal combinação sendo óbvia para um técnico no assunto.
- "&" documento membro da mesma família de patentes.

Data da conclusão da pesquisa internacional

17/02/2014

Data do envio do relatório de pesquisa internacional:

140414

Nome e endereço postal da ISA/BR

INPI

INSTITUTO NACIONAL DA
PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Rua São Bento nº 1, 17º andar
cep: 20090-010, Centro - Rio de Janeiro/RJ
+55 21 3037-3663

Nº de fax:

Funcionário autorizado

Carlos Vinícius Garcia Barreto

Nº de telefone:

+55 21 3037-3493/3742

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL
Informação relativa a membros da família de patentes

Depósito internacional Nº

PCT/BR2013/000483

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
US 6067750 A	2000-05-30	TW 471253 U	2002-01-01
US 4216741 A	1980-08-12	CA 1116456 A1	1982-01-19
		CH 643984 A5	1984-07-13
		DE 3007946 A1	1980-09-18
		FR 2450634 A1	1980-10-03
		GB 2048043 A	1980-12-10
		JP S55150826 A	1980-11-25
		JP H0145339 B2	1989-10-03
ES 2002927 A6	1988-10-01	Nenhum	
FR 2779028 A1	1999-12-03	FR 2779027 A1	1999-12-03
		FR 2779028 B1	2000-08-18

Specification of the Utility Model "BIOREACTOR FOR IN VITRO CULTIVATION OF PLANTS"

FIELD OF THE INVENTION

The present utility model relates to a bioreactor of the temporary immersion type for in vitro cultivation of plants, preferably a bioreactor used in a production system for eucalyptus micropiles on a large scale and high productivity.

FUNDAMENTALS OF THE UTILITY MODEL

The bioreactors used in the production technique of plant seedlings are equipment for the aseptic cultivation of plants in a permanent or temporary immersion system in a liquid or semi-solid nutrient medium. In general, a bioreactor comprises a set of containers containing compartments and accessories for the optimal management of key growth factors to maximize the performance of biological reactions. The use of bioreactors in the production of plants for the temporary immersion technique makes it possible to achieve higher growth rates and multiplication of crops through the continued use of liquid nutrient medium, preferably supplemented with the injection of air and provided with artificial lighting.

The demand for forest products and the need for good quality raw material have required high investments in the forestry sector, resulting in significant advances in the production process and in the techniques used which at have evolved from conventional cutting to modern vegetative propagation or micropropagation.

Consequently, genetic improvements and biotechnology have required the development of new equipment for the production of in vitro seedlings, aimed at enhancing the benefits of micropropagation and reduction of their inherent difficulties. Among these devices, bioreactors stand out as the realization of

a controlled environment for cultivation, for the temporary or permanent immersion of cells, buds, embryos or any appropriate type of propagules for the creation of species of plants, for example, forestry on a commercial scale. In particular, the automation and the use on a large scale, of cultivation in a liquid medium for the in vitro propagation of plants has been considered the best strategy in overcoming the barriers imposed by the high cost of crop production in semi-solid media (gelled).

Bioreactors are primarily categorized according to the method of agitation and construction of the container, including aerator stirrer, rotating drum, rotating filter, bubble trap, simple or combined aeration and bubble column, air lifting component, porous membrane to oxygen, over-aeration component and type of temporary immersion.

Temporary immersion systems include bioreactors, which are the essential component of these systems, characterized by the size of the container, type of substrate culture, existence of computerized or simple immersion control timer, and further comprise a peristaltic pump, air pump or mechanical movement of the container to displace the liquid medium, the possibility of recycling the liquid medium and separation (or embedding) of the liquid medium reservoir relative to the cultivation container. Common features of bioreactors include transparent walls for the passage of light and verification of the plant development process, and the possibility of being sterilized in autoclaves.

The two main types of micropropagation bioreactors for plant cells and tissues in a liquid nutrient medium are the RITA type (Automated Temporary Immersion Container) and BIT type (Temporary Immersion Bioreactor).

The RITA type is characterized by an array of containers for the material to be propagated and for the liquid nutrient medium, and the overlapping operation and control of the factors influencing the process, performed in an automated manner. The main advantage of the RITA type is the maintenance of stable and uniform conditions throughout the process, while the main disadvantage is its complex and costly operation.

The simplest and least costly BIT type has disposal containers, side by side, and the duration of immersion periods with the absence of the liquid medium in the micropropagation container, wherein the alternating of these periods is performed by a common control timer. However, the BIT type, despite being less expensive and having a simpler operation, requires closer monitoring of the micropropagation process, which is not automated, in addition to requiring a much larger space for the tiling of the containers.

Exemplary automated and non-automated bioreactors are described, for example, in document US20040209346 which shows an intermittent immersion bioreactor consisting of a central pivoted mechanism whose operation is automated. Document WO2012061950 details an automated bioreactor to obtain a kind of Antarctic species which requires special and well controlled conditions for micropropagation. Document WO2012044239 describes a bioreactor consisting of a container comprising an upper compartment (for plant tissue to be propagated), and a lower compartment (for liquid nutrient medium) with the liquid being transported through a gas injection compartment, from the lower compartment to the upper compartment, in accordance with the programming of the immersion period. Document WO2012156440 describes a temporary immersion bioreactor system, in which each bioreactor is composed of two containers, the upper being intended for the material to be propagated, and the lower for the liquid nutrient medium which is transported to the upper container for the completion of the soaking cycle, with the latter system characterized by maximum utilization of space of the micropropagation environment. Despite the advances brought about by these bioreactors known in the state of the art, certain disadvantages can be perceived that negatively influence micropropagation, such as greater difficulty in placement / removal of the material to be propagated, less efficient movement of nutrient medium and fewer points of injection / withdrawal of gases, among other disadvantages.

Thus, we verify the need for a temporary immersion bioreactor in a liquid nutrient medium supplemented with air injection and carbon dioxide enrichment, providing photosynthetically active radiation to the container containing

the propagated material, and that this bioreactor should be appropriate for micropropagation of forest plants, and have a shape and dimensions which maximize the space environment where the vegetative propagation is carried out, with simultaneous ease of access to the container of the material to be propagated.

SUMMARY OF THE UTILITY MODEL

The present utility model aims to provide a custom bioreactor to meet physiological demands for the vegetative propagation of forest species, preferably eucalyptus, allowing intensive production in a good standard of quality, uniformity and vigor of produced shoots, greater rooting of micropiles and better acclimatization, and early yield of clonal seedlings for industrial use on a large scale.

The present utility model is embodied in the form of a bioreactor (1) for in vitro cultivation of plants, of the temporary immersion type comprising: (i) an upper container (2) with transparent walls for the propagated material, preferably explants of eucalyptus, said container (2) being provided with (a) gas exchange diffuser to the external environment, (b) humidifier (12), and (c) artificial illumination (14), preferably of the LED type; (ii) a lower container (3) with transparent walls for the liquid nutrient medium, having an aluminum tray (15) and a point (13) of entry for water and / or nutrient broth, preferably located in the center of the bottom of said container (3); (iii) points (4) of injection / removal of air / oxygen / carbon dioxide located in the transparent lid (5); (iv) point (11) additional injection of carbon dioxide with drip line close to the bottom of said upper container (2); (v) means (6) for hermetic connection between the upper and lower containers for supply / drainage of the nutrient medium to and from the top container; (vi) screen support (7) for the material to be propagated, with the possibility of exchanging screens of different meshes; (vii) means (8) for locking the lid for hermetic closure of the upper container; (viii) means (9) for locking of the top container for hermetic closure over the lower container; and (ix) means (10) of pneumatic movement of the

liquid nutrient medium between said upper container and said lower container.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figure 1 shows a bioreactor according to the present utility model assembled, in (A) right-side view and in (B) front view.

Figure 2 shows a bioreactor according to the present utility model assembled, in (A) left side view and in (B) rear view.

Figure 3 shows a bioreactor according to the present utility model disassembled, in perspective, view seen from bottom to top.

Figure 4 shows a bioreactor according to the present utility model disassembled, in perspective, view seen from the front.

Figure 5 schematically illustrates the bioreactor of the present utility model, with: (A) showing a bottom view of the container (3), (B) showing a front view of the bioreactor, and (C) showing a side view.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

There are various types of temporary immersion bioreactors on the market; the main ones being the RITA type (Automated Temporary Immersion Container), BIT type (Temporary Immersion Bioreactor), SIT type (Temporary Immersion System) and BioMint (Temporary Immersion Bioreactor) with a common, generally pneumatic operating concept of temporary immersion of the plants in the liquid nutrient medium. The great difference between them lies in the shape of the compartments for the plants and for storage of the liquid medium. In most of them, the plant growing containers are separated and individualized from the liquid medium storage compartment.

In the bioreactor, object of this utility model, the containers are coupled, one on top of the other, on a single platform, allowing reduction space. The great advantage of the bioreactor, BIT type, of the present utility model is its custom dimensions for the growth habit of tree species, mainly focusing on eucalyptus plantations. Furthermore, this bioreactor has

unique features, such as valves and diffuser nozzles, to allow gas exchange (air, oxygen, carbon dioxide, water vapor), to be controlled as needed by the culture. Additionally, artificial lighting is provided with lamps, preferably LED-type, to supply photons of light with light intensity and specific wavelengths to maximize photosynthetic rates, allowing increased carbon assimilation rates and subsequently their sequestration in plant biomass.

Thus, the bioreactor of this utility model can be used as a photoautotrophic production system, i.e., a system in which the plant grows without a carbohydrate source in the nutrient medium, where the environment is enriched with high photosynthetic radiation and high carbon dioxide concentration, thus resulting in higher growth rates and productivity, and higher survival of the plants.

The micro vegetative propagation carried out in the bioreactor of this utility model, compared to the production of seedlings in clonal gardens, enables better control of the microclimate and nutritional conditions of culture through a great and continuous supply of nutrients and growth regulators; renewal of the culture atmosphere with enrichment of gases; change and adaptation of the nutrient medium according to the demand of the plant at different stages of development, and control of microorganisms. The production of clonal seedlings of species and recalcitrant clones is an obstacle in conventional propagation because rejuvenation and / or reinvigoration of the matrices are not always achieved. Moreover, micro vegetative propagation allows the automation of the production flow, which reduces the need for extensive areas of conduits in clonal gardens, allowing greater production micropiles in reduced laboratory space and with greater efficiency in the use of energy and manpower employed in the multiplication of plants. Additionally, vegetative micropropagation allows the optimizing of operational aspects in the laboratory, since the plantlets are produced in large batches and with less handling of the plant material, thereby increasing the reliability for purity and cleanliness of the multiplied clones.

As shown in Figures 1 and 2, the bioreactor (1) of the present utility model comprises an upper container (2) for the propagated material and a lower container (3) for the nutrient medium destined for immersion of the material in vegetative propagation. The containers (2) and (3) have a suitable format to maximize space utilization in the environment for the micropropagation, for example, in a shape of a substantially rectangular or cubic box, preferably a rectangular box. The walls of the containers (1) and (2) are transparent and made of suitable material, not only to allow the passage of light, but also to respond positively to tests of biological functionality and structural and thermal resistance, for example, acrylic material of polyethylene, polypropylene, polycarbonate and glass, preferably with high mechanical strength.

The upper container (2) is provided with gas diffusers, made of suitable material, for instance metal or plastic, between the upper container and the external environment of the bioreactor to allow gas exchange of the plant culture with the external environment, and also to allow uniform enrichment of the top container with carbon dioxide injected through the top cover. The diffusers are fitted under pressure in holes with silicon gasket O-rings on the inner side of the upper tank lid and additionally may be replaced by other larger gas flows, as required for the management of the internal atmosphere of the container.

The upper container (2) is provided with two or more points (4) of injection or drainage of air, oxygen, carbon dioxide and any gaseous substance that is to be controlled to allow for optimal air conditions for vegetative propagation. Said points (4) are located on the lid (5) of the top container, also aimed at avoiding the loss of lateral space between the bioreactors placed in parallel on shelves, and are achieved in the form of holes provided by means (6) of connection for example, by coupling, preferably threaded, of transparent gas pipes, said means being made from material resistant to sterilization conditions in an autoclave. Preferably, the means (6) have double locking silicone O-rings for sealing the coupling between the upper and lower containers.

Inside the upper container (2) is disposed a support (7), preferably made of a stainless steel screen with a polymeric frame material, for example nylon, to allow the exchange of screens of different meshes. Preferably, the support (7) is provided with rods, and is centralized, and another molded on the screen to facilitate the removal of all plant culture on the screen after the cultivation cycle. It is important to note that, according to the present utility model, preferably the support (7) comprises a thin stainless steel screen with different wire specifications (e.g., n°6, n°8, n°10) and thick mesh (for example, n°24, n°26, n°28) with no lower flanges, said screens being interchangeable to allow placement of different types of plant material (for example, nodal segments, shoot tips, isolated stems, isolated sprouts, multi-cap shoots, multi-sprout tufts).

The lid (5) is positioned and locked on the container (2) in a sealed manner (8) to prevent contamination and to allow the operation of adequate supply and draining of the liquid nutrient medium to and from the container (2) for implementation of immersion periods. Similarly provided are also means (9) for positioning and locking the container (2) onto the container (3). Preferably, the means of positioning and locking (8) and (9) are provided with a sealing ring, preferably silicone, and sliding outer rail tabs injected on the upper container (means (8)) and lower container (means (9)). The outer safety locking tabs between the tops of the upper and lower containers additionally allow transport of the integrated assembly from one location to another without risk of disconnection between the containers. It should also be noted that the tabs have a double-locking characteristic, or double effect, giving the bioreactor of the present utility model the following advantages: (1) no need to press the two containers to seal the drain; (2) safety in all transport avoiding accident risks with the separation of the containers; (3) double-lock stage between the reservoirs, with the first being before the autoclaving assembly containers and culture medium, and the second after the autoclave thereof.

Additionally, the bottom container (3) has an inlet / drain (10) for compressed air for the pneumatic drive for carrying of the liquid nutrient medium from the containers (2) and (3). This

pneumatic drive is provided with a timer (not shown) which is driven by a solenoid valve (not shown), alternating immersion periods (liquid transfer medium to the container (2) by increasing the pressure in the container (3)) and lack of immersion (liquid transfer medium to the container (3) for reducing the pressure in the vessel).

All parts of the upper container (2) and lower container (3) including lids, tabs, rods and screen frames are injected of polycarbonate resins, or equivalent polymeric material, translucent and smooth, with suitable strength properties to withstand successive autoclaving at 121 degrees Celsius and 1 atm for 40 min, e.g., in standardized conditions of temperature, pressure and duration. It is important to mention that the type of polymeric material used, preferably polycarbonate, should be such as to provide a reduction in bubble formation, conferring greater resistance to high injection pressures and resulting in less structural deformation in the temperature and pressure variations during the injection and discharge time in the manufacturing process.

The bioreactor of this utility model is appropriately sized to allow efficient micro propagation of tree species, preferably eucalyptus, while maximizing the use of space of the micropropagation environment. For example, the bioreactor may preferably have the dimensions of 300 mm length x 200 mm width x 250 mm in total height.

All publications and patent applications mentioned in this specification are indicative of the level of those skilled in the art to which the present utility model refers. All publications and patent applications are incorporated herein by reference to the same extent as if each individual publication or patent application were each specifically and individually indicated to be incorporated for ease of reference.

While certain embodiments have been described, they are only shown in an exemplary way, with no intention to limit the scope of the present utility model. The accompanying claims and their equivalents in this description are considered to cover such

forms or modifications as they may be within the scope and spirit of the present utility model.

FIGURE 1

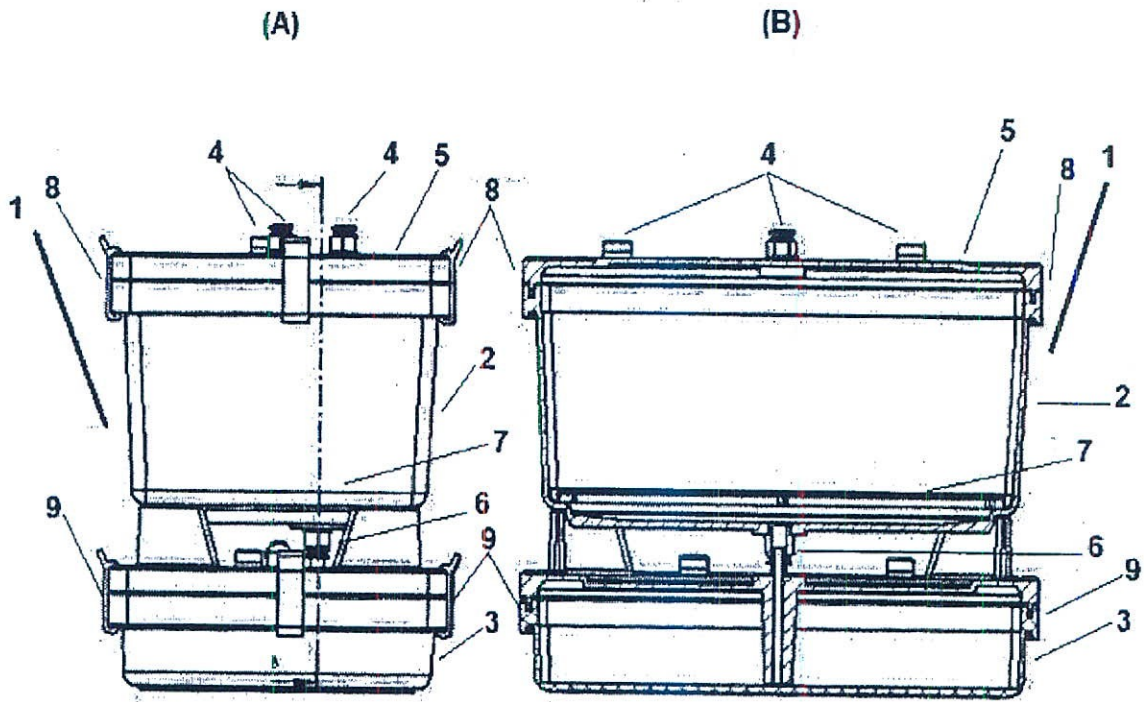


FIGURE 2

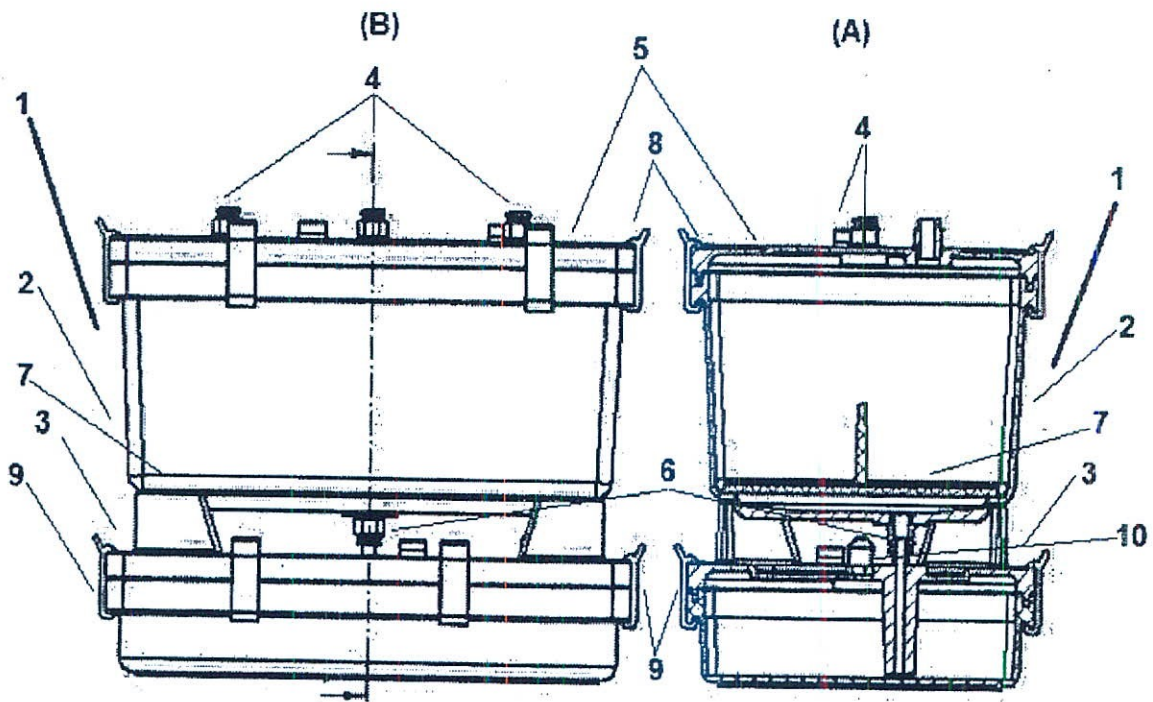


FIGURE 3

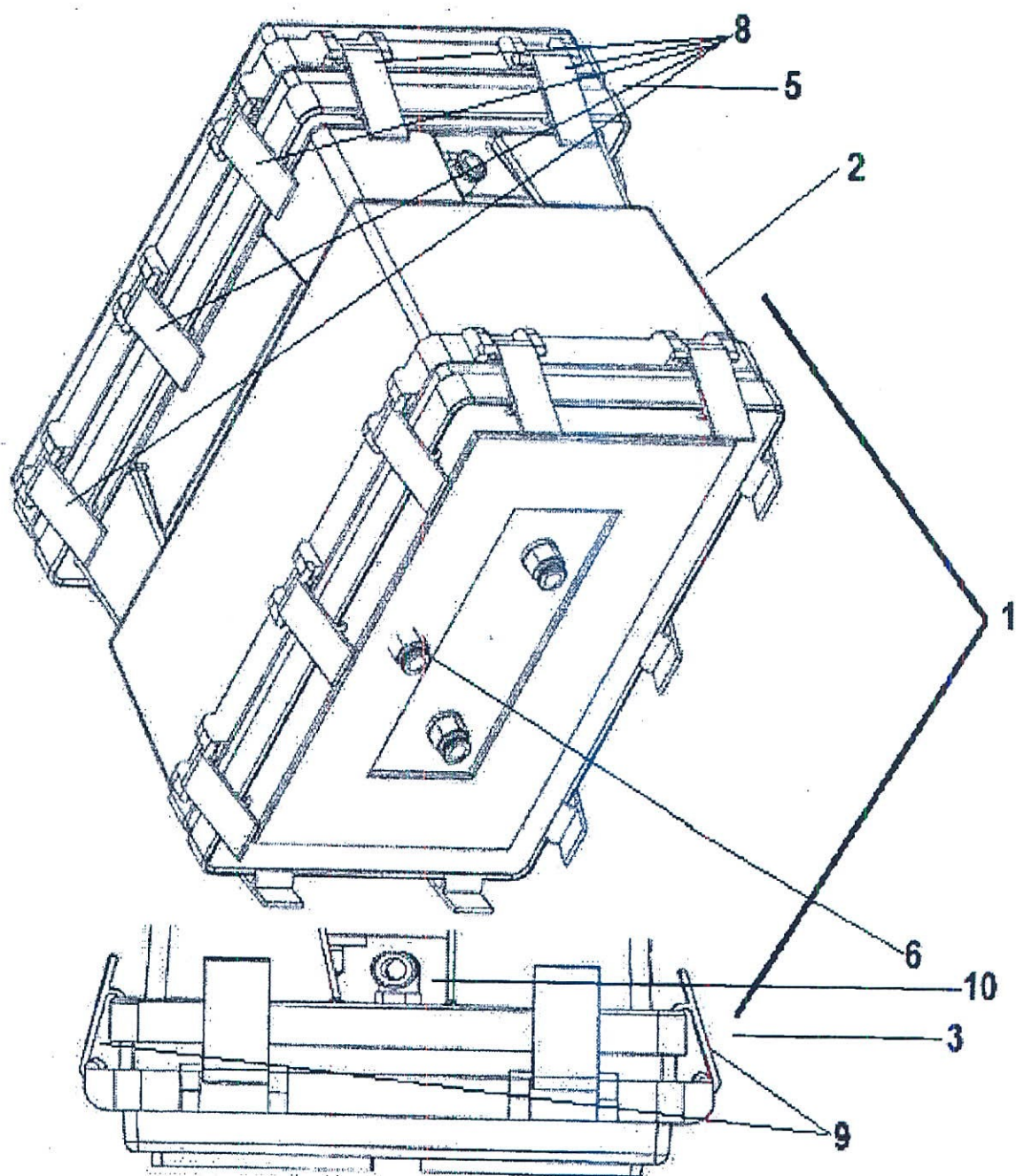


FIGURE 4

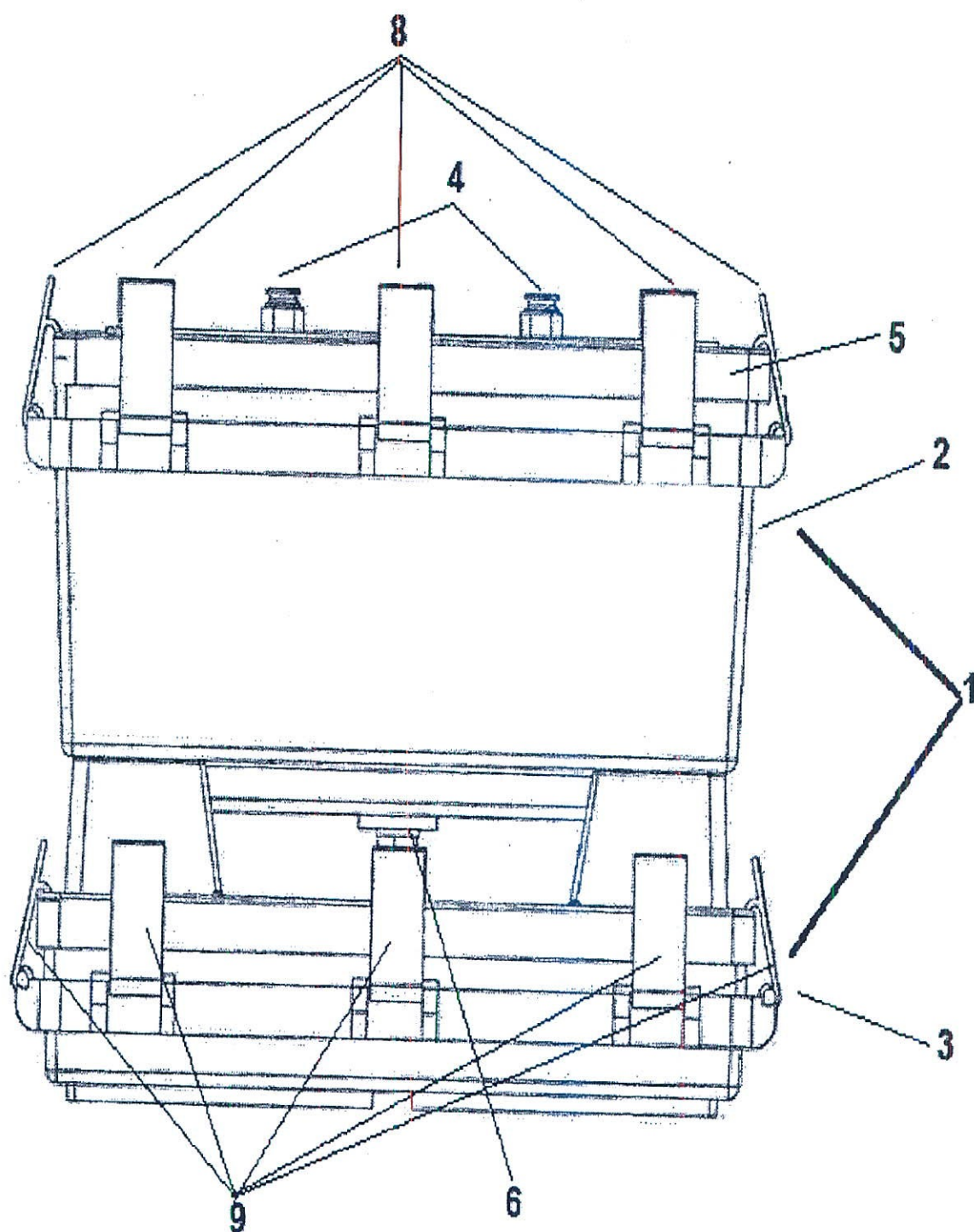
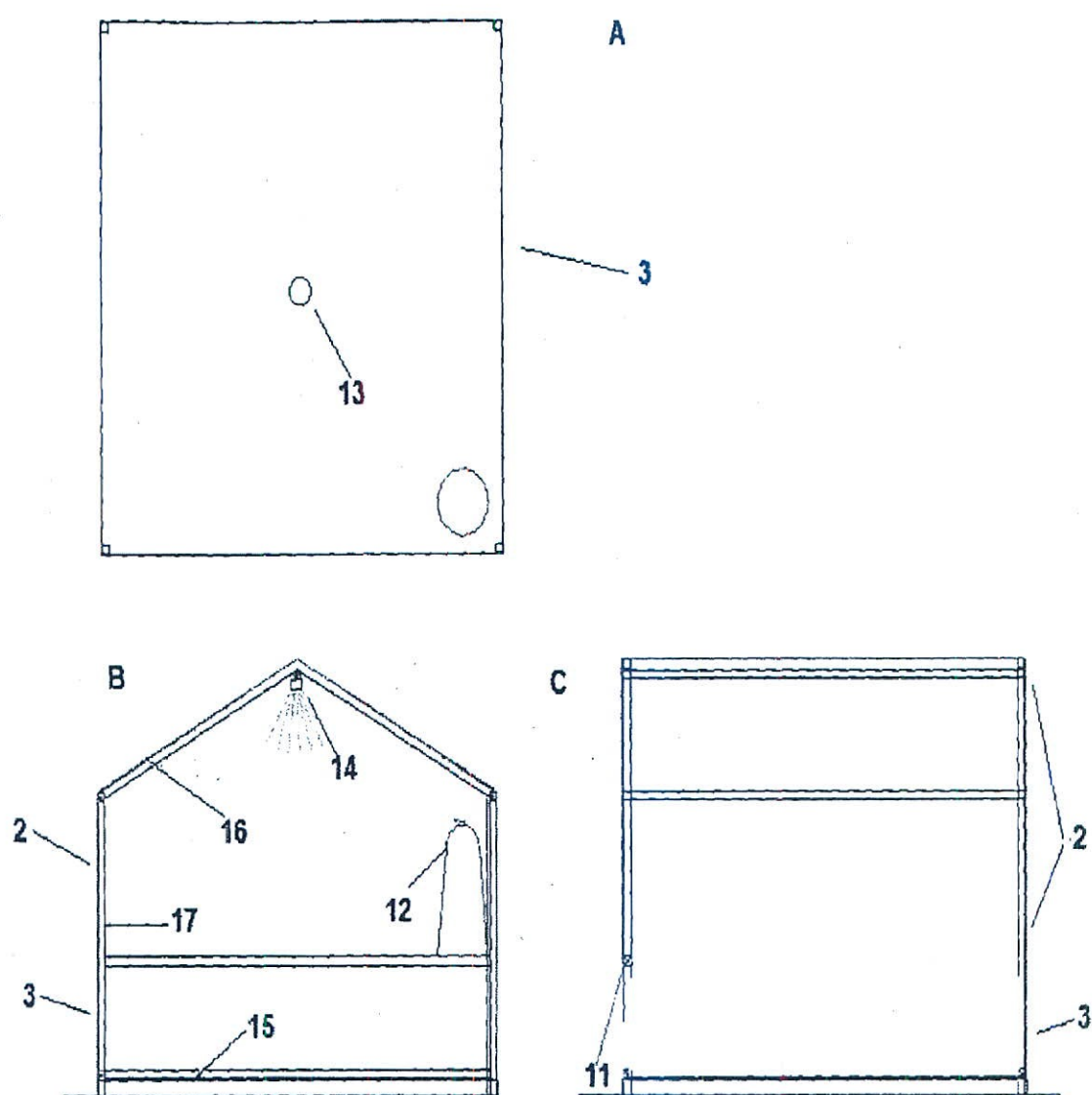


FIGURE 5



ABSTRACT OF THE UTILITY MODEL PATENT**"BIOREACTOR FOR IN VITRO CULTIVATION OF PLANTS"**

The present utility model aims to provide a bioreactor for the in vitro cultivation of plants of the temporary immersion type comprising: (i) an upper container (2) with transparent walls for the material being propagated, preferably explants of eucalyptus, said container (2) being provided with (a) gas exchange diffuser to the external environment, (b) humidifier (12), and (c) artificial illumination (14); (ii) a lower container (3) with transparent walls for the liquid nutrient medium, having an aluminum tray (15) and a point (13) of water entry and/or nutrient medium, located in the bottom of said container (3); (iii) points (4) of injection/removal of air/oxygen/carbon dioxide located in the transparent lid (5); (iv) point (11) of additional injection of carbon dioxide with a drip line, close to the bottom of said upper container (2); (v) means (6) of hermetic connection between the upper and lower containers for supply/drainage of the nutrient medium to and from the upper container; (vi) a screen support (7) for the material to be propagated, with the possibility to exchange screens of different meshes; (vii) means (8) for locking the lid to hermetically close the upper container; (viii) means (9) for locking the lid to hermetically close the lower container; and (ix) means (10) for pneumatic drive of the liquid nutrient medium between said upper container and said lower container.

CLAIMS

1. Bioreactor for in vitro cultivation of plants, of the temporary immersion type comprising:

- i. an upper container with transparent walls for the material to be propagated, said top container being provided with:
 - (a) gas exchange diffuser to the external environment,
 - (b) humidifier (12), and
 - (c) artificial illumination (14), preferably of the LED type;
- ii. a lower container for the liquid nutrient medium, with transparent walls, having a tray and a water entry point and / or nutrient medium point, located in the bottom of said upper container;
- iii. points for injection/removal of air/oxygen/carbon dioxide located in the transparent lid that positions and seals the upper container;
- iv. additional injection point of carbon dioxide with a drip line, near the bottom of said upper container;
- v. means of connection between the upper and lower containers for supply / drainage of the nutrient medium to and from the upper container;
- vi. screen support for the material to be propagated, with the possibility of exchange with screens of different meshes;
- vii. means of positioning and locking of the lid for hermetic closure of the top container;
- viii. means of positioning and locking of the upper container for hermetic closure over the lower container; and
- ix. means of moving the liquid nutrient medium between said upper container and said lower container.

Informe Descriptivo de la Patente de Modelo de Utilidad
"BIORREACTOR PARA CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS"

CAMPO DE LA INVENCION

E presente modelo de utilidad se refiere a un
5 biorreactor de tipo inmersión temporal para cultivo *in vitro*
de plantas, preferentemente a un biorreactor empleado en un
sistema de producción de microesquejes de eucalipto a gran
escala y elevada productividad.

FUNDAMENTOS DEL MODELO DE UTILIDAD

10 Los biorreactores empleados en la técnica de producción
de esquejes de plantas son equipos para el cultivo aséptico
de plantas en régimen de inmersión permanente o temporal en
medio nutriente líquido o semisólido. En general, un
biorreactor comprende un conjunto de recipientes que
15 contienen compartimentos y accesorios para el manejo óptimo
de los principales factores de crecimiento procurando
maximizar el desempeño de las reacciones biológicas. El uso
de biorreactores en la producción de plantas mediante la
técnica de inmersión temporal posibilita la obtención de
20 mayores tasas de crecimiento y de multiplicación del cultivo
por medio del uso continuo de un medio nutriente líquido,
preferentemente complementado con la inyección de aire y
provisto de iluminación artificial.

La demanda de productos forestales y la necesidad de una
25 buena calidad de la materia prima han exigido altos
inversiones en el sector forestal, resultando en avances
considerables en el proceso productivo y en las técnicas
utilizadas que evolucionaron desde el método reproductivo
convencional mediante esquejes hasta la moderna propagación
30 vegetativa o micropropagación.

Consecuentemente, el mejoramiento genético y la biotecnología han requerido el desarrollo de nuevos equipos para la producción de esquejes *in vitro*, procurando potencializar los beneficios de la micropropagación y reducir sus inherentes dificultades. Entre estos equipos, los biorreactores se destacan como la concretización de un ambiente controlado para cultivo, por inmersión temporal o permanente, de células, yemas, embriones o cualquier tipo de plántula apropiado para la creación de esquejes de especies, por ejemplo, forestales, a escala comercial. Particularmente, la automatización y el uso, en gran escala, del cultivo en medio líquido para la propagación *in vitro* de plantas viene siendo considerados la mejor estrategia para superar las barreras impuestas por el alto costo de producción del cultivo en medios semisólidos (gelificados).

Los biorreactores son clasificados fundamentalmente de acuerdo con el modo de agitación y por la construcción del recipiente, incluyendo mezclador aireador, tambor rotativo, filtro rotativo, burbujeador, aireación simple o combinada y columna de burbuja, componente de elevación de aire, membrana porosa al oxígeno, componente de sobre-aireación y tipo de inmersión temporal.

Los sistemas de inmersión temporal comprenden biorreactores, que son el componente esencial de estos sistemas y que se caracterizan por el tamaño del recipiente, tipo de soporte del cultivo, existencia de control computarizado de la inmersión o simple *timer*, y adicionalmente comprenden bomba peristáltica, bomba de aire o de movilización mecánica del recipiente para el desplazamiento del medio líquido, posibilidad de reciclaje del medio líquido y separación (o incorporación) del depósito del medio líquido relativo al recipiente de cultivo. Características comunes a los biorreactores son las paredes

transparentes, para el pasaje de la luz y verificación del proceso de desarrollo de la planta, y la posibilidad de ser esterilizados en autoclaves.

Los dos tipos principales de biorreactores para
5 micropropagación de células y tejidos vegetales, en medio nutriente líquido, son el tipo RITA (Recipiente de Inmersión Temporal Automatizada) y el tipo BIT (Biorreactor de Inmersión Temporal).

El tipo RITA se caracteriza por una disposición de
10 recipientes, para el material a ser propagado y para el medio nutriente líquido, sobrepuestos y por la operación y control, de los factores que influyen el proceso, realizados de modo automatizado. La principal ventaja del tipo RITA es el mantenimiento de condiciones estables y uniformes a lo largo
15 del proceso y la principal desventaja es la compleja y costosa operacionalización.

El tipo BIT más simple y menos oneroso tiene la disposición de los recipientes realizada lado a lado y la duración de los períodos de inmersión y ausencia del medio
20 líquido en el recipiente de micropropagación, siendo que la alternancia de estos períodos es realizada por un controlador común de tiempo (*timer*). Entretanto, el tipo BIT, a pesar de ser menos oneroso y de operacionalización más simple, requiere un acompañamiento más próximo del proceso de
25 micropropagación que no es automatizado, además de exigir un espacio bastante mayor para la colocación lado a lado de los recipientes.

Los biorreactores automatizados y no automatizados ejemplificativos son descritos, por ejemplo, en el documento
30 US20040209346 que muestra un biorreactor de inmersión intermitente realizada por medio de un mecanismo pivoteado central cuya operacionalización es automatizada; en el documento WO2012061950 que detalla un biorreactor

automatizado para la obtención de una especie de la Antártida que requiere condiciones especiales y muy controladas para la micropropagación; en el documento WO2012044239 es descrito un biorreactor consistiendo en un recipiente que comprende un
5 compartimento superior (para el tejido vegetal a ser propagado) y un compartimento inferior (para el medio nutriente líquido) siendo el líquido transportado, por medio de inyección de gas, desde el compartimento inferior hacia el compartimento superior de acuerdo con la programación del
10 período de inmersión; en el documento WO2012156440 es descrito un sistema de biorreactores de inmersión temporal, en el que cada biorreactor está compuesto por dos recipientes, siendo el superior destinado para el material a ser propagado y el inferior destinado al medio nutriente
15 líquido que es transportado hacia el recipiente superior para la realización del ciclo de inmersión, siendo este último sistema caracterizado por el aprovechamiento máximo de espacio del ambiente de micropropagación. A pesar del avance propiciado por estos biorreactores conocidos del estado,
20 pueden ser percibidas ciertas desventajas que influyen negativamente en la micropropagación, tales como la mayor dificultad de colocación/retiro del material a ser propagado, menor eficiencia en la movilización del medio nutriente, menos puntos de inyección/retiro de gases, entre otras
25 desventajas.

De este modo, verificamos que existe la necesidad de un biorreactor de inmersión temporal en medio nutriente líquido complementado con inyección de aire y enriquecimiento de gas carbónico, siendo provista radiación fotosintéticamente
30 activa dentro del recipiente conteniendo el material en propagación, siendo que este biorreactor debe ser apropiado para la micropropagación de plantas forestales y tener un formato y dimensiones que maximicen el espacio del ambiente

donde es realizada la propagación vegetativa, con simultanea facilidad de acceso al recipiente de material a ser propagado.

SUMARIO DEL MODELO DE UTILIDAD

5 El presente modelo de utilidad pretende proporcionar un biorreactor personalizado para atender a las demandas fisiológicas para la propagación vegetativa de especies forestales, preferiblemente de eucalipto, posibilitando la producción intensiva en estándar óptimo de calidad,
10 uniformidad y vigor de los brotes producidos, mayor enraizamiento de microesquejes y mejor aclimatación y precocidad de producción de plántulas clonales para uso industrial a gran escala.

El presente modelo de utilidad es concretizado en la
15 forma de un biorreactor (1) para cultivo in vitro de plantas, de tipo inmersión temporal comprendiendo: (i) un recipiente superior (2) con paredes transparentes para el material en propagación, preferentemente explantes de eucalipto, dicho recipiente (2) estando provisto de (a) difusores de
20 intercambio de gases con el ambiente externo, (b) humidificador (12), y (c) iluminación artificial (14), preferentemente de tipo LED; (ii) un recipiente inferior (3) con paredes transparentes para el medio nutriente líquido, teniendo una bandeja de aluminio (15) y un punto (13) de
25 entrada de agua y/o medio nutriente, preferentemente localizado en el centro del fondo de dicho recipiente (3); (iii) puntos (4) de inyección/retiro de aire/oxígeno/gas carbónico localizados en la tapa transparente (5); (iv) punto
30 (11) de inyección adicional de gas carbónico con tubo de goteo, próximo al fondo de dicho recipiente superior (2); (v) medios (6) de conexión hermética entre los recipientes superior e inferior para el abastecimiento/drenaje del medio

nutriente hacia y desde el recipiente superior; (vi) soporte de pantalla (7) para el material en propagación, con posibilidad de cambio de pantalla de diferentes mallas; (vii) medios (8) de bloqueo de la tapa para el cierre hermético del recipiente superior; (viii) medios (9) de bloqueo del recipiente superior para cierre hermético sobre el recipiente inferior; y (ix) medios (10) de movilización neumática del medio nutriente líquido entre dicho recipiente superior y el tal recipiente inferior.

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra el biorreactor de acuerdo con el presente modelo de utilidad montado, en (A) vista lateral derecha y en (B) vista frontal.

La Figura 2 muestra el biorreactor de acuerdo con el presente modelo de utilidad montado, en (A) vista lateral izquierda y en (B) vista trasera.

La Figura 3 muestra el biorreactor de acuerdo con el presente modelo de utilidad desmontado, en perspectiva, visto de abajo hacia arriba.

La Figura 4 muestra el biorreactor de acuerdo con el presente modelo de utilidad desmontado, en perspectiva, visto de frente.

La Figura 5 ilustra esquemáticamente el biorreactor del presente modelo de utilidad, siendo que en: (A) es mostrada una vista del fondo del recipiente (3), (B) es mostrada una vista del frente del biorreactor, y (C) es mostrada una vista de lado.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Existen en el mercado diversos tipos de biorreactores de inmersión temporal, siendo los principales el tipo RITA (Recipiente de Inmersión Temporal Automatizado), tipo BIT

(Biorreactor de Inmersión Temporal), tipo SIT (Sistema de Inmersión Temporal) y BioMint (Biorreactor de Inmersión Temporal), teniendo en común, generalmente, el concepto de funcionamiento neumático de inmersión temporal de las plantas
5 en el medio nutritivo líquido. La gran diferencia entre ellos reside en el formato de los compartimentos para las plantas y para el almacenamiento del medio líquido. En la mayoría de ellos, los recipientes de cultivo de las plantas es separado e individualizado del compartimento de almacenamiento del
10 medio líquido.

En el biorreactor objeto del presente modelo de utilidad, los recipientes son acoplados un sobre el otro, en una única plataforma, permitiendo la reducción de espacio. El gran diferencial del biorreactor, tipo BIT, del presente
15 modelo de utilidad son sus dimensiones personalizadas para el hábito de crecimiento de especies arbóreas, principalmente con foco en el eucaliptocultivo. Además de ello, el presente biorreactor posee características únicas, tales como válvulas y boquillas difusoras, para permitir el intercambio de gases
20 (aire, oxígeno, gas carbónico, vapor de agua), controlados conforme a la necesidad del cultivo. Adicionalmente es provista iluminación artificial con lámparas, preferentemente de tipo diodo LED para abastecer los fotones de luz con intensidad luminosa y longitud de onda específicos para
25 maximizar las tasas fotosintéticas, permitiendo elevar las tasas de asimilación del carbono y subsecuentemente su secuestro en biomasa vegetal.

De este modo, el biorreactor del presente modelo de utilidad puede ser utilizado como un sistema de producción
30 fotoautotrófico, es decir, un sistema en el cual la planta crece sin fuente de carbohidratos en el medio nutriente, siendo que el ambiente es enriquecido con alta radiación fotosintética y con alta concentración de gas carbónico, y

consecuentemente, resultando en altas tasas de crecimiento y de productividad y sobrevivencia de las plantas.

La micropropagación vegetativa realizada en el biorreactor del presente modelo de utilidad, cuando es comparada a la producción de esquejes en jardines clonales, posibilita un mejor control de las condiciones microclimáticas y nutricionales del cultivo, por medio de suministro óptimo y continuo de nutrientes y reguladores del crecimiento; renovación de la atmosfera del cultivo con enriquecimiento de gases; cambio y adecuación del medio nutritivo de acuerdo con la demanda de la planta en sus diferentes etapas de desarrollo y control de microorganismos. La producción de plántulas clonales de especies y clones recalcitrantes es una traba en la propagación convencional porque el rejuvenecimiento y/o revitalización de las matrices no siempre es alcanzado. Además de ello, la micropropagación vegetativa posibilita la automatización del flujo de producción, lo que reduce la necesidad de áreas extensas de canaletas en los jardines clonales, permitiendo una mayor producción de microesquejes en un espacio reducido de laboratorio y con mayor eficiencia en el uso de energía y mano de obra empleada en la multiplicación de las plantas. Adicionalmente, la micropropagación vegetativa permite la optimización de los aspectos operacionales en el laboratorio, toda vez que las plántulas son producidas en grandes lotes y con menor manipulación del material vegetal, aumentando, por lo tanto, la confiabilidad en cuanto a la pureza y limpieza de los clones multiplicados.

Tal como es mostrado en las Figuras 1 y 2, el biorreactor (1) del presente modelo de utilidad comprende un recipiente superior (2) para el material a ser propagado y un recipiente inferior (3) para el medio nutriente destinado a la inmersión del material en propagación vegetativa. Los

recipientes (2) y (3) tienen un formato adecuado para maximizar el aprovechamiento del espacio en el ambiente destinado a la micropropagación, por ejemplo, forma de caja substancialmente rectangular o cúbica, preferentemente de
5 caja rectangular. Las paredes de los recipientes (1) y (2) son transparentes y hechas de material adecuado no solo para permitir el pasaje de luz como también para responder positivamente a las pruebas de funcionalidad biológica y de resistencia estructural y térmica, por ejemplo, material
10 acrílico, de polietileno, de polipropileno, de policarbonato y vidrio, preferentemente con elevada resistencia mecánica.

El recipiente superior (2) está provisto de difusores de gases, fabricados en material apropiado, por ejemplo, metal o plástico, entre el recipiente superior y el ambiente externo
15 del biorreactor para permitir el intercambio de gases del cultivo vegetal con el ambiente externo y también para permitir el enriquecimiento uniforme del recipiente superior con gas carbónico inyectado a través de la tapa superior. Los difusores son encajados a presión en agujeros con anillo de
20 sellado de silicona en el lado interno de la tapa del depósito superior y, adicionalmente, pueden ser substituidos por otros de mayor flujo de gases, conforme a la necesidad del manejo de la atmosfera interna del recipiente.

El recipiente superior (2) está provisto de dos o más
25 puntos (4) de inyección o de drenaje de aire, oxígeno, gas carbónico y cualquier substancia gaseosa que deba ser controlada para posibilitar las condiciones aéreas ideales para la propagación vegetativa. Dichos puntos (4) están localizados en la tapa (5) del recipiente superior, también
30 procurando evitar la pérdida de espacio lateral entre los biorreactores colocados en paralelo sobre estantes, y son implementados en forma de orificios provistos de medios (6) de conexión, por ejemplo, por acoplamiento, preferentemente

de rosca, de tuberías transparentes de gases, siendo dichos medios hechos de material resistente a las condiciones de esterilización en autoclave. Preferiblemente, los medios (6) poseen doble trabado con anillo de silicona para el sellado
5 del acoplamiento entre los recipientes superior e inferior.

En el interior del recipiente superior (2) es dispuesto un soporte (7), hecho preferentemente de una pantalla de acero inoxidable, con moldura en material polimérico, por ejemplo, nylon, para permitir el cambio de pantallas de
10 diferentes mallas. Preferentemente, el soporte (7) está provisto de astas, siendo una centralizada y la otra moldeada en la pantalla, para facilitar la remoción de todo el cultivo vegetal sobre la tela después del ciclo de cultivo. Es importante observar que, de acuerdo con el presente modelo de
15 utilidad, de preferencia, el soporte (7) comprende una pantalla de acero inoxidable delgada, con diferentes especificaciones de hilos (por ejemplo, n°6, n° 8, n° 10) y grosor de mallas (por ejemplo, n° 24, n° 26, n° 28) y sin pestañas inferiores, siendo dichas pantallas intercambiables
20 para permitir la colocación de diferentes tipos de material vegetal (por ejemplo, segmentos nodales, ápices de tallos, tallos aislados, brotes aislados, matorral de multibrotaduras, mechones de multibrotaduras).

La tapa (5) es posicionada y bloqueada sobre el
25 recipiente (2), a través de medios (8), de manera estanca para evitar contaminación y posibilitar el adecuado funcionamiento de abastecimiento y drenaje del medio nutriente líquido hacia y desde el recipiente (2) para la ejecución de los períodos de inmersión. Del mismo modo
30 también son provistos medios (9) de posicionamiento y bloqueo del recipiente (2) sobre el recipiente (3). Preferiblemente, los medios de posicionamiento y bloqueo (8) y (9) están provistos de anillo de sellado, preferentemente de silicona,

y presillas externas deslizantes en carril inyectado en el recipiente superior (medios (8)) y en el recipiente inferior (medios (9)). Las presillas externas de bloqueo de seguridad entre las tapas de los recipientes superior e inferior, adicionalmente permite el transporte del conjunto integrado, de un lugar hacia otro, sin riesgo de desacoplamiento entre los recipientes. También debe ser observado que las presillas posean características de doble bloqueo o doble efecto que otorgan al biorreactor del presente modelo de utilidad las siguientes ventajas: (1) no necesidad de presionar los dos recipientes para el sellado del drenaje; (2) seguridad en el transporte del conjunto evitando riesgos de accidente con la separación de los recipientes; (3) doble etapa de bloqueo entre los recipientes, siendo la primera antes del autoclavaje del conjunto recipientes y medio de cultivo y la segunda después del autoclavaje de los mismos.

Adicionalmente, el recipiente inferior (3) posee una entrada/drenaje (10) para aire comprimido para la realización de la movilización neumática del medio nutriente líquido entre los recipientes (2) y (3). Esta movilización neumática es proporcionada por un temporizador (no mostrado) que es accionado por una válvula solenoide (no mostrada), alternando los períodos de inmersión (transferencia del medio líquido hacia el recipiente (2) por aumento de la presión en el recipiente (3)) y de ausencia de inmersión (transferencia del medio líquido hacia el recipiente (3) por reducción de la presión en este recipiente).

Todas las piezas de los recipientes superior (2) e inferior (3), incluyendo tapas, presillas, astas y molduras de pantallas son inyectadas en resinas de policarbonato, o material polimérico equivalente, translúcido y liso, con propiedades adecuadas de resistencia para la realización de sucesivos autoclavajes a 121°C y 1 atm, durante 40 min, por

ejemplo, en condiciones normales de temperatura y presión y duración. Es importante mencionar que el tipo de material polimérico, preferentemente policarbonato, utilizado debe ser tal que proporcione la reducción de formación de burbujas, otorgue mayor resistencia a las altas presiones de inyección y resulte en menores deformaciones estructurales ante las variaciones de temperatura y presión, durante el tiempo de inyección y tiempo de recalque en el proceso de fabricación.

El biorreactor del presente modelo de utilidad es dimensionado de forma apropiada para permitir la eficiente micropropagación vegetativa de especies arbóreas, preferiblemente de eucalipto, mientras es maximizado el aprovechamiento de espacio del ambiente de micropropagación. Por ejemplo, el biorreactor puede, preferentemente, tener las dimensiones de 300 mm de longitud x 200 mm de ancho x 250 mm de altura total.

Todas las publicaciones y pedidos de patente mencionados en la presente descripción son indicativos del nivel de aquellos especialistas en la técnica, al cual el presente modelo de utilidad se refiere. Todas las publicaciones y pedidos de patente son aquí incorporados a título de referencia, en la misma extensión como si cada publicación individual o cada pedido de patente fuese, específica e individualmente, indicado para ser incorporado a título de referencia.

A pesar de que ciertas concretizaciones hayan sido descritas, ellas fueron presentadas de un modo ejemplificativo solamente, y no hay intención de limitar el alcance del presente modelo de utilidad. Las reivindicaciones que acompañan esta descripción y sus equivalentes son consideradas cubriendo tales formas o modificaciones en la medida en que ellas pueden estar dentro del alcance y espíritu del presente modelo de utilidad.

REIVINDICACIÓN

1. Biorreactor para cultivo in vitro de plantas, de tipo inmersión temporal caracterizado por comprender:

- 5 i. un recipiente superior con paredes transparentes para el material en propagación, siendo dicho recipiente superior provisto de:
 - (a) difusores de intercambio de gases con el ambiente externo,
 - (b) humidificador (12), y
 - 10 (c) iluminación artificial (14), preferencialmente tipo LED;
- ii. un recipiente inferior con paredes transparentes para el medio nutriente líquido, teniendo una bandeja y un punto de entrada de agua y/o medio nutriente,
- 15 localizado en el fondo de dicho recipiente inferior;
- iii. puntos de inyección/retiro de aire/oxígeno/gas carbónico localizados en la tapa transparente que posiciona y sella el recipiente superior;
- iv. punto de inyección adicional de gas carbónico con tubo
- 20 de goteo, próximo al fondo de dicho recipiente superior;
- v. medios de conexión entre los recipientes superior e inferior para el abastecimiento/drenaje del medio nutriente hacia y desde el recipiente superior;
- 25 vi. soporte de pantalla para el material en propagación, con posibilidad de cambio de pantallas de diferentes mallas;
- vii. medios de posicionamiento y bloqueo de la tapa para el cierre hermético del recipiente superior;

- viii. medios de posicionamiento y bloqueo del recipiente superior para el cierre hermético sobre el recipiente inferior; y
- ix. medios de movilización del medio nutriente líquido entre el dicho recipiente superior y l tal recipiente inferior.

5

RESUMEN DE LA PATENTE DE MODELO DE UTILIDAD**"BIORREATOR PARA CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS"**

El presente modelo de utilidad objetiva proporcionar un biorreactor para cultivo in vitro de plantas, de tipo inmersión temporal comprendiendo: (i) un recipiente superior (2) con paredes transparentes para el material en propagación, preferentemente explantes de eucalipto, estando dicho recipiente (2) provisto de (a) difusores de intercambio de gases con el ambiente externo, (b) humidificador (12), y (c) iluminación artificial (14); (ii) un recipiente inferior (3) con paredes transparentes para el medio nutriente líquido, teniendo una bandeja de aluminio (15) y un punto (13) de entrada de agua y/o medio nutriente, localizado en el fondo del dicho recipiente (3); (iii) puntos (4) de inyección/retiro de aire/oxígeno/gas carbónico localizados en la tapa transparente (5); (iv) punto (11) de inyección adicional de gas carbónico con tubo de goteo, próximo al fondo de dicho recipiente superior (2); (v) medios (6) de conexión hermética entre los recipientes superior e inferior para el abastecimiento/drenaje del medio nutriente hacia y desde el recipiente superior; (vi) soporte de pantalla (7) para el material en propagación, con posibilidad de cambio de pantallas de diferentes mallas; (vii) medios (8) de bloqueo de la tapa para el cierre hermético del recipiente superior; (viii) medios (9) de bloqueo del recipiente superior para el cierre hermético sobre el recipiente inferior; y (ix) medios (10) de movilización neumática del medio nutriente líquido entre dicho recipiente superior y el tal recipiente inferior.

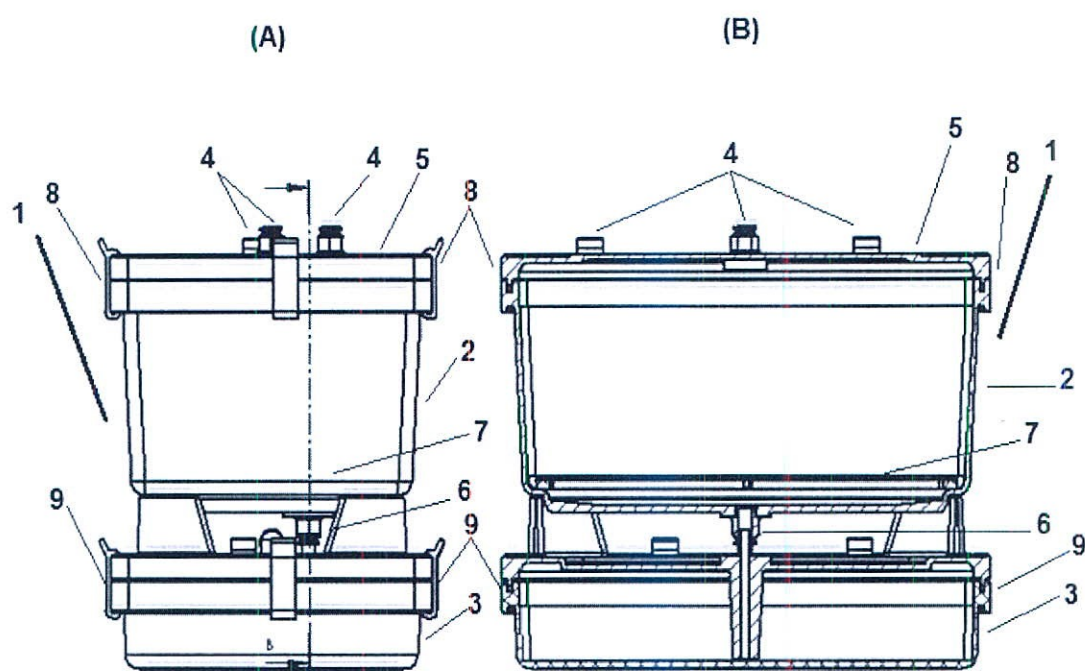


FIGURA 1

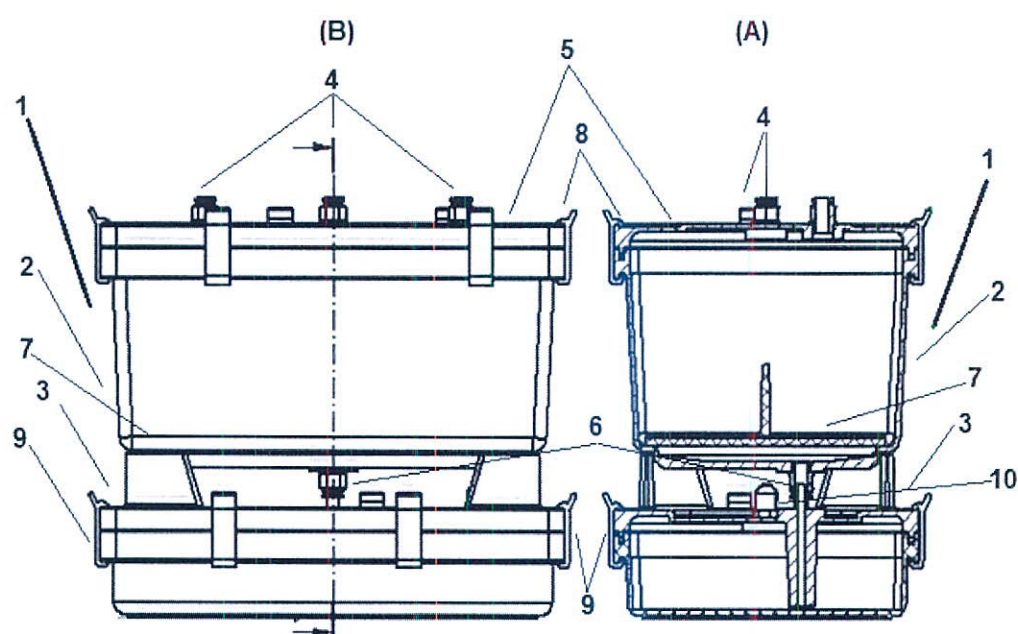


FIGURA 2

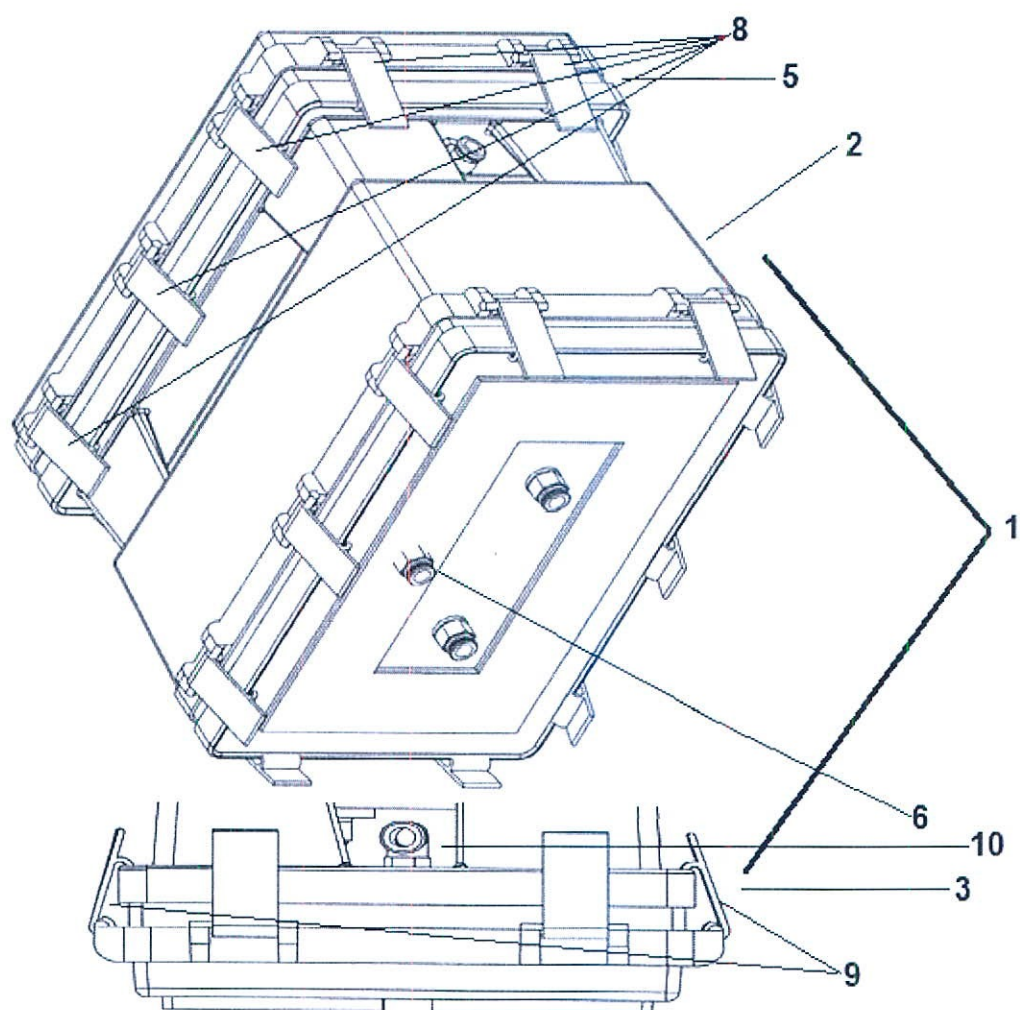


FIGURA 3

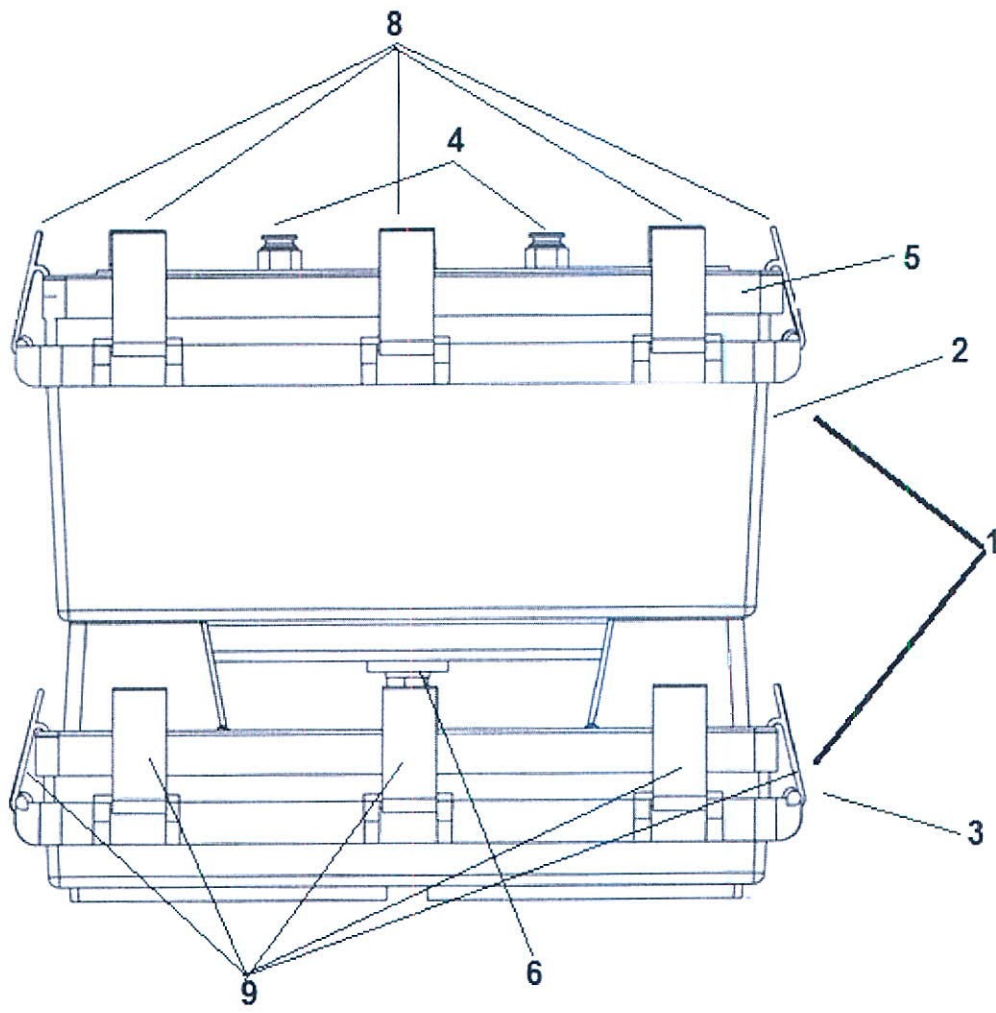


FIGURA 4

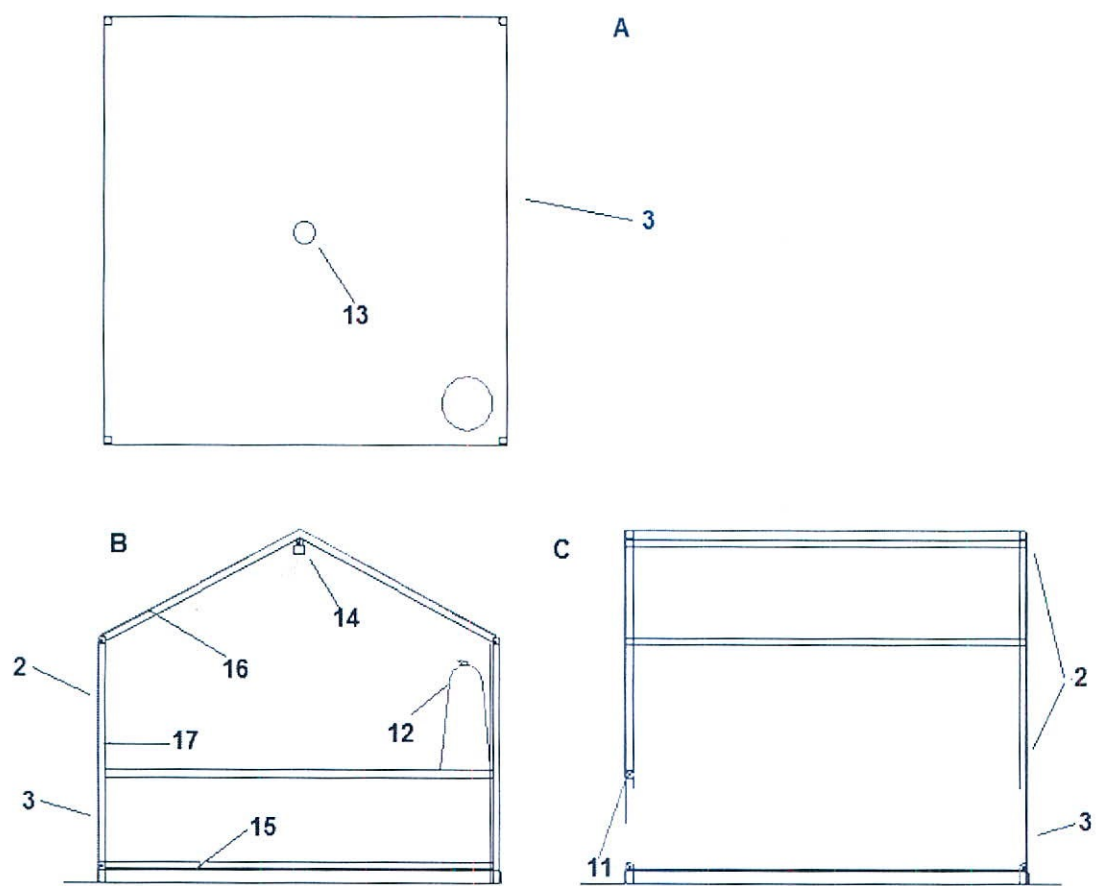


FIGURA 5

Fibria Celulose S.A.

Rua Fidêncio Ramos, 302 - 3º Andar – Torre B

Vila Olímpia – CEP 04551-010

São Paulo - SP

Brasil

Kindly provide us with any forms/documents that should be executed to comply with your local practice and the related deadlines to file same with the PTO by May 15, 2016.

You will also find enclosed an English translation of the Word version of the original PCT application (specification, claims, figures and abstract). If necessary, a copy of the Spanish translation of the application is also enclosed herewith.

Further, we kindly ask you to issue the Debit Notes regarding this case in the name of Fibria Celulose S.A., as follows:

Fibria Celulose S.A.

Rua Fidêncio Ramos, 302 - 3º Andar – Torre B

Vila Olímpia – CEP 04551-010

São Paulo - SP

Brasil

Kindly note also that the invoices must be sent to our office. In order to expedite payment, please send them to us by e-mail.

Kindly acknowledge safe receipt of this letter and enclosures by return e-mail or fax.

PLEASE KEEP THIS APPLICATION IN FORCE UNLESS INSTRUCTED TO THE CONTRARY.



Rio de Janeiro, May 09, 2016.

TRIANA, URIBE & MICHELSEN

Calle 93B, No. 12-48, P. 4
Bogotá
Colombia

At.: Ms. Laura Michelsen and Mr. Juan Carlos Uribe

Re.: New PCT Patent Application in Colombia

Based on PCT/BR2013/000483

Title: “Bioreactor for *in vitro* plant culture”

In the name of Fibria Celulose S.A.

Your ref.: (please inform)

Our ref.: PE0819 – GFV/ISF/ANA

Dear Laura and Juan,

Our clients instructed us to enter the above-mentioned application before the Colombian Patent Office. The 31-month deadline ends on **JUNE 11, 2016**.

The information regarding invention's title, applicants and inventors are those described in the front page of the published PCT application. However, please be informed that we have filed a request for recording a change of address of the Applicant pursuant to PCT rule 92bis.1(a) with the WIPO, as per a enclosed copy. A copy of the official IB306 form will be sent as soon as received by our office.

The correct applicant's address to be used when entering the national phase in Colombia is as follows:





Should you need any further information and/or any other document, please do not hesitate to contact us.

Looking forward to hearing from you, we remain.

Yours very truly,

A handwritten signature in blue ink, which appears to read "Ana Cristina Müller".

Ana Cristina Müller

Via electronic mail.

Encls.: Word version of the PCT application (English version and Spanish version).

A handwritten signature in blue ink, which appears to read "Inês Fernandes".

Inês Fernandes



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



RECIBO DE CAJA

No. 16 - 0046479

Bogotá D.C., Mayo 12 de 2016 - 15:26:35

RECIBIDO DE : TRIANA URIBE & MICHELSEN LTDA

NI 830.001.432

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	781878532	12/05/2016	70.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	5 TRAMITES DE SOL. DE MODELO DE UTILIDAD	70.000.00	70.000.00
			\$70.000.00

SON: **SETENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 16-129111- -00000-0000

Fecha: 2016-05-17 15:37:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 12 MODELOIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 71

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 12 de 2016 - 15:26:35

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	LISTA DE CHEQUEO ADMISIÓN A TRÁMITE - NUEVAS CREACIONES
---	--

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 16-129111- -00000-0000

Fecha: 2016-05-17 15:37:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCF
Tra. 12 MODELOIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 71

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐