

RITA[®]

Réceptacle à immersion
temporaire pour la culture in
vitro des plantes



Principaux intérêts du procédé Rita ®

- ✓ Diminution du coût de la main d'œuvre par la simplicité de la manipulation des plantes et du milieu.
- ✓ Meilleure nutrition : contact intime entre plante et milieu en phase immergée, et rétention par capillarité d'un film de milieu en phase émergée.
- ✓ Très forte diminution des phénomènes d'asphyxie et de vitrification des tissus par rapport aux cultures en immersion permanente.
- ✓ Renouvellement complet de l'atmosphère de culture à chaque immersion.
- ✓ Division des tissus en culture pendant l'agitation due au bullage.
- ✓ Contrôle des processus morphologiques par la modification de la fréquence et la durée d'immersion.
- ✓ Protection de chaque appareil par les événements. Manipulation individuelle possible. Pas de risque d'extension des contaminations.

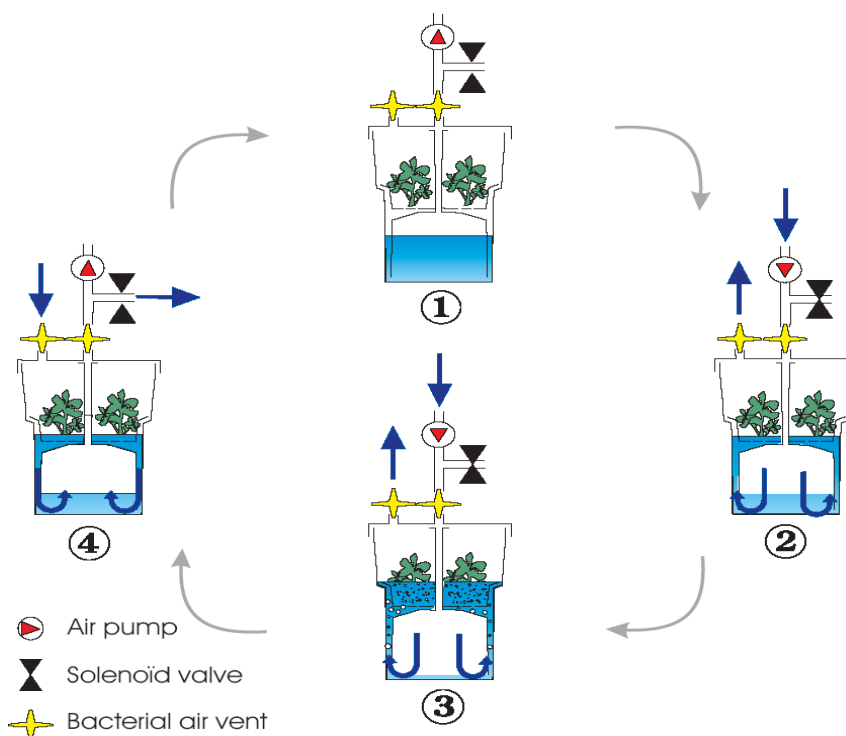
Résultats obtenus sur différentes espèces tropicales

Améliorations par rapport à la culture sur un milieu semi-solide

- ✓ Café *Microbouturage* : même taux de multiplication en deux fois moins de temps.
Embryogénèse : de la cellule embryogène à l'embryon germé le coût des manipulations est divisé par 10.
- ✓ Banane *Développement et germination d'embryons somatiques* : 700 à 1000 plantules prêtes à être sevrées par Rita®
Prolifération de méristèmes : Taux de prolifération en 20 jours multiplié par 2.5
- ✓ Hévée *Développement d'embryons somatiques* : 100 à 400 embryons par Rita® prêts à germer sur milieu gélifié.
- ✓ Pommes de terre *Microtubérisation* : en fonction des variétés jusqu'à 3 micro-tubercules par bouture simple nœud en 10 semaines. Plus de 50% des micro-tubercules pèsent plus de 0.5g.
- Autres Le RITA est également utilisé pour la multiplication d'autres espèces végétales : Chanvre, plantes ornementales tels que le Dragonnier, le Bambou, des plantes succulentes ou encore des espèces maraichères comme les Fraises.

Fonctionnement du procédé RITA®

RITA est un appareil exclusivement conçu pour la culture in-vitro des plantes. Il est équipé de composants réutilisables et autoclavables.



Immersion temporaire

- 1- Selon leur taille, les plants sont placés dans le panier ou sur le tamis et le milieu nutritif est placé au fond du récipient.
- 2- L'air comprimé entre par le tube central, créant de la pression sur le milieu liquide à l'intérieur de la cloche. Ceci pousse le liquide dans la chambre de forme ronde constituée par le récipient et la cloche. Le liquide traverse les trous dans le panier et dans les mailles du tamis, et immerge les plants.
- 3- Dès que tout le milieu liquide atteint le compartiment supérieur, il reste agité et oxygéné par le flux d'air. Au-dessus, la pression s'échappe par l'air vent.

- 4- Quand l'approvisionnement d'air comprimé s'arrête, la pression des compartiments supérieurs et inférieurs s'ajuste à la pression atmosphérique par l'intermédiaire des sorties et de l'électrovanne. Le milieu liquide revient au fond du récipient.

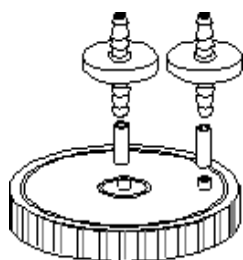
Application de la pression et contrôle du flux d'air

L'air comprimé doit être sans huile. Il peut être appliqué directement par un compresseur ou à partir d'un réservoir d'air. La pression finie doit être inférieure à 0,2 bars. Le débit d'air est stérilisé par les événements hydrophobes sur les orifices d'entrée et de sortie. Ces événements ont un débit d'air qui est aussi haut que possible à la pression atmosphérique pour permettre le rajustement rapide de la pression dans les deux compartiments. Le débit d'air injecté dans chaque récipient doit être contrôlé (0,8 à 1 l/mn) par une valve afin de réduire le taux de bouillonnement, quand les plants sont immergés. Une pompe à air peut être utilisée pour plusieurs récipients à l'aide d'un système de rampe. Le nombre de branchements que la rampe peut avoir dépendra de la puissance de la pompe. Plusieurs rampes peuvent être reliées à la même pompe et peuvent être individuellement programmées.

Programmation

La fréquence et la durée des périodes d'immersion varient considérablement avec les variétés et les phénomènes exigés. Les expérimentations précédentes ont montré que ceux-ci peuvent varier de 4 périodes de 15 minutes par jour à 1 période de 1 minute par semaine. Une expérimentation préalable devra être effectuée pour trouver la fréquence et la durée idéale pour chaque cas particulier. Les fonctions départ et arrêt de la pompe peuvent être commandées par n'importe quelle minuterie programmable qui permet d'exiger le nombre de commutations marche-arrêt par jour ou semaine, et la durée souhaitée (résolution 1 ou 15 min).

Composantes et plan d'assemblage RITA®



R10 Events

R16 Tubes pour events
R03 Couvercle



R13 Joint de couvercle



R14 Joint du tube central



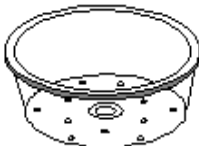
R04 Tube central



R0702 Tamis



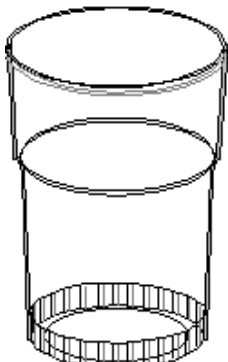
R15 Rondelle



R05 Panier



R06 Cloche



R02 Récipient

Matériel nécessaire



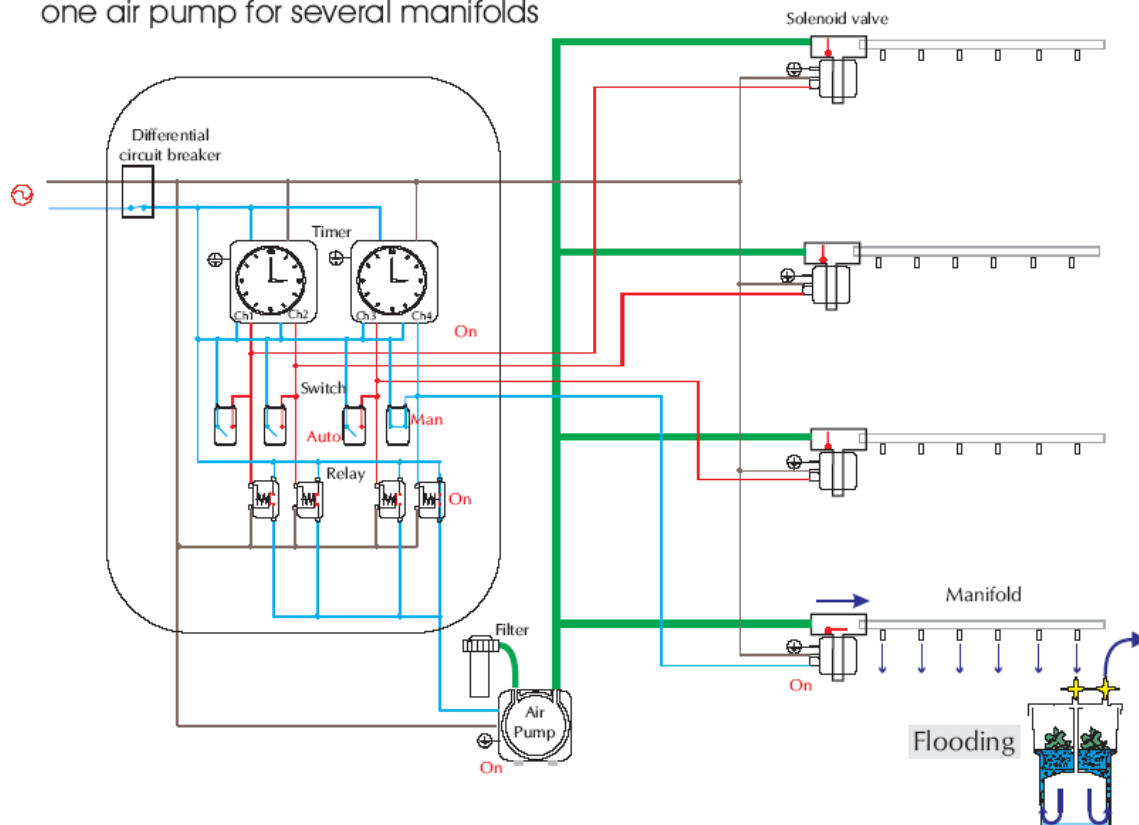
Nous proposons un équipement complet du système RITA® incluant :

- ✓ Alimentation en air: Pompe ou compresseur délivrant 1litre/mn/Rita® à 0.2bar. Stérilisation par un évent à l'entrée de chaque Rita®.
- ✓ Automatisation :
 - raccords pneumatiques
 - rampe (de 6 à 20 RITAs, incluant une électrovanne à 3 voies, les gicleurs et les tubes)
 - l'armoire électrique prête à l'emploi, conçue selon vos besoins

Les équipements peuvent être conçus pour une installation de 1 à 100 rampes, 110 ou 220V.

Merci de nous contacter pour obtenir des dispositifs adaptés à vos besoins.

Electric and pneumatic installation :
 one air pump for several manifolds



Entretien RITA®

Nettoyage

- Pour un nettoyage optimal, l'appareil entier doit être complètement démonté. Le nettoyage avec un détergent contenant des composés aromatiques peut induire à la fissuration du polysulfone pendant l'autoclavage.

Sterilisation

- Assemblez le RITA avec ses événements (voir le plan d'assemblage). Le couvercle ne doit pas être fermé trop hermétiquement avant l'autoclavage pour empêcher toute déformation.

- Ajoutez quelque millilitres d'eau à l'intérieur du RITA selon le type d'autoclave que vous employez afin d'assurer le bon niveau de pression.

- Protégez les événements contre l'humidité avec du papier aluminium. Marquez-les à chaque cycle d'autoclave. Nous conseillons un maximum de 10 cycles d'autoclave.

- Autoclavez suivant les conditions standards (nous ne pouvons pas être plus précis car les conditions dépendent du type d'autoclave).

- Stérilisez le milieu séparément (chaleur ou filtration) et versez le dans le RITA stérile sous hotte à flux laminaire (200 ml par RITA au maximum)

Changement de milieu et transfert de plants

Chaque appareil, ainsi que ses événements, peut être facilement déconnecté du système d'air comprimé et transporté sous une hotte à flux d'air laminaire pour la manipulation des plants. Désinfectez complètement le RITA (insistez sur les bords du couvercle).

Le milieu peut être changé très simplement sans devoir manipuler chaque plant séparément : un nouveau récipient stérile est préparé sans ses composants (cloche, panier, mousse et tube central) et rempli du nouveau milieu. La partie intérieure du précédent récipient contenant les plants est ensuite placée à l'intérieur du nouveau récipient.

RITA[®]

Temporary Immersion System for Plant Tissue Culture



Main advantages of the Rita[®] technique

- ✓ Reduction in labor costs through simplified handling of plants and medium.
- ✓ Improved nutrition: the medium is in direct contact with the plants during immersion and a capillary film covers the plant throughout the remaining period.
- ✓ Very marked reduction in asphyxiation and tissue vitrification compared with permanent immersion.
- ✓ Complete renewal of the atmosphere at each immersion.
- ✓ Tissue division occurs during agitation due to bubbling.
- ✓ Control of the morphological process through modification of the frequency and duration of immersion.
- ✓ Protection of each apparatus guaranteed by air vents. Individual handling is possible. No risk of spread of contamination.

Achievements on some tropical crops

Improvements in comparison with culture on a semi-solid medium

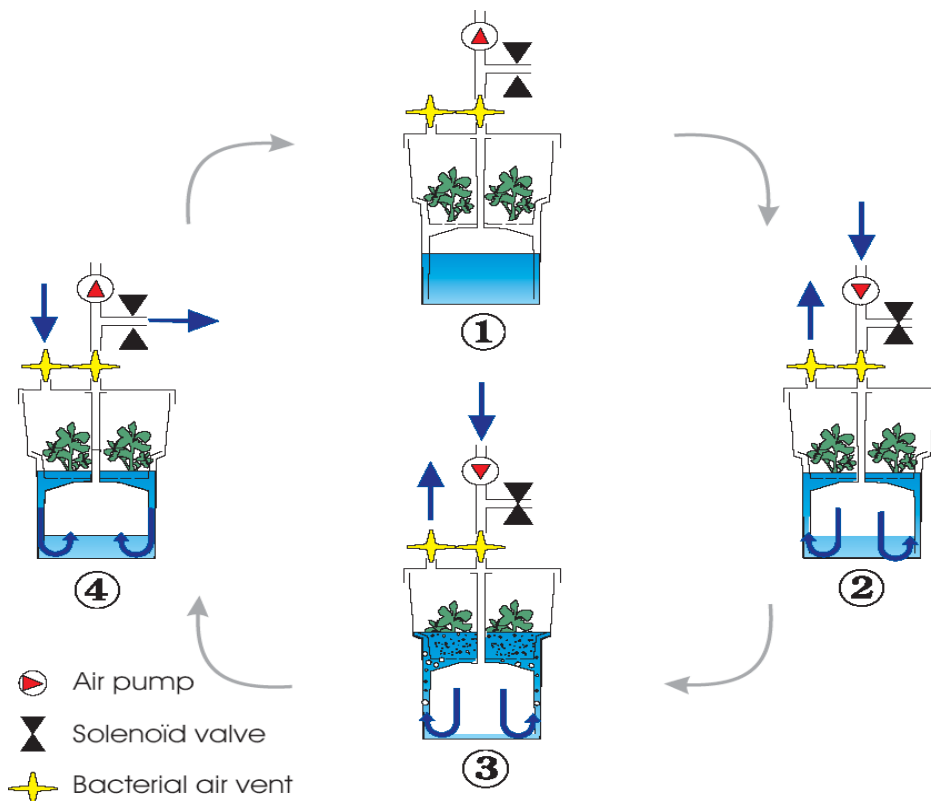
- ✓ Coffee *Microcuttings : the same multiplication rate in half the time.*

Embryogenesis : the cost of the procedure from embryogenic cell to germinated embryo is reduced by a factor of 10.
- ✓ Banana *Development and germination of somatic embryos : Each Rita® can produce 700 to 1000 plantlets ready to harden.*

Meristem proliferation : the 20-day proliferation rate can be multiplied by 2.5
- ✓ Rubber tree *Development of somatic embryos : 100 to 400 embryos per Rita® apparatus ready to germinate on a semi solid medium.*
- ✓ Potato *Microtuberisation : Production of 3 microtubers from a single node microcutting in 10 weeks. More than 50% of the microtubers weigh more than 0.5g.*
- Others *The RITA is also used for the multiplication of other plant species: Hemp, ornamental plants such as the Dragon tree, the Bamboo, succulent plants or market garden species such as Strawberries.*

How RITA[®] works?

RITA is an apparatus specially designed to carry out in-vitro plant culture using temporary immersion. It is made up of reusable and autoclavable components.



Temporary Immersion

Depending on their size, the plants are placed in the basket or on the netting and the nutrient medium is placed on the bottom of the container. Compressed air enters through the central tube creating over pressure on the liquid medium inside the bell. This pushes the liquid into the ring-shaped chamber formed by the vessel and the bell. The liquid passes through the holes in the basket and the meshes of the netting and immerses the plants. As soon as all the liquid medium reaches the upper compartment it is continuously agitated and oxygenated by the air flow. Over pressure escapes through the outlet at the edge of the cap. When the supply

of compressed air stops the pressure in the upper and lower compartments adjusts to atmospheric pressure via the outlets and the solenoid valve. The liquid medium returns to the bottom of the vessel.

Pressure application and air flow control

Compressed air must be oilless. It may be applied directly by an air pump or from an air tank. The over pressure must be lower than 0.2 bar. Air flow is sterilized through hydrophobic air vents on the inlet and the outlet ports. These air vents have an air flow rate that is as high as possible at atmospheric pressure to allow rapid readjustment of pressure in the two compartments. The air flow through each vessel must be controlled (0,8 to 1 l/mn) by a valve in order to reduce the rate of bubbling when plants are immersed. A jet should be used which allows control irrespective of whether the tubing is connected to a vessel or not.

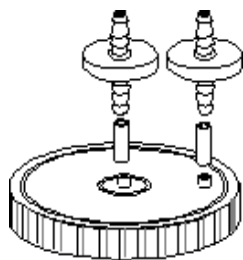
An air pump can operate several vessels by means of a manifold. The number of branches the manifold can have will depend on the power of the pump. Several manifolds can be connected to the same pump and may be individually programmed.

Programming

The frequency and duration of immersion periods vary greatly with the species and with required phenomena. Previous experimentations have shown these may range from 4 periods of 15 minutes per day to 1 period of 1 minute per week. Preliminary experimentation should be carried out to find optimum frequency and

duration in each particular case. Start and stop functions of the pump can be controlled by any programmable timer which allows the required number of on and off switchings per day or week and the required duration (resolution 1 or 15 mn).

Components and assembly plan of RITA[®]



R10 Air vent

R16 Vent tubings

R03 Cap



R13 Cap O Ring



R14 Central Tube O Ring



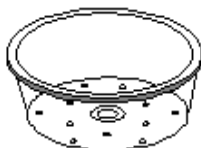
R04 Central Tube



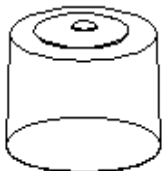
R0702 Netting



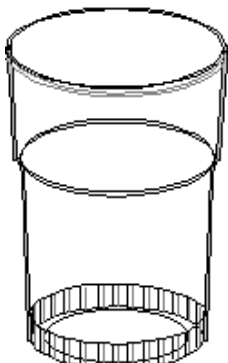
R15 Washer



R05 Basket



R06 Bell



R02 Vessel

Required Equipment



■ **Air supply:** air pump or compressor capable of supplying 1 liter/min (0.06m³/h) per Rita[®] at 200 mbar (hPa). Sterilisation by an air vent before each Rita[®].

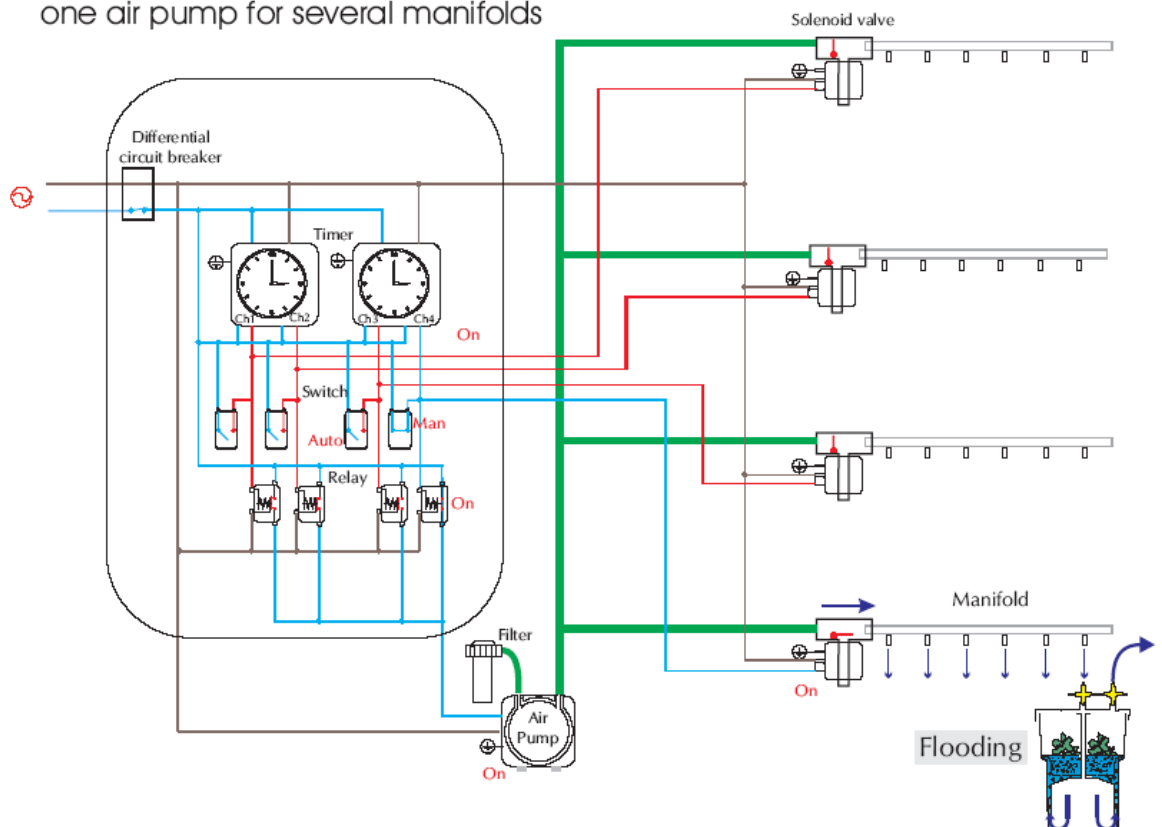
■ **Automation:** a timer with minimum of 1min/day, a manifold (includes a 3-way solenoid valve, nozzles and tubes).

We provide RITAs and manifold (for 6 or 20 RITAs) for 110V or 220 V.



Please contact us for industrial installation.

Electric and pneumatic installation :
one air pump for several manifolds



RITA[®] handling

Cleaning

- For satisfactory cleaning the entire apparatus should be completely taken apart. Cleaning with detergent containing aromatic rings may induce cracking of the polysulfone during autoclaving. If you use polyurethane foam discs (no longer on sale) , they are one use spare parts.

Sterilization

- Set up the RITA with its air vents (see assembly plan). The cap must not be closed too tightly before autoclaving to prevent any deformation.
- Add a few millilitre of water inside the RITA depending on the type of autoclave you use in order to ensure good pressure level.
- Protect the air vents against humidity by aluminium foils. Mark them at each autoclave cycle. We advice a maximum of 10 autoclave cycles.
- Autoclave following standard conditions (we cannot be more precise as conditions are dependant on the type of autoclave).
- Sterilize the medium separately (heat or filtration) and pour in the sterile RITA under laminar flow (200 ml per RITA at max.).

Medium change and plant transfer

Each apparatus together with its air vents can easily be disconnected from the compressed air network and carried to a laminar air flow cabinet for plant handling. Disinfecte the RITA thoroughly (insist on the margins of the cap).

The medium can be changed very simply in different ways without having to handle each plant separately:

- a new sterile vessel is prepared without its inside components (bell, basket, foam and central tube) and filled with new medium. The inside part of the previous vessel containing the plants is then placed inside the new vessel.