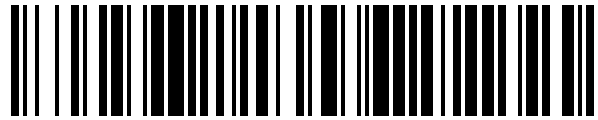


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 273 985**

21 Número de solicitud: 202131032

51 Int. Cl.:

**C12M 1/20** (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

**20.05.2021**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**14.07.2021**

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE LEÓN (100.0%)**

**Avenida De La Facultad 25**

**24071 LEÓN (León) ES**

72 Inventor/es:

**ÁLVAREZ GARCÍA, Samuel;**

**ENCINA GARCÍA, Antonio Esteban;**

**CASQUERO LUELMO, Pedro Antonio y**

**CARRO HUERGA, Guzman**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

54 Título: **CÁMARA DE CULTIVO PARA EVALUAR LOS EFECTOS DE COMPUESTOS VOLÁTILES EN LAS INTERACCIONES PLANTA-MICROORGANISMO**

**ES 1 273 985 U**

## DESCRIPCIÓN

### CÁMARA DE CULTIVO PARA EVALUAR LOS EFECTOS DE COMPUESTOS VOLÁTILES EN LAS INTERACCIONES PLANTA-MICROORGANISMO

#### 5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere a una cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo. La cámara de cultivo objeto de la invención es de aplicación en el campo de la investigación *in vitro* en botánica, fisiología vegetal y agricultura, y más concretamente en la categoría de recipientes y  
10 cámaras para el cultivo *in vitro* de plantas o partes de plantas.

#### **Antecedentes de la invención**

El trabajo de laboratorio con órganos y tejidos vegetales, o plantas completas, requiere de una tecnología *in vitro* específica que se adecúe a las características de estos seres vivos.  
15 En este contexto, existen numerosas cámaras y recipientes diseñadas para cultivar plantas y realizar experimentación en ambientes controlados. Estas cámaras son de diversa forma, tamaño y material, atendiendo a las especificidades y necesidades de cada investigación. En la actualidad los materiales más habituales en la fabricación de estas cámaras y recipientes son materiales plásticos y vidrio.

20 Por otro lado, la evaluación de la interacción entre microorganismos y plantas es un campo de creciente interés tanto en ciencia básica como aplicada, especialmente en agricultura y sectores relacionados. Estas interacciones pueden producirse a través del contacto directo entre los organismos o pueden estar mediadas por metabolitos producidos por los mismos.  
25 Estos metabolitos pueden ser solubles o volátiles. Existe numerosa bibliografía científica donde se expone la importancia y diversidad de efectos que dichos metabolitos tienen en el desarrollo y crecimiento de especies vegetales, así como en la interacción con microorganismos.

30 La evaluación de los efectos producidos por compuestos volátiles reviste una especial complejidad debido a las características fisicoquímicas de los mismos, por lo que existen en la actualidad diversas aproximaciones y metodología para llevar a cabo este tipo de experimentos. Estas metodologías pueden dividirse en dos grupos generales:

35 1- Sistemas pasivos, donde los compuestos volátiles difunden pasivamente de unos organismos a otros. Suelen ser sistemas basados en introducir recipientes con los organismos en recipientes más grandes donde se produce la interacción.

2- Sistemas activos, donde los volátiles son propulsados activamente para que pasen del espacio que ocupa un organismo al del otro. Estos dispositivos son más complejos y suelen requerir bombas, circuitos y una fuente de alimentación.

5 En la bibliografía científica se han descrito las siguientes metodologías generales para la realización de experimentos de competencia a través de compuestos volátiles:

- 10 - Placas Petri subdivididas. Se trata de placas con uno o más tabiques que dividen la superficie de placa en varias partes donde pueden cultivarse microorganismos y plantas sin que entren en contacto directo. Sistemas de este tipo se han utilizado tanto en modo cerrado, empleando parafilm u otro elemento adhesivo para el sellado de las zonas de unión entre elementos, como en modo abierto, omitiendo el uso de parafilm. Estos sistemas presentan un doble problema. En primer lugar, limitan el espacio de crecimiento del microorganismo y de la planta. En el caso particular de la planta es especialmente importante considerar que el cultivo en 15 placa Petri permite un crecimiento en altura de la planta muy moderado (apenas 10 mm). Por otro lado, el eventual contacto de la parte aérea de la planta con la tapa o paredes de la placa Petri puede suponer un factor de estrés mecánico que impediría la correcta interpretación de los resultados. El segundo problema tiene que ver con el riesgo de contaminación de la planta con el microorganismo.
- 20 - Introducción de las placas Petri abiertas dentro de recipientes más grandes. Se trata de contenedores plásticos que contienen compartimentos para el cultivo de plantas en sustratos de distinta naturaleza y espacio suficiente para alojar placas Petri abiertas con el cultivo microbiano. Este sistema es engorroso, supone un gasto extra y dificulta la manipulación y la toma de medidas durante el periodo que se 25 desarrolla el experimento. Normalmente estos sistemas se utilizan en modo cerrado mediante sellado del recipiente de mayor volumen. Una variante a este sistema consiste en situar el cultivo microbiano bajo el compartimento destinado al cultivo del material vegetal. De esta manera se consigue que los volátiles producidos por el microorganismo difundan pasivamente en el sustrato utilizado para el crecimiento 30 de las plantas.

La cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención se dirige a solucionar los citados problemas generados en la puesta a punto y desarrollo de los experimentos para identificar 35 compuestos volátiles activos y/o testar el efecto de dichos compuestos sobre el crecimiento

y desarrollo de plantas, así como la evaluación de los efectos producidos por compuestos volátiles emitidos por plantas o alguna de sus partes sobre otros organismos.

La cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención ofrece flexibilidad a los experimentos de competencia a través de compuestos volátiles, permitiendo modificar las condiciones de cultivo de forma eficiente para ajustarse a las necesidades de la investigación, principalmente en los requisitos de espacio para el crecimiento de plantas, la regulación de los intercambios gaseosos con el exterior, y reduciendo las contaminaciones cruzadas.

También existe un número limitado de documentos del estado de la técnica referidos a cámaras de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles sobre plantas. Estos documentos comparten una parte importante de la función general de la presente cámara de cultivo objeto de la invención, pero difieren sustancialmente tanto en la estructura del diseño, como en las funcionalidades específicas concretas en lo referente a ventilación, extracción de compuestos volátiles y disposición de los elementos que la forman.

### **Descripción de la invención**

Es objeto de la invención una cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo; así como el efecto de estos mismos compuestos volátiles sobre plagas o enfermedades de plantas cuando se encuentran interaccionando con estas; o, adicionalmente, la evaluación de los efectos producidos por compuestos volátiles emitidos por plantas o alguna de sus partes sobre otros organismos.

La presente cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo comprende: un primer receptáculo, un segundo receptáculo, y una pieza central entre el primer receptáculo y el segundo receptáculo.

Los receptáculos comprenden una pared externa y una pared perimetral perpendicular a la pared externa, y donde la pieza central comprende una pared intermedia con al menos un primer orificio, y dos paredes laterales que se proyectan desde el perímetro de la pared intermedia en sentidos opuestos, tal que las paredes laterales de la pieza central rodean las paredes perimetrales de los receptáculos y las paredes perimetrales de los receptáculos se apoyan en la pared intermedia de la pieza central. La pared perimetral del primer receptáculo tiene una altura diferente a la pared perimetral del segundo receptáculo.

En la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención la pared intermedia de la pieza central comprende una primera cara enfrentada con el primer receptáculo y una segunda cara enfrentada con el segundo receptáculo, donde la primera cara y la segunda cara son  
5 lisas.

En la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención la pared intermedia de la pieza central comprende una primera cara enfrentada con el primer receptáculo y una segunda  
10 cara enfrentada con el segundo receptáculo, donde al menos una de las caras puede comprender una pluralidad de pestañas donde se apoya la pared perimetral de un receptáculo, facilitando así el intercambio gaseoso con el exterior.

En la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las  
15 interacciones planta-microorganismo objeto de la invención, la pieza central puede comprender un reborde interno en al menos una de las caras de la pared intermedia, tal que el reborde interno y la pared lateral configuran un alojamiento para el extremo de la pared perimetral de uno o ambos receptáculos quedando así enclavados.

20 En la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención la pieza central puede comprender un reborde en al menos una de las caras de la pared intermedia, tal que el reborde y la pared intermedia están configurados para alojar una membrana o filtro y/o para evitar el goteo de líquidos desde la primera cara.

25 La cámara cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención puede comprender una membrana o filtro cubriendo el primer orificio de la pared intermedia de la pieza central, donde la membrana o filtro es porosa y permite el paso del aire y compuestos volátiles, y bloquea el paso de  
30 elementos de mayor tamaño.

En la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención la pared perimetral de al menos un receptáculo puede comprender un segundo orificio cubierto por un septo, diafragma o  
35 válvula, tal que el segundo orificio impide la libre salida de gases al exterior a través de

dicho segundo orificio y permite la extracción de los mismos del interior de la cámara mediante punción con elementos de tipo jeringuilla o unión mediante un tubo.

5 La cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención puede comprender al menos un tabique en al menos un receptáculo, tal que el tabique divide en partes independientes el interior de dicho receptáculo.

### **Breve descripción de los dibujos**

10 Para complementar la descripción que seguidamente se va a realizar y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, se acompaña a la presente memoria descriptiva de un juego de dibujos en base a los que se comprenderán más fácilmente las innovaciones y ventajas del dispositivo objeto de la invención.

15 La figura 1 muestra una vista en explosión de la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención.

20 La figura 2 muestra una vista en explosión de la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención en orientación opuesta a la figura 1.

25 La figura 3 muestra una vista en sección de la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención montada.

La figura 4 muestra una vista en sección de la cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención montada en orientación opuesta a la figura 3.

30 La figura 5 muestra secciones de tres formas de realización de los medios de unión entre los dos receptáculos y la pieza central y una tercera sección mostrando las pestañas para proporcionar una cámara de cultivo con aireación.

35 Las figuras 6a y 6b muestran en detalle el primer orificio central de la pared intermedia horizontal del elemento intermedio, con una variante donde la pared intermedia horizontal es lisa (a), y otra variante con un reborde en torno a dicho primer orificio (b). Ambas

variantes presentan a su vez una variante en la que el primer orificio está abierto, y otra variante donde está cubierto por una membrana o filtro.

Las distintas referencias numéricas que se encuentran reflejadas en las figuras  
5 corresponden a los siguientes elementos:

1. primer receptáculo,
2. segundo receptáculo,
3. pieza central,
- 10 4. pared externa,
5. pared perimetral,
6. pared intermedia,
7. pared lateral,
8. primera cara,
- 15 9. segunda cara,
10. pestañas,
11. primer orificio,
12. segundo orificio,
13. membrana o filtro,
- 20 14. reborde,
15. reborde interno,
16. alojamiento.

#### **Descripción detallada de la invención**

25 La cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo objeto de la invención comprende un primer receptáculo (1) y un segundo receptáculo (2) y una pieza central (3) que se sitúa entre el primer receptáculo (1) y el segundo receptáculo (2), donde el segundo receptáculo (2) es de mayor dimensión que el primer receptáculo (1).

30

Los receptáculos (1, 2), en la realización preferente de la invención, tienen forma de revolución, y sobre ellos se coloca el medio nutritivo o sustrato para el cultivo. La pieza central (3), en la realización preferente de la invención, también tiene forma de revolución y un diámetro ligeramente superior al diámetro de los receptáculos (1, 2).

35

Los receptáculos (1, 2) comprenden una pared externa (4) que, en la realización preferente de la invención, es de forma circular y lisa en su cara interna, y también comprenden una pared perimetral (5) que surge perpendicular a la pared externa (4).

5 En la realización preferente de la invención, la pared perimetral (5) del primer receptáculo es de menor dimensión que la pared perimetral (5) del segundo receptáculo (2), de este modo la cámara de cultivo comprende un primer receptáculo (1), con una menor altura de su pared perimetral (5), y un segundo receptáculo (2), con una mayor altura de su pared perimetral, tal y como se expuso antes en esta misma descripción.

10

En la realización preferente de la invención, la pared perimetral (5) del segundo receptáculo (2) presenta una altura entre 4 y 8 veces superior a la de la pared perimetral (5) del primer receptáculo (1), no limitando esta realización preferente otras posibles realizaciones que presentan alturas diferentes de las paredes perimetrales (5) de los dos receptáculos (1, 2).

15

Los dos receptáculos (1, 2) pueden colocarse indistintamente en la parte superior o inferior de la cámara, atendiendo a las necesidades concretas de uso en cada caso.

20 La pieza central (3) comprende una pared intermedia (6) y dos paredes laterales (7) que se proyectan desde el perímetro de la pared intermedia (6) en sentidos opuestos. La pared intermedia (6) comprende una primera cara (8) orientada hacia uno de los receptáculos y una segunda cara (9) orientada hacia el otro receptáculo.

25 Para fijar la pieza central (3) y los receptáculos (1, 2) la pieza central (3) puede comprender un reborde interno (15) en al menos una de las caras (8, 9) de la pared intermedia (6) de modo que el reborde interno (15) y la pared lateral (7) configuran un alojamiento (16) para el extremo de la pared perimetral (5) de un receptáculo (1, 2) quedando así enclavados ambos elementos. Este reborde interno (15) puede ser sustituido por cualquiera otro sistema de enclavado que sirva al mismo propósito.

30

Además, la pared intermedia (6) aloja un primer orificio (11), que es circular en la realización preferente de la invención. El diámetro del primer orificio (11) en la realización preferente de la invención, es aproximadamente de un tercio del diámetro de la pared intermedia (6). Sin embargo, es posible que en lugar de alojar un único primer orificio (11) la pared intermedia (6) aloje más de un primer orificio (11) que tengan otras formas y tamaños diferentes al propuesto en la realización preferente. El primer orificio (11) u orificios (11)

35



están configurados para permitir el libre intercambio gaseoso entre ambos receptáculos (1, 2) de la cámara de cultivo y limitar las posibilidades de contaminación cruzada entre ambos receptáculos (1, 2).

5 El primer orificio (11) de la cámara de cultivo objeto de la invención, puede estar cubierto por una membrana o un filtro (13), que es poroso, de modo que permite el paso del aire y compuestos volátiles, pero impide el paso de elementos de mayor tamaño, como las esporas fúngicas. Estos elementos, membrana o filtro (13), pueden presentarse adheridos de forma industrial al contorno del primer orificio (11), a una parte o la totalidad de alguna  
10 de las caras (8, 9) de la pared intermedia (6) de la pieza central o también puede fijarse por medios mecánicos a cualquiera de las caras (8, 9) de la pared intermedia (6).

En una realización alternativa, la pieza central (3) comprende un reborde (14) en al menos una de las caras de la pared intermedia (6) en torno al primer orificio (11) y separada del  
15 borde de este, de modo que el reborde (14) actúa como asiento para la colocación de la membrana o filtro (13) y/o impide el goteo de líquidos. El reborde (14) se alza perpendicular a la pared intermedia (6) y paralelo a las paredes laterales (7) de la pieza central (3) y es de una altura inferior a la altura de la pared perimetral (5).

20 En la cámara de cultivo objeto de la invención la pieza central (3) encaja y descansa sobre un receptáculo (1, 2) colocado en la parte inferior a la vez que permite al otro receptáculo (1, 2), colocado en la parte superior, encajar y descansar sobre ella, de modo que la pared perimetral (5) de cada receptáculo (1, 2) encaja en una de las paredes laterales (7) de la pieza central (3), además las paredes perimetrales (5) de los receptáculos (1, 2) se apoyan  
25 sobre la pared intermedia (6) de la pieza central (3), de modo que los receptáculos (1, 2) se encuentran enfrentados y generan una cámara interior compuesta por el volumen de ambos receptáculos (1, 2) dispuestos simétricamente y parcialmente comunicados a través del primer orificio (11) de la pared intermedia (6) de la pieza central (3).

30 El encaje entre la pieza central (3) y los receptáculos (1, 2) da estabilidad a la cámara de cultivo en conjunto y mantiene unidos los componentes cuando no se está manipulando la cámara de cultivo.

La pared intermedia (6) de la pieza central (3) es paralela a las paredes externas (4) de los  
35 receptáculos (1, 2).

En la realización preferente de la invención, la presente cámara de cultivo está fabricada en vidrio o en materiales plásticos transparentes conocidos en la fabricación de otras cámaras de cultivo. Sin embargo, la cámara de cultivo, en realizaciones alternativas, está realizada en cualesquiera otros materiales adecuados a su función.

5

Aunque en la realización preferente de la invención, los receptáculos (1, 2) y la pieza central (3) tienen forma de revolución, existen realizaciones alternativas en las que la forma puede variar. Tanto los receptáculos (1, 2) como la pieza central (3) pueden tener forma cuadrada, rectangular, etc.

10

En la realización preferente de la invención tanto la primera cara (8) como la segunda cara (9) de la pared intermedia (6) de la pieza central (3) son lisas, y por tanto se genera un contacto continuo con el extremo de las paredes perimetrales (5) de los receptáculos (1, 2) limitando así el intercambio gaseoso con el exterior de la cámara de cultivo (cámaras no ventiladas). Sin embargo, en realizaciones alternativas, la primera cara (8) y/o la segunda cara (9) pueden presentar pestañas (10) que impidan un contacto continuo y que, por tanto, formen huecos a través de los cuales se produce un determinado intercambio gaseoso con el exterior (cámaras ventiladas). Existen realizaciones en las que se combinan caras lisas y caras con pestañas (10) de manera que se puede dar ventilación a cualquiera de los dos receptáculos (1, 2) independientemente. Esto da gran versatilidad a la presente invención, permitiendo variar las condiciones de cultivo y seleccionar aquellas más adecuadas para cada experimento concreto.

15

20

25

30

Aunque en la realización preferente de la invención, las paredes perimetrales (5) de ambos receptáculos (1, 2) son continuas, en realizaciones alternativas, la pared perimetral (5) de uno o ambos receptáculos (1, 2) pueden comprender un segundo orificio (12) configurado para extracción de volátiles, estando dicho segundo orificio (12) cubierto por un septo, diafragma o válvula que impide la libre salida de gases al exterior a través de dicho segundo orificio (12) y permite la extracción de los mismos del interior de la cámara mediante punción con elementos de tipo jeringuilla o unión mediante un tubo.

35

Aunque en la realización preferente de la invención, las caras internas de ambos receptáculos (1, 2) son lisas, en realizaciones alternativas pueden aparecer uno o varios tabiques que subdividen en dos o más partes independientes el interior de uno o de ambos receptáculos (1, 2) permitiendo varios cultivos independientes en el mismo receptáculo (1, 2).

**REIVINDICACIONES**

1. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo, que comprende un primer receptáculo (1), un segundo receptáculo (2), y una pieza central (3) entre el primer receptáculo (1) y el segundo receptáculo (2), donde los receptáculos (1, 2) comprenden una pared externa (4) y una pared perimetral (5) perpendicular a la pared externa (4), y donde la pieza central (3) comprende una pared intermedia (6) con al menos un primer orificio (11), y dos paredes laterales (7) que se proyectan desde el perímetro de la pared intermedia (6) en sentidos opuestos, tal que las paredes laterales (7) de la pieza central (3) rodean las paredes perimetrales (5) de los receptáculos (1, 2) y las paredes perimetrales (5) de los receptáculos (1, 2) se apoyan en la pared intermedia (6) de la pieza central (3),

**caracterizado por** que la pared perimetral (5) del primer receptáculo (1) tiene una altura diferente a la pared perimetral (5) del segundo receptáculo (2).

15

2. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo según la reivindicación 1, **caracterizada por** que la pared intermedia (6) de la pieza central (3) comprende una primera cara (8) enfrentada con el primer receptáculo (1) y una segunda cara (9) enfrentada con el segundo receptáculo (2), donde la primera cara (8) y la segunda cara (9) son lisas.

20

3. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo según la reivindicación 1, **caracterizada por** que la pared intermedia (6) de la pieza central (3) comprende una primera cara (8) enfrentada con el primer receptáculo (1) y una segunda cara (9) enfrentada con el segundo receptáculo (2), donde al menos una de las caras (8, 9) comprende una pluralidad de pestañas (10) para apoyo de la pared perimetral (5) de un receptáculo (1, 2) para intercambio de gases con el exterior.

25

4. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada por** que la pieza central (3) comprende un reborde interno (15) en al menos una de las caras (8, 9) de la pared intermedia (6), tal que el reborde interno (15) y la pared lateral (7) configuran un alojamiento (16) para el extremo de la pared perimetral (5) de uno o ambos receptáculos (1, 2) quedando así enclavados.

35

5. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizada por** que la pieza central (3) comprende un reborde (14) en al menos una de las caras (8, 9) de la pared intermedia (6), tal que el reborde (14) y la pared intermedia (6) están configurados para alojar una membrana o filtro (13).

6. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada por** que comprende una membrana o filtro (13) cubriendo el primer orificio (11) de la pared intermedia (6) de la pieza central (3).

7. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada por** que la pared perimetral (5) de al menos un receptáculo (1, 2) comprende un segundo orificio (12) cubierto por un septo, diafragma o válvula, configurado para extraer volátiles.

8. Cámara de cultivo para evaluar los efectos de compuestos volátiles en las interacciones planta-microorganismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizada por** que comprende al menos un tabique en al menos un receptáculo (1, 2), tal que el tabique divide en partes independientes el interior de dicho receptáculo (1, 2).

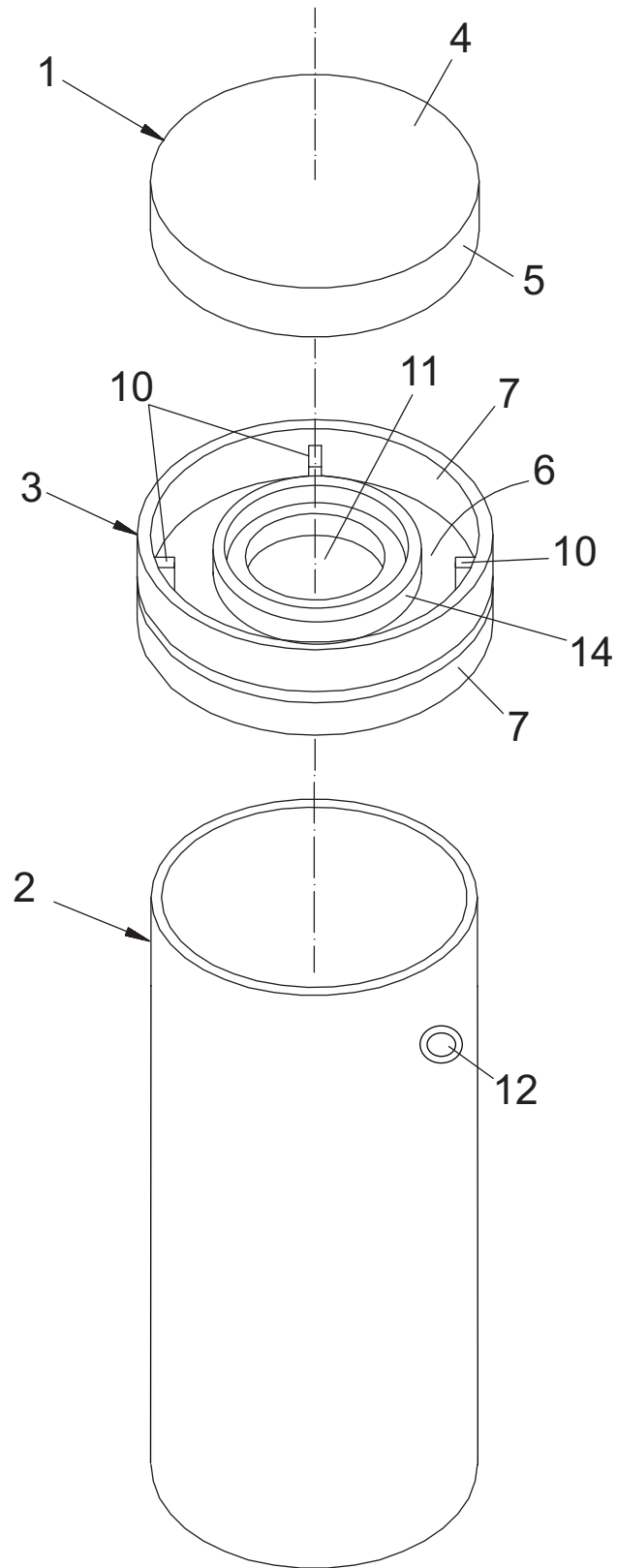


Fig. 1

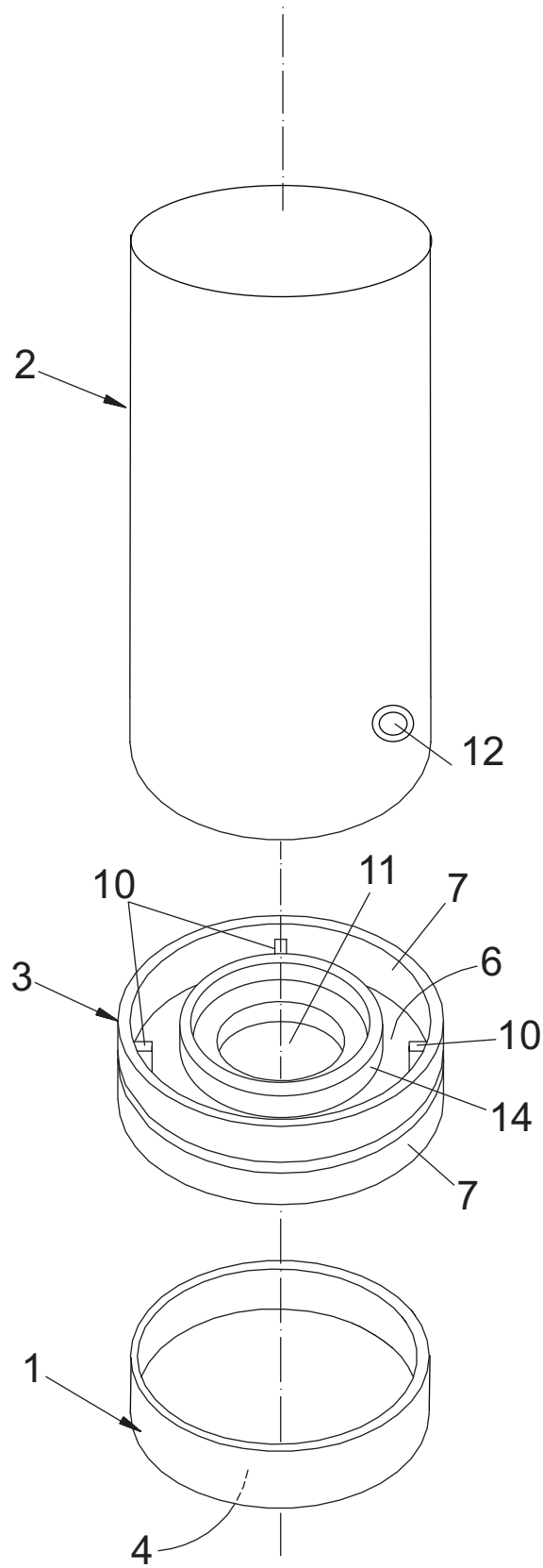


Fig. 2

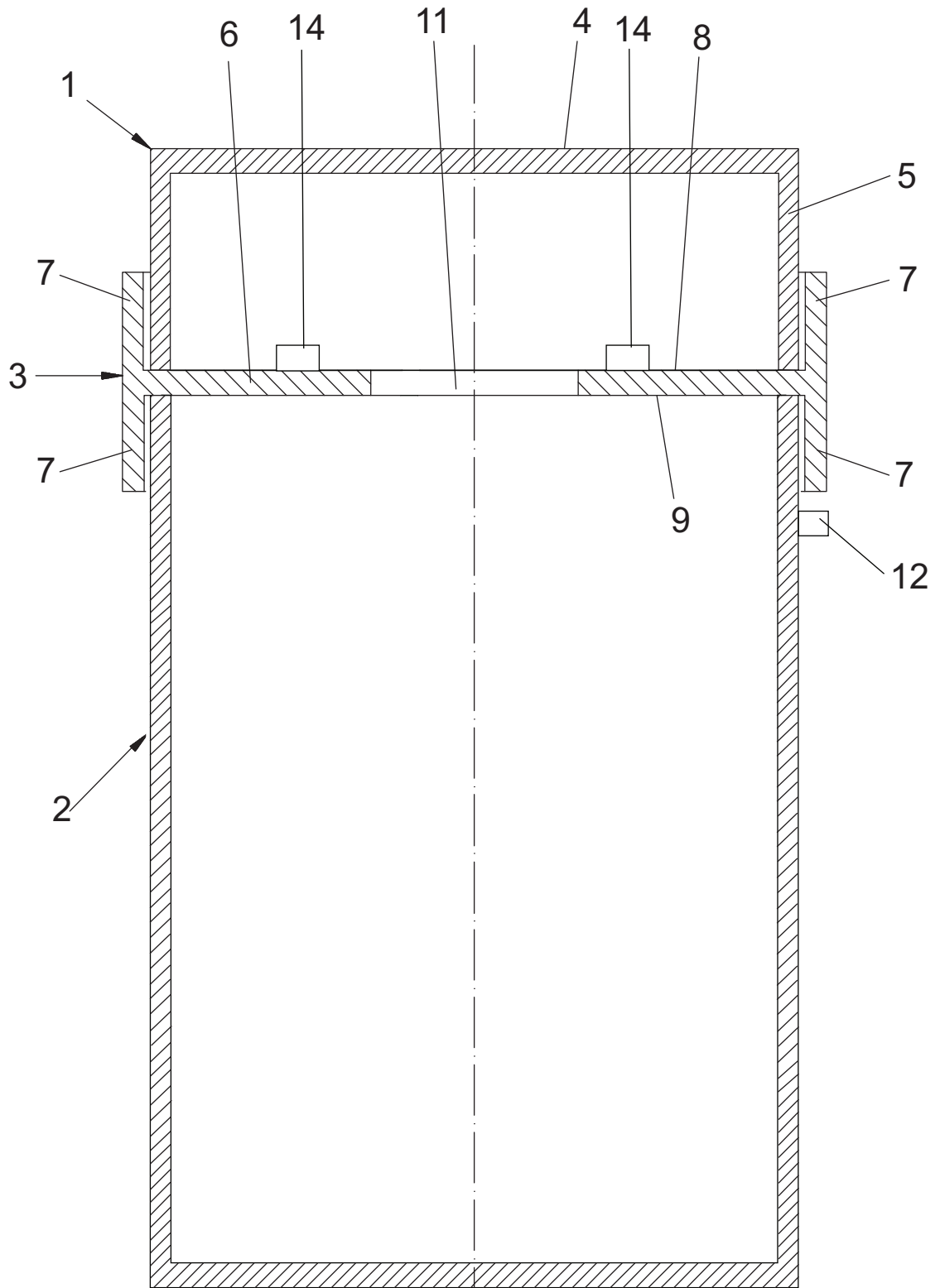


Fig. 3

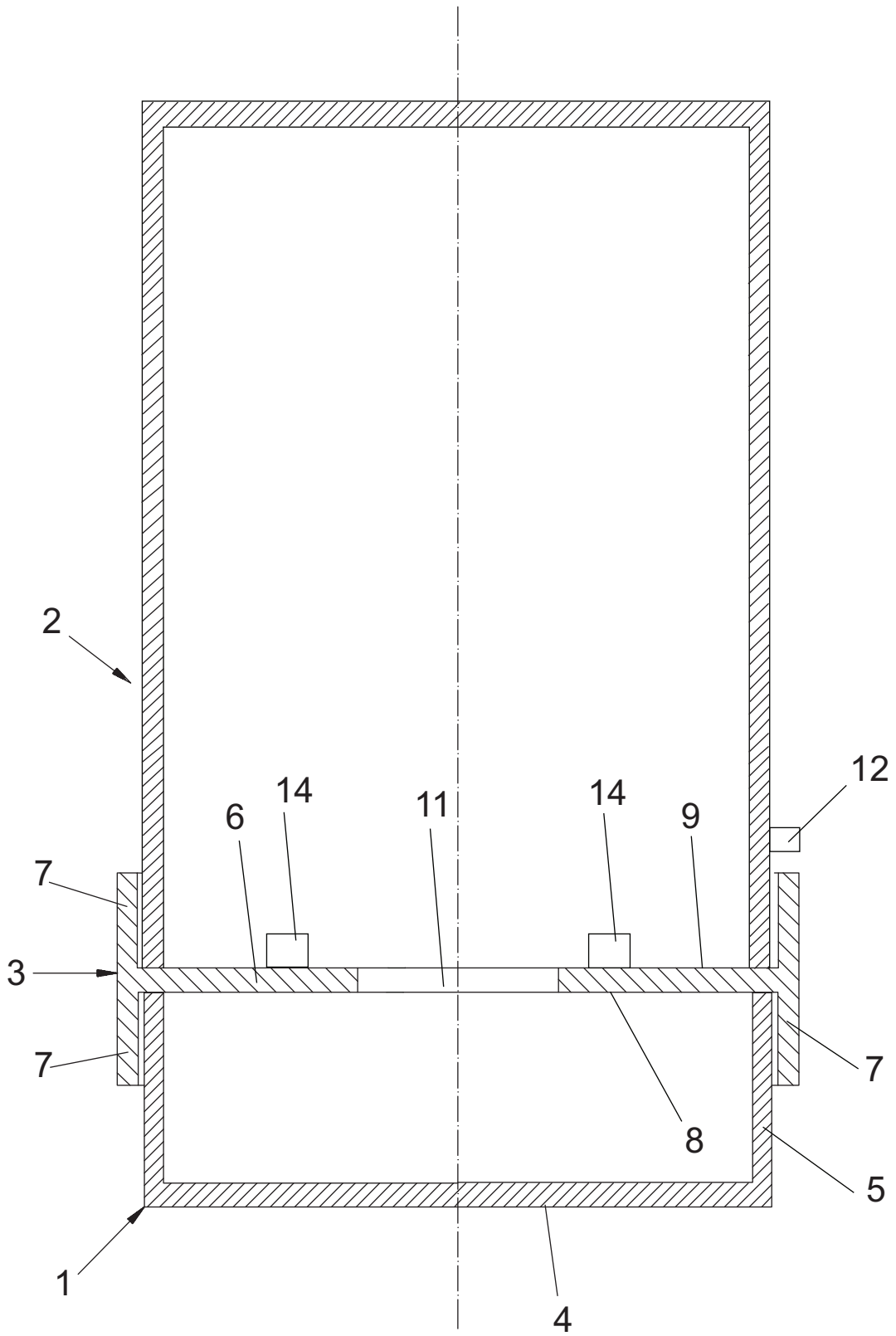
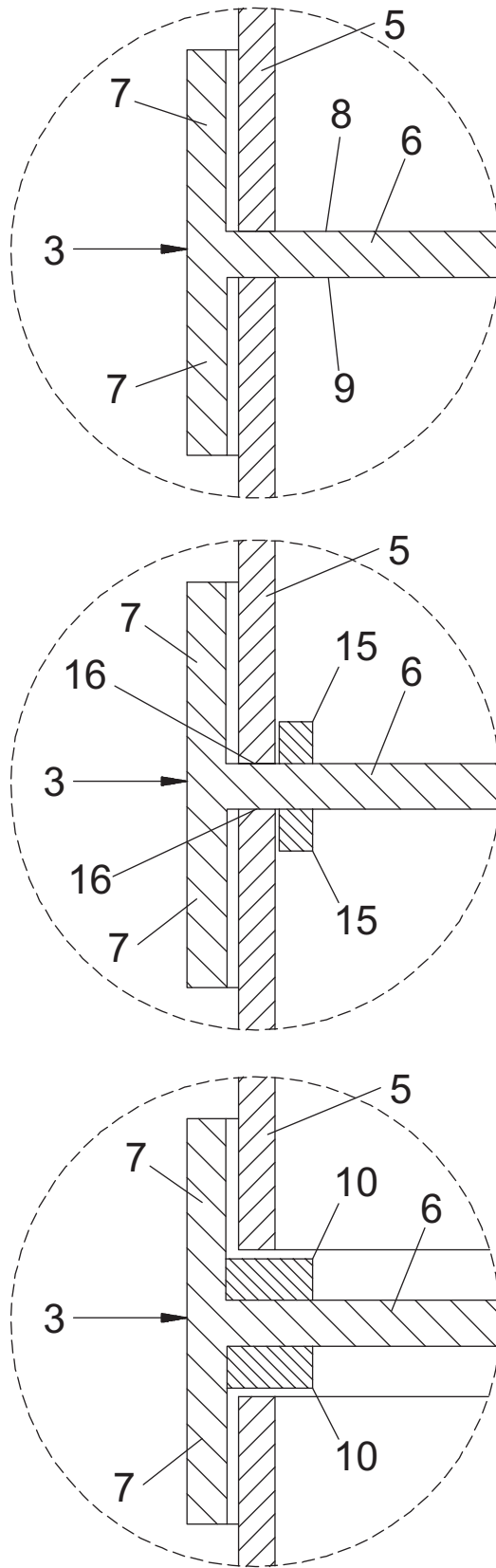


Fig. 4





**Fig. 5**

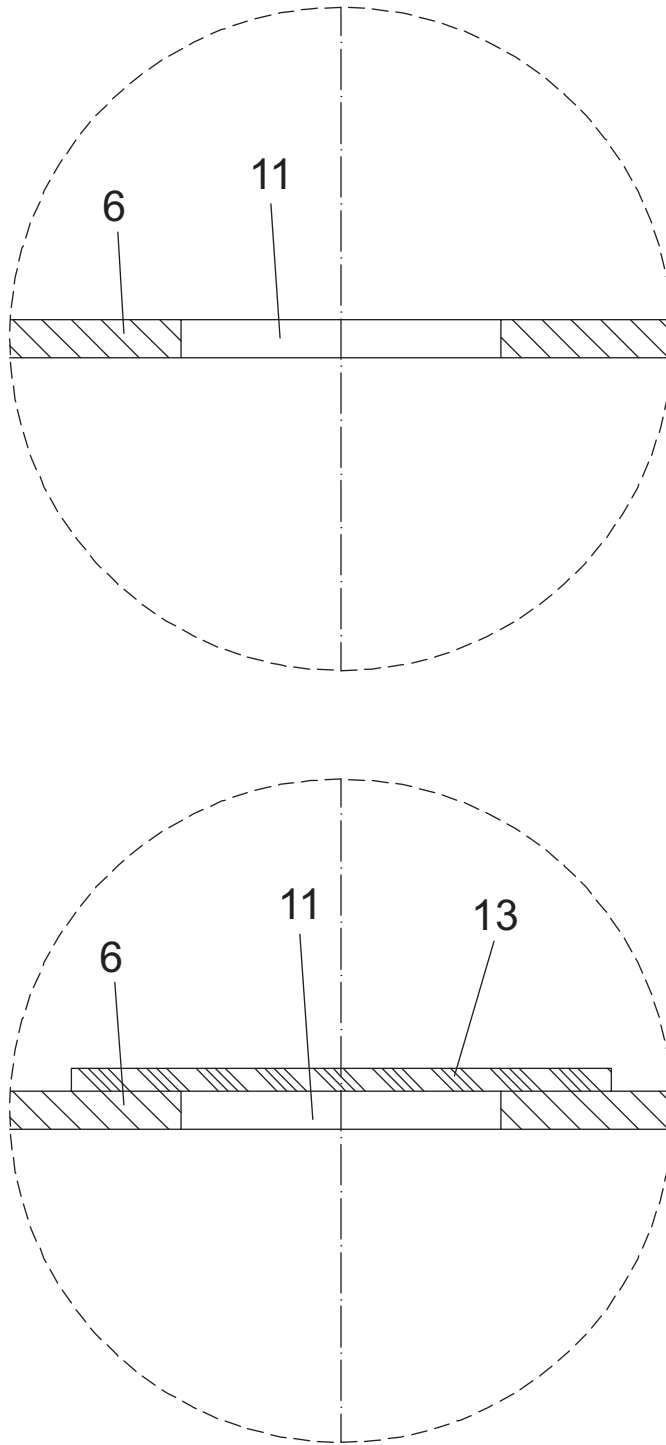


Fig. 6a

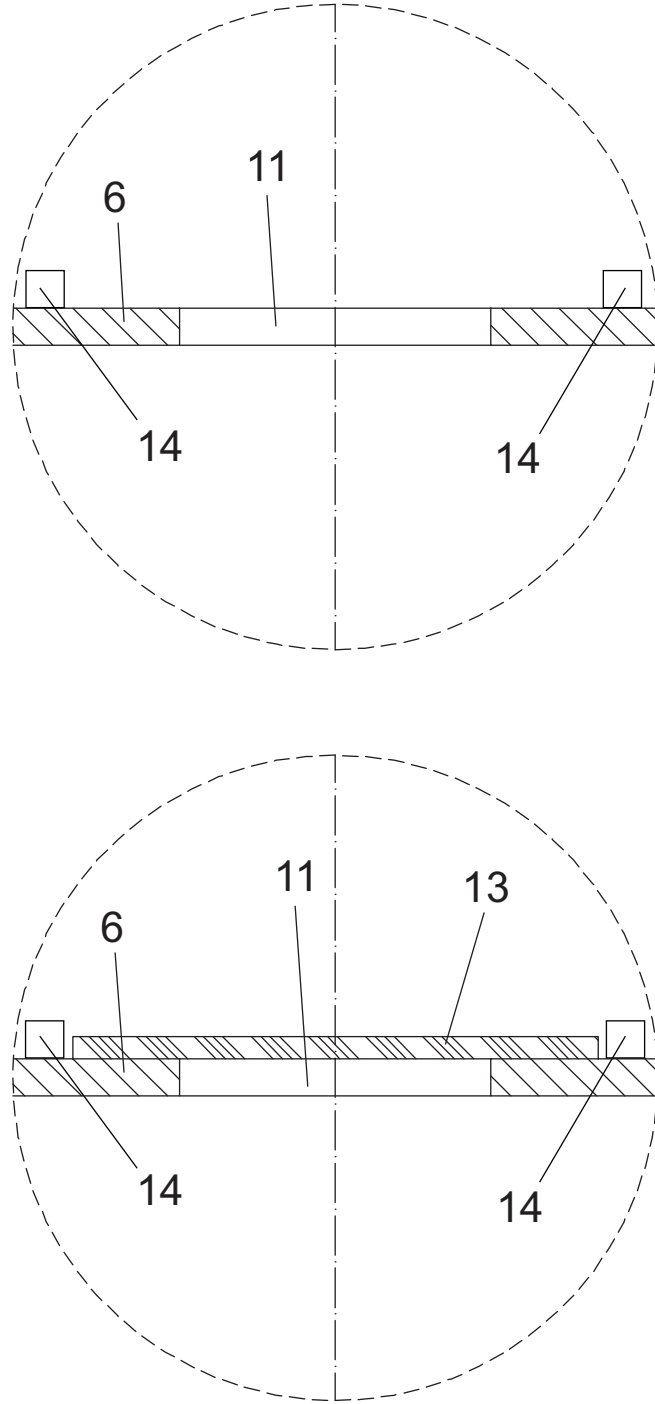


Fig. 6b