

ES

11

21

22

NUMERO	280.879
FECHA DE PRESENTACION	25 JULIO 1984

Y



ESPAÑA

MODELO DE UTILIDAD

16 FEB. 1985

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
51 NUMERO		
69332	26 julio 1983	Israel

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL
	A01G 9/00

54 TITULO DE LA INVENCIÓN
"Recipiente para cultivos de tejidos de planta"

71 SOLICITANTE (S)
MILOUDA LTD.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
Mobile Post Ashrat, Israel 25201

72 INVENTOR (ES)

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE
M. Curell Suñol

69332 SP
EX-IL-II

MODELO DE UTILIDAD

por VEINTE años

solicitado en España a favor de MILOUDA LTD., de nacionalidad israelí, domiciliada en Mobile Post Ashrat, Israel, 25201, por "Recipiente para cultivos de tejidos de planta", con prioridad de la solicitud israelí 69332 de fecha 26 julio 1983.

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a recipientes de cultivo de tejidos de planta. Más particularmente la presente invención se refiere a un nuevo tipo de recipiente para cultivos en el que puede dispensarse una mezcla estéril de tejidos de planta y medio de una forma tal que el material de planta quede por encima de una base de medio y en buen contacto con ella.

Un tal recipiente de cultivos tiene muchos usos en la propagación de cultivos de tejidos de planta y es particularmente útil en procesos del tipo que se describen en la solicitud de patente española no. 534.846 presentada en esta misma fecha a nombre de la misma sociedad solicitante, ya que dicho recipiente es particularmente útil para procesos que comprenden la transferencia a granel de cultivos de tejidos de plantas que a su vez es necesario para la automatización de la producción de plantitas derivadas del cultivo de tejidos.

El procedimiento convencional para la propagación de cultivos de tejidos de plantas se practica ampliamente y hay abundante literatura sobre ella. Por ejemplo, se describen las prácticas actuales por P.F. Wetherall, "In Vitro Propagation" (Avery 1982); B.V. Conger, Ed; "Cloning Agricultural Plants via In Vitro Techniques". (CRC Press, 1981); T.A. Thorpe "Plant Tissue Culture - Methods and Applications in Agriculture" (Academic Press, 1981). En palabras sencillas, la propagación "in vitro" consiste en retirar asépticamente una parte de una planta y colocarla en un medio nutritivo que provoca el crecimiento y/o la proliferación. Más particularmente, el cultivo de tejidos de plantas puede dividirse en una secuencia de tres etapas principales. El objetivo de la primera etapa es la iniciación de un cultivo aséptico de rápido desarrollo. Este cultivo puede iniciarse a partir de una serie de los órganos de la planta.

Típicamente, las muestras se desinfectan en la superficie y luego se manipulan bajo condiciones estériles. Después de desinfección, se aclaran las muestras varias veces con agua destilada estéril y se trocean en segmentos deseados con segmentos estériles. Entonces se coloca la muestra en un recipiente de cultivo en contacto con el medio y se coloca el recipiente en una sala de cultivo en que la cantidad de luz, el período de luz y la temperatura están controladas.

Después de aproximadamente seis a ocho semanas

en la sala de cultivos, se utiliza el material de las muestras desarrollado para la iniciación de la etapa de multiplicación de la propagación "in vitro". Aquí se saca la muestra desarrollada asépticamente de su recipiente y se recorta y se divide si hace falta. Entonces se coloca el tejido en un recipiente de cultivo sobre un medio que contiene la composición y el equilibrio hormonales apropiados para inducir la multiplicación y se devuelve a la sala de cultivos. Transcurridas otras seis a ocho semanas en la sala de cultivos en un medio de multiplicación se retira el tejido asépticamente de su recipiente, y se divide, se transfiere a un nuevo medio y se devuelve a la sala de cultivos. Esta transferencia se realiza o bien a un medio de crecimiento que se formula para inducir el desarrollo de tallos, con o sin raíces, que pueden resistir la transición al ambiente del invernadero o a un medio de multiplicación nuevamente para continuar la propagación.

La capacidad de reciclar repetidas veces el cultivo de tejidos a través de la etapa de multiplicación (etapa II) es el secreto de los aumentos rápidos que son una de las principales ventajas de la propagación "in vitro". No obstante, este procedimiento es una actividad que utiliza mucha mano de obra, y se ha estimado que hasta un 60-65% del coste de producción de plantas "in vitro" puede atribuirse a sueldos, salarios y gastos asociados (W.C. Anderson, G.W. Meagher and A.G. Nelson, Cost of Propagating Broccoli Plants through Tissue Culture, Hortscience 12:

543-544, 1972); (A Donnan, Jr., S.E. Davidson and C.L. Williams, Establishment of Tissue Grown Plants in the Greenhouse Environment. Proc. Fla. State, Hort. Soc. 91: 235-237, 1978). Consiguientemente, se han hecho muchos intentos para reducir los gastos relacionados con la mano de obra.

Se describe un tal intento acertado en la citada solicitud de patente española no. 534.846, en la que se reivindica un procedimiento para la propagación de cultivos de tejidos de planta al menos semiautomatizada y eventualmente totalmente automatizada que comprende: proporcionar un cultivo de tejido de planta que contiene un gran número de zonas meristemáticas densamente apretadas, separar y clasificar automáticamente dicho tejido en pequeños racimos de tejidos meristemáticos, transportar a granel dichos tejidos separados asépticamente a un aparato separador en el que se lavan dichos tejidos y se obtienen propágulos de tamaño substancialmente uniforme y substancialmente libres de restos de célula fitotóxicos, transportar asépticamente dichos propágulos a un recipiente de cultivo y distribuir dichos propágulos sobre la superficie de un medio de cultivo.

Para su uso en dicho procedimiento así como para otros usos, la presente invención proporciona un recipiente de cultivo de tejidos de planta dotado de un elemento tamizador fino substancialmente plano elevado por encima de la superficie inferior interior del recipiente, siendo dicho recipiente esterilizable, substancialmente sellable y adap-

tado para el crecimiento de cultivos de tejidos de plantas soportados en la superficie de dicho elemento tamizador en contacto óptimo con un medio de cultivo que llena dicho recipiente hasta el nivel de dicho elemento tamizador, estando dimensionado dicho elemento tamizador para permitir el paso de dicho medio de cultivo a su través mientras retiene dicho cultivo de tejidos en su superficie.

En una posible realización de la presente invención dicho elemento tamizador está soportado en salientes previstos en las paredes laterales interiores de dicho recipiente, mientras que en realizaciones preferidas de la invención, tal como se describe con mayor detalle más adelante, dicho elemento tamizador está soportado dentro de dicho recipiente en un elemento emparrillado a modo de palet posicionado en la superficie inferior interior de dicho recipiente, estando dotado dicho palet de aberturas que facilitan el flujo libre de líquido dentro de las zonas definidas por dicho emparrillado.

Preferiblemente dicho elemento tamizador tiene un tamaño de malla de aproximadamente 250 a 4000 micras y se prefiere especialmente un elemento tamizador que tiene un tamaño de malla de aproximadamente 500 hasta aproximadamente 700 micras.

En los sistemas hidropónicos y otros similares de brote de semillas, tales como se describen en las patentes USA 2.062.755; 4.057.930; 4.135.331; y 4.355.484 se describen diferentes disposiciones de tamices de soporte de

semillas y/o plantas, no obstante se proporcionan para so-
portar la semilla o planta por encima de un medio acuoso
o líquido de modo que no se ahoguen en él y dichas patentes
no describen ni sugieren el uso del elemento tamizador rei-
vindicado aquí en la técnica no análoga de la propagación
5 de cultivos de tejidos de planta ya que en la propagación
de cultivos de tejidos de planta, suelen empotrarse los pro-
págulos de cultivo de tejidos de planta en el medio de cul-
tivo y simplemente no existe el problema de ahogarse en lí-
quido.

Así, a pesar de que la técnica de cultivar plan-
tas sobre agua encima de tamices de soporte existe desde
hace cincuenta años según se describe, por ejemplo en la
patente USA 2.062.755, hasta ahora no se ha reconocido nin-
15 guna ventaja en el uso de un elemento tamizador en la propa-
gación de cultivos de tejidos de planta. Además, los elemen-
tos de soporte de tamiz utilizados en dichos sistemas hidro-
pónicos son de varios ordenes de magnitud mayores que los
que se utilizan en la presente invención y no están dimen-
sionados para permitir el paso del medio de cultivo a tra-
vés de ellos mientras retienen el cultivo de tejidos en su
20 superficie según se describe y se reivindica en el presente
modelo.

Dicho recipiente se hace preferiblemente de un
25 material susceptible de tratamiento en autoclave tal como
un plástico de policarbonato o material similar según se
describe, por ejemplo en las patentes USA 4.224.765 y

4.358.908.

Tal como ya se ha indicado la invención es útil primariamente en la producción de plantitas derivadas de cultivos de tejidos por procedimientos automatizados. Después de que se ha cortado y/o dividido el tejido de la planta a granel, debe transportarse mecánicamente a un recipiente de cultivo y plantarse en contacto con un medio en dicho recipiente de forma tal como para facilitar el crecimiento y el desarrollo del tejido. Ahora, puede lograrse de forma sencilla suspendiendo el tejido de planta en un líquido y dispensando esta suspensión volumetricamente a un recipiente de cultivos según la presente invención.

Quando se dispensa una mezcla de tejidos de planta y medio al recipiente de la presente invención, el medio atraviesa el tamiz mientras que los tejidos de planta quedan retenidos por el tamiz. Cuando se añade la mezcla hasta que el nivel del medio alcanza al nivel del tamiz, el material de planta está en una capa uniforme encima de una base de medio. Esta es la configuración óptima para el crecimiento y desarrollo del tejido para dar plantitas.

Otra ventaja del recipiente de la presente invención es permitir la transferencia a granel de cultivos de tejido en desarrollo a un medio sólido o líquido nuevo. Cuando se utiliza un medio a base de agar, el tejido de planta se adhiere sueltamente al tamiz, consiguientemente la transferencia a granel puede efectuarse simplemente tras pasando el tamiz a un nuevo recipiente que contiene una ba-

se de medio sólido o líquido. Alternativamente, si el cultivo de tejido está descansando en un medio líquido, entonces puede añadirse un medio nuevo al recipiente de cultivo después de retirar el medio agotado por aspiración.

5 Otra ventaja es permitir la retirada a granel de plantitas desarrolladas para su envasado y envío poco costosos.

Otra ventaja todavía es que permite un tamizado "in vitro" poco costoso de plantas crecidas para su resistencia al stress ambiental. O sea, las plantitas cultivadas sobre el elemento tamizador pueden transferirse a granel a un medio que contiene el agente contra el que se ha de hacer la selección. Aquí, simplemente, puede cambiarse el medio líquido por debajo del tamiz e introducirse el agente a combatir conjuntamente con el nuevo medio.

10

15

Ahora se describirá la invención en conexión con ciertas realizaciones preferidas con referencia a las figuras ilustrativas de modo que puede comprenderse mejor. Se hace hincapié, no obstante, en que los detalles ilustrados y descritos se dan a título de ejemplo y a efectos de una descripción ilustrativa únicamente y se presentan para proporcionar lo que se cree es la descripción más útil y más fácilmente entendida de los principios y aspectos conceptuales de la invención. En este sentido no se intenta ilustrar detalles estructurales del recipiente y sus partes componentes con mayor detalle que sea necesario para una comprensión fundamental de la invención, haciendo evidente a los

20

25

técnicos en la materia la descripción leída conjuntamente con los dibujos cómo puede realizarse la invención en la práctica.

En los dibujos:

5 la Figura 1 es una vista en sección transversal de un recipiente de cultivo construido de acuerdo con la presente invención;

la Figura 2 es una vista en planta desde arriba de un recipiente de cultivo construido de acuerdo con la presente invención, ilustrando un palet y sólo una parte de un elemento tamizador colocado por encima de aquél; y

10 la Figura 3 es una vista lateral de la tapa del recipiente.

Con referencia ahora a las figuras con detalle, se ve un recipiente 1 de policarbonato y susceptible de esterilizarse en autoclave dotado de un tamiz fino 2 de nylon de malla de 600 micras y susceptible de esterilizarse en autoclave a un cm por encima de la superficie inferior interior 3 del recipiente. El tamiz forma una superficie plana en el recipiente cubriendo toda su dimensión interior de modo que muy poco material de planta puede fluir alrededor del tamiz. El tamiz se apoya en un elemento emparrillado 4 de policarbonato como forma de paleta diseñada para permitir que el tamiz quede plano mientras se dispensa la mezcla de medio/tejido de planta. El palet 4 está diseñado también para establecer una distribución uniforme de medio en todo el recipiente, permitiendo que el medio fluya a través de

15
20
25

aberturas 5 en la parte inferior de las paredes del palet 4. Una vez lleno, se cierra el recipiente con una tapa 6 de policarbonato susceptible de esterilizarse en autoclave tal como se ilustra en la Figura 3 y está dimensionada para cerrar dicho recipiente 1 herméticamente.

En uso operativo, se dispensa uniformemente una mezcla de medio/tejido de planta para la superficie del tamiz 2. Cuando el medio alcanza el nivel del tamiz se termina el suministro. Así el recipiente está lleno de forma tal que una capa uniforme de tejidos de planta descansa sobre una base de medio y en buen contacto con élla y luego se sella el recipiente con su tapa 6.

Será evidente a los técnicos en la materia que la invención no está limitada a los detalles de la realización ilustrativa descrita arriba y que puede realizarse la presente invención en otras formas específicas sin separarse de sus atributos esenciales y por lo tanto se desea que se considere la presente realización en todos los aspectos como ilustrativa y no restrictiva, haciéndose referencia a las reivindicaciones anexas en vez de a la descripción que antecede y se tiene la intención por lo tanto de abarcar todos los cambios que caigan dentro de la significación y gama de equivalencia de la reivindicaciones.

A los efectos consiguientes, se declaran de novedad, propiedad y utilidad para España, sus territorios y plazas de soberanía, las reivindicaciones que siguen.

R E I V I N D I C A C I O N E S

1.- Recipiente para cultivos de tejidos de planta, caracterizado porque está dotado de un elemento tamizador fino substancialmente plano elevado por encima de la superficie inferior interior del recipiente, siendo dicho recipiente esterilizable, substancialmente sellable y adaptado para el crecimiento de cultivos de tejidos de planta soportados en la superficie de dicho elemento tamizador en contacto óptimo con el medio de cultivo que llena dicho recipiente hasta el nivel de dicho elemento tamizador, estando dimensionado dicho elemento tamizador para permitir el paso de dicho medio de cultivo a su través mientras retiene dicho cultivo de tejidos en su superficie.

2.- Recipiente según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho elemento tamizador está soportado dentro de dicho recipiente en un elemento emparrillado con forma de palet posicionado sobre la superficie inferior interior de dicho recipiente, estando dotado dicho palet de aberturas que facilitan el flujo libre de líquido dentro de las zonas definidas por dicho emparrillado.

3.- Recipiente según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho elemento tamizador está soportado en salientes previstos en las paredes interiores laterales de dicho recipiente.

4.- Recipiente según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho elemento tamizador tiene un tamaño de malia de aproximadamente 250 a 4000 micras.

5.- Recipiente según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho elemento tamizador tiene un tamaño de malla de aproximadamente 500 a 700 micras.

5 6.- Recipiente según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho recipiente está hecho de un material susceptible de esterilizarse en autoclave.

7.- Recipiente según la reivindicación 6, caracterizado porque dicho recipiente está hecho de plástico de policarbonato susceptible de esterilizarse en autoclave.

10 8.- Recipiente según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho elemento tamizador está posicionado a varios centímetros por encima de la superficie inferior interior del recipiente.

15 9.- Recipiente según la reivindicación 1, caracterizado además porque comprende una tapa dimensionada para cerrar herméticamente dicho recipiente después de su llenado.

20 10.- Recipiente según la reivindicación 9, caracterizado porque dicha tapa está hecha de material susceptible de esterilizarse en autoclave.

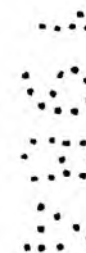
11.- "RECIPIENTE PARA CULTIVOS DE TEJIDOS DE PLANTA".

25 Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de trece hojas foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras y de una lámina

de dibujos que la ilustran.

BARCELONA, 25 JULIO 1984

P.A. M. CURELL SUÑOL

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Curell Suñol', written in a cursive style.

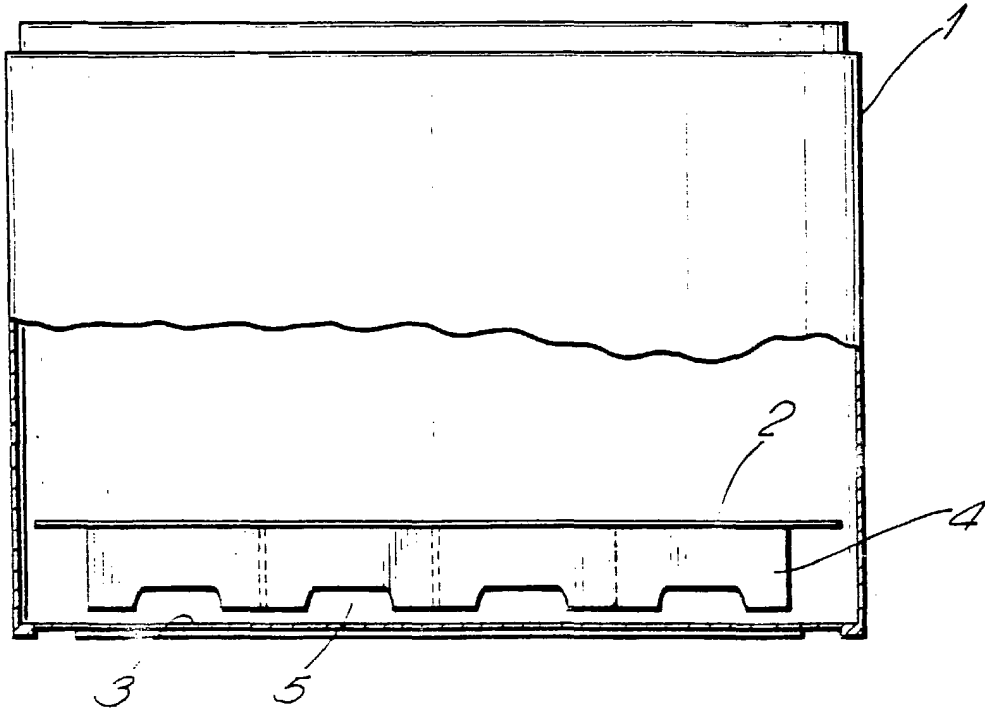
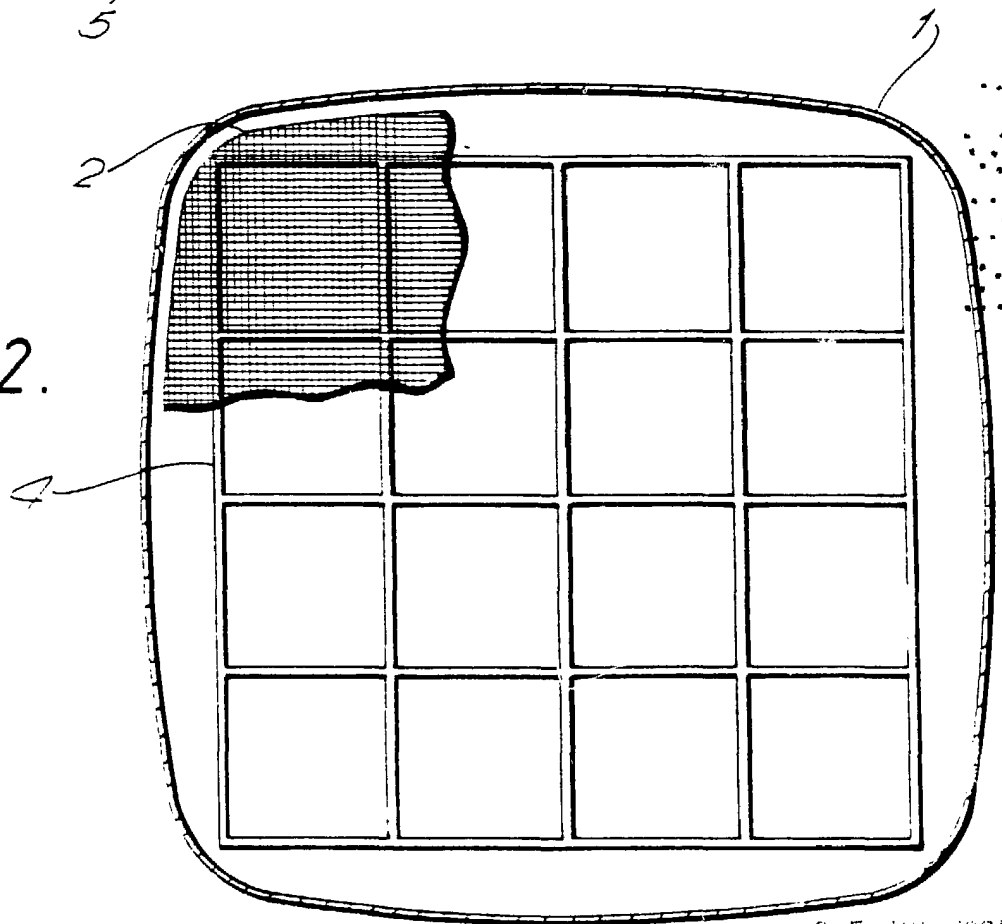


Fig . 1.

Fig . 2.



BARCELONA, 25 JUL. 1984

M. LURELL SURQL

M. Lurell
Fig . 3.

