

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 156 236**

21 Número de solicitud: 201630487

51 Int. Cl.:

**A01K 67/033** (2006.01)

**A01N 1/00** (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

**19.04.2016**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**11.05.2016**

71 Solicitantes:

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y  
TECNOLOGÍA AGRARIA Y ALIMENTARIA (INIA)**

**(100.0%)**

**Ctra. de la Coruña Km 7,5**

**28040 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**GÁLVEZ ÁLVAREZ, José Manuel**

74 Agente/Representante:

**ILLESCAS TABOADA, Manuel**

54 Título: **Incubadora de nematodos**

**ES 1 156 236 U**

**DESCRIPCIÓN**

Incubadora de nematodos

5

**OBJETO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a equipos de laboratorio y dispositivos de investigación biológica.

10

Más en particular, el dispositivo de la invención es una incubadora destinada a la cría de nematodos utilizando material vegetal.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

15

En el estudio de las enfermedades que afectan a distintas especies de plantas es habitual inocular patógenos a muestras seleccionadas de dichas especies de plantas. Para que estos estudios puedan arrojar resultados concluyentes es conveniente poder cuantificar de forma precisa las dosis de patógenos inoculadas.

20

Un tipo de patógenos frecuentemente utilizado en dichos experimentos es el de los nematodos: gusanos pseudocelomados que parasitan a diversas especies de plantas, penetrando en su interior, para alimentarse y poner huevos. Se prefiere especialmente el uso de juveniles de nematodos (a los que se hará referencia en la presente simplemente como “juveniles”) en su primer y/o segundo estadio. El uso de dichos juveniles permite cuantificar de forma precisa las dosis de nematodo inoculado.

25

A los efectos de la presente memoria técnica el estado “juvenil” aplicado a nematodos comprende distintas fases entre las cuales se encuentran la formación del nematodo dentro del huevo (que corresponde a juveniles en el primer estadio) y la eclosión del huevo que resulta en la aparición de juveniles con capacidad infectiva (que corresponde a juveniles en el segundo estadio).

30

En el estado de la técnica más utilizada actualmente se conocen distintos procedimientos y dispositivos utilizados para la incubación de nematodos. Uno de ellos, es el llamado embudo de Baermann. Dicho dispositivo comprende un embudo provisto de una porción superior, de

35

forma cónica, que se estrecha progresivamente hasta formar un conducto (o porción inferior del embudo), estando unido dicho conducto al extremo superior de un tubo de salida. El extremo inferior del tubo de salida, está provisto -a su vez- de unos medios de apertura / cierre.

5

Los medios de apertura / cierre tienen dos posiciones diferentes: una posición “cerrada” en la que bloquean el extremo inferior del tubo y una posición “abierta”, en la que no lo hacen. Como se describirá en detalle más adelante, los medios de apertura / cierre se encuentran habitualmente en la posición “cerrada”, salvo durante la recogida de juveniles.

10

Dentro de la porción superior, cónica, del embudo está dispuesto un receptáculo, sumergido -al menos parcialmente- en agua. En el interior del receptáculo se alojan raíces infectadas, que contienen en su interior masas de huevos de nematodos en estadio 1 los cuales, al eclosionar, darán lugar a nematodos en el estadio 2. Dicho receptáculo está, además, abierto por uno de sus extremos, llamado boca y está dispuesto en posición invertida en el interior del embudo, es decir, con su boca orientada hacia el conducto del embudo. Sobre la boca está dispuesto un filtro (hecho frecuentemente papel, gasa o tela,) y un tamiz (hecho frecuentemente de acero inoxidable).

15

20

Al estar el receptáculo en posición invertida, el agua presente en el embudo penetra a través de la boca y entra en contacto con la materia vegetal inoculada/infectada, manteniéndola hidratada. Esto permite que los huevos de nematodos puedan crecer en el interior de los tejidos vegetales hasta que eclosionan: la materia vegetal muere y los juveniles de nematodos salen al exterior. Entonces, dichos juveniles de nematodos precipitan por gravedad depositándose en la parte inferior del tubo (al estar los medios de apertura / cierre en la posición cerrada).

25

30

Para recoger los juveniles de nematodos, se coloca un recipiente de recogida debajo de la parte inferior del tubo y se colocan los medios de apertura / cierre en la posición abierta, de tal forma que dichos nematodos puedan caer por gravedad al interior del recipiente de recogida.

35

Para mantener vivos los juveniles de nematodos incubados en un embudo de Baermann y evitar procesos de descomposición en el agua, es necesario recoger manualmente dichos juveniles, vaciar manualmente el agua acumulada en el embudo y rellenar manualmente dicho embudo de Baermann con agua nueva, con una periodicidad de entre uno y tres días.

Esto hace que el proceso de incubación de juveniles de nematodos en embudos de Baermann sea complicado, costoso y tedioso.

5 Asimismo, los embudos de Baermann no permiten contabilizar a priori, es decir antes de recogerlos, la concentración de juveniles de nematodos incubada dentro del dispositivo. Esto provoca que, en ocasiones, dichos juveniles de nematodos se recojan antes de que se hayan incubado en una cantidad suficiente, que permita su uso en aplicaciones experimentales.

10 Por último, en los embudos de Baermann el rendimiento de incubación de juveniles de nematodos puede verse afectado por variaciones súbitas en las condiciones ambientales, por ejemplo, de la temperatura y/o grado de humedad, a las que se ven sometidos los huevos / juveniles de nematodos o porque dichas condiciones ambientales dificulten el desarrollo de su ciclo biológico.

15 De hecho, las condiciones de temperatura y humedad son determinantes en la eclosión de los huevos de nematodos, los cuales pueden llegar a no eclosionar por tener una temperatura inadecuada (tanto por exceso, como por defecto de temperatura) y/o una humedad inadecuada. Así, un déficit de humedad provoca que las raíces no estén lo suficientemente hidratadas como para permitir el correcto desarrollo de los huevos de nematodos, mientras  
20 que si existe un exceso de humedad, puede provocarse la podredumbre de dichas raíces.

En vista de lo anterior, existe la necesidad de una incubadora de nematodos que supere las desventajas anteriormente señaladas y cumpla, simultáneamente, todos los siguientes requisitos:

25

i) Que permita el control de las condiciones ambientales para que el rendimiento de incubación de juveniles de nematodos sea estable, predecible y elevado;

ii) Que simplifique el proceso de incubación; y

30 iii) Que permita medir la concentración de juveniles de nematodos antes de su recogida.

## **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

35 La presente invención, pretende abordar los problemas y desventajas de la técnica anterior arriba indicados, proporcionando una incubadora de nematodos que comprende:

- Una porción superior;
  - Una porción intermedia en forma de embudo o tolva, acoplable a la porción superior que delimita, junto con dicha porción superior, un espacio interior cerrado y
- 5
- Una porción inferior, en forma de recipiente decantador, acoplable a la porción intermedia;

Caracterizada porque:

- 10
- en el espacio interior cerrado están provistos, entre otros componentes: un nebulizador de agua conectado a unos medios de suministro de agua; unos medios de climatización, al menos unos medios de control de la temperatura y/o humedad;
  - la porción intermedia está provista de una plataforma horizontal con perforaciones, destinada a alojar materia vegetal inoculada/infectada con huevos
- 15
- de nematodos, y/o con nematodos capaces de reproducirse;
  - la porción inferior está provista de al menos un orificio y/o conducto de salida de agua; y porque
  - también está provista de un dispositivo medidor de la concentración de juveniles
- 20
- de nematodos.

En la presente memoria descriptiva debe entenderse que los términos “superior”, “intermedio” e “inferior” se refieren a la dirección vertical, siendo esta dirección aquella según la cual discurre la fuerza de la gravedad. Asimismo, el término “horizontal” se refiere a una dirección

25

contenida en un plano perpendicular a la dirección vertical.

En las incubadoras de nematodos según la invención, la materia vegetal infectada se dispone en la plataforma horizontal con perforaciones, provista en la porción intermedia. Los medios de control de la temperatura y la humedad mantienen el espacio interior cerrado de dichas

30

incubadoras en unas condiciones ambientales que favorecen el desarrollo de los huevos de nematodos, según se describirá más en detalle a continuación. Esto permite a las incubadoras según la invención controlar las condiciones ambientales para que el rendimiento de incubación de juveniles de nematodos sea estable, predecible y elevado.

35

Así, en una posible realización de la invención, dada únicamente a modo de ejemplo y sin carácter limitativo, la incubadora comprende unos medios de control de la humedad que

activan de forma periódica el nebulizador de agua. Al activarse, el nebulizador genera una nube formada por gotas de agua nebulizada y oxígeno, que cae sobre la materia vegetal inoculada/infectada, manteniéndola hidratada sin llegar a encharcarla. Esto es posible porque, tan pronto como las gotas de agua nebulizada empiezan a acumularse sobre la materia vegetal inoculada/infectada, las perforaciones provistas en la plataforma horizontal hacen que una fracción de dichas gotas de agua acumuladas caiga por gravedad hasta la porción inferior, saliendo de la incubadora a través del conducto(s) y/o orificio(s) de salida de agua. Esta configuración particular, característica de la presente invención, también permite que la materia vegetal inoculada/infectada se mantenga oxigenada, evitando la aparición de procesos de descomposición y que sea necesario vaciar frecuentemente (cada 1 – 3 días), el agua acumulada.

En una realización preferida de la invención, la incubadora comprende unos medios de control de la temperatura provistos de un termostato. Dicho termostato activa los medios de climatización cuando la temperatura en el interior de la incubadora se sale de un intervalo de temperaturas predefinido, que se considera óptimo para el desarrollo de los huevos de nematodo.

En una realización más preferida de la invención, la incubadora comprende unos medios de control de la temperatura provistos de un termostato y provistos además de una cápsula o sonda medidora de la temperatura, dispuesta en el interior o en las proximidades de la materia vegetal inoculada/infectada. Dicho termostato activa los medios de climatización cuando la temperatura detectada por la cápsula o sonda se sale de un intervalo de temperaturas predefinido, que se considera óptimo para el desarrollo de los huevos de nematodo.

En otra realización preferida de la invención, los medios de climatización están provistos de una resistencia calefactora dispuesta a lo largo de la cara interior de la porción superior y/o la cara interior de la porción intermedia.

Alternativamente, la incubadora comprende unos medios de control de la temperatura provistos de un primer temporizador que activa los medios de climatización durante unos intervalos de tiempo predefinidos.

En una realización preferida de la invención, la incubadora de nematodos comprende unos medios de control de la temperatura, integrados en los medios de climatización.

En otra realización preferida de la invención, la incubadora comprende unos medios de control

de la humedad provistos de una electroválvula conectada a los medios de suministro de agua y unos medios programables, que accionan dicha electroválvula durante unos intervalos de tiempo predefinidos.

5 En otra realización preferida de la invención, la incubadora está provista de unos medios de control de la humedad provistos de un higrómetro que activa el nebulizador cuando la humedad relativa en el interior de la incubadora se sale de un intervalo de humedades relativas predefinido, que se considera óptimo para el desarrollo de los huevos de nematodo. Alternativamente, los medios de control de la temperatura y/o humedad están provistos de un  
10 segundo temporizador que activa el nebulizador durante unos intervalos de tiempo predefinidos.

En otra realización preferida de la invención, la incubadora está provista de unos únicos medios de control de la temperatura y/o la humedad que controlan, simultáneamente, los  
15 medios de climatización y el nebulizador.

En las incubadoras según la invención, los huevos de nematodo crecen en el interior de la materia vegetal inoculada/infectada hasta que eclosionan, rompiendo las paredes de los tejidos vegetales infectados/inoculados y saliendo al exterior en forma de juveniles de  
20 nematodo en estadio 2. Posteriormente, caen por gravedad a través de las perforaciones de la plataforma horizontal, depositándose en la porción inferior de la incubadora, donde pueden recogerse.

A diferencia de los dispositivos de la técnica anterior, en las incubadoras según la invención  
25 no es necesario utilizar ningún filtro, ni tamiz, de un material que pueda deteriorarse al entrar en contacto con el agua, como la celulosa del papel, complicando el proceso de recogida de juveniles de nematodos.

En una realización preferida de la invención la porción superior, y/o la porción inferior son  
30 transparentes o translúcidas. Esta configuración permite el paso de la luz al interior de la incubadora y facilita su inspección visual.

En otra realización preferida de la invención, la porción superior tiene forma cilíndrica. Esta configuración específica facilita el acoplamiento entre la porción superior y la porción  
35 intermedia de la incubadora.

Asimismo, el conducto/ orificio de salida de agua provisto en la porción inferior puede ser

opcionalmente un rebosadero de agua.

Por último, en una realización preferida de la invención, la incubadora está provista de al menos un avisador de temperatura y/o humedad del interior de la incubadora, y/o concentración de nematodos. Dichos avisadores son preferiblemente avisadores luminosos que se activan cuando la temperatura y/o la humedad del interior de la incubadora y/o la concentración de nematodos alcanzan un valor predeterminado.

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

10

La figura 1 es una vista esquemática de una posible realización de incubadora según la presente invención.

### **REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION**

15

A continuación, se describe una realización concreta de la invención, dada como ejemplo ilustrativo y no limitativo, haciendo referencia a la figura adjunta.

20

En la Figura 1 se muestra una incubadora según una posible realización de la presente la invención.

25

Dicha incubadora comprende una porción superior cilíndrica 8 de metacrilato traslúcido, solidarizada a una porción intermedia 3 en forma de embudo y hecha de cerámica, insertada en un tapón 4. Dicho tapón 4 está encastrado, a su vez, en una porción inferior traslúcida 9.

30

En esta realización, la incubadora recibe agua de una red externa de agua, mediante un racor 2 conectado por un primer extremo a un grifo convencional.

35

Unos medios de control de la humedad que comprenden una consola programable 1, controlan el funcionamiento de una electroválvula, unida a un segundo extremo del racor 2. Durante unos intervalos de tiempo predefinidos, la consola programable 1 acciona la electroválvula permitiendo el paso de un flujo de agua, proveniente de la red externa de agua, a través de un tubo flexible 13 hasta un nebulizador 18, dispuesto en el interior de la porción superior cilíndrica 8. Cada vez que finaliza uno de intervalos de tiempo predefinidos, la consola programable 1 desactiva la electroválvula, impidiendo el paso de agua.

En el interior de la porción superior cilíndrica 8 están dispuestos unos medios de climatización

5, los cuales son, en esta realización, medios de calefacción que comprenden una resistencia eléctrica en forma de hilo calefactor hecho de fibra plástica. En esta realización, los medios de control 6 de la temperatura están integrados con los medios de climatización y comprenden un termostato, que permite a un usuario seleccionar un rango específico de temperaturas (que se considera óptimo para el desarrollo de los huevos de nematodos).

Los medios de control 6 de la temperatura están asimismo provistos de una cápsula 7, medidora de la temperatura, dispuesta en contacto con la materia vegetal inoculada/infectada 10, en este caso, nódulos radiculares infectados con huevos de nematodos. La materia vegetal inoculada/infectada 10 está dispuesta sobre una plataforma horizontal con perforaciones (no mostrada en la figura). En esta realización, dicha plataforma horizontal con perforaciones y la porción intermedia 3 están construidas de forma integral, es decir, en una sola pieza.

La porción superior cilíndrica 8 está provista, en la realización mostrada, de unos medios de acceso al espacio interior cerrado formados por un sistema 15 de apertura y cierre provisto de una bisagra 14. Dichos medios de acceso 14, 15 al espacio interior permiten introducir /retirar la materia vegetal inoculada/infectada 10 en la incubadora y realizar tareas de mantenimiento y limpieza.

En esta realización de la invención, la porción inferior 9 está provista de un rebosadero de agua 11, que permite liberar a nivel el agua acumulada (es decir, el agua acumulada que está a una altura igual o superior a la altura del rebosadero). Un dispositivo medidor 12, 12' de la concentración de juveniles de nematodos está orientado hacia la porción inferior 9.

Dicho dispositivo medidor 12, 12' de la concentración de juveniles de nematodos comprende, en esta realización de la invención un circuito electrónico de gobierno, formado por una placa programable de Arduino®, un circuito integrado LM55 (disponible comercialmente de ST Microelectronics) o un transistor conectado a un regulador. El circuito electrónico de gobierno está provisto de un emisor láser 12 de longitud de onda fija, un potenciómetro o regulador y una sonda 12' orientada hacia la porción inferior 9. Dicha sonda 12' está provista, a su vez, de una resistencia eléctrica variable conectada al circuito electrónico de gobierno.

Según se muestra en la Figura 1, el emisor láser 12 está orientado además hacia la resistencia eléctrica variable de la sonda 12' y emite haces láser (representados con flechas discontinuas en la figura 1) que atraviesan la porción inferior 9 hasta alcanzar dicha resistencia eléctrica

variable. Los haces laser sufren perturbaciones en su longitud de onda al atravesar la porción inferior 9 que dependen del contenido de juveniles. La resistencia eléctrica de la sonda 12'varía, a su vez, en función de la longitud de onda de los haces láser que inciden sobre ella.

5 De este modo, dispositivo medidor 12, 12' es capaz de medir la concentración de juveniles de nematodos.

En esta realización, el circuito electrónico de gobierno está alimentado por tres baterías de 1.5 V, y conectado a un segundo avisador luminoso 17 por un cable provisto en sus extremos  
10 de conectores jack.

Asimismo, girando dicho potenciómetro un operador de la incubadora puede definir un valor umbral de concentración. Cuando la concentración de juveniles de nematodos medida por la sonda alcanza dicho valor umbral predefinido (que se considera suficiente para que dichos juveniles puedan ser empleados en un estudio o ensayo clínico), el circuito electrónico activa  
15 el segundo avisador luminoso 17.

En esta realización de la invención, los medios de control 6 también están provistos de un primer avisador luminoso 16, de temperatura, conectado a los medios de control 6 de la  
20 temperatura, que se activa cuando la cápsula 7 medidora que la temperatura de la materia vegetal infectada/inoculada 10 se encuentra dentro del rango específico de temperaturas, que ha seleccionado previamente el usuario utilizando el termostato.

Aunque la invención se ha descrito únicamente con relación a la realización a la que se hace  
25 mención en la presente, debe entenderse que otras posibles combinaciones, variaciones y mejoras, también estarían incluidas dentro del alcance de protección de la invención, el cual está definido exclusivamente por las reivindicaciones adjuntas.

**LISTADO DE REFERENCIAS NUMÉRICAS EMPLEADAS EN LAS FIGURAS**

- (1): Consola programable 1 de los medios de control de la humedad;
- (2): Racor conectado al suministro de agua (grifo);
- (3): Porción intermedia en forma de embudo;
- 5 - (4): Tapón;
- (5): Medios de climatización;
- (6): Medios de control de la temperatura;
- (7): Cápsula medidora de la temperatura;
- (8): Porción superior cilíndrica;
- 10 - (9): Porción inferior;
- (10): Materia vegetal inoculada/infectada;
- (11): Rebosadero de agua;
- (12): Emisor láser del dispositivo medidor de la concentración de juveniles de nematodos;
- 15 - (12'): Sonda del dispositivo medidor de la concentración de juveniles de nematodos;
- (13): Tubo flexible;
- (14): Bisagra;
- (15): Sistema de apertura y cierre;
- (16): Avisador luminoso de temperatura (primer avisador luminoso);
- 20 - (17): Avisador luminoso de la concentración de juveniles de nematodos (segundo avisador luminoso); y
- (18): Nebulizador.

**REIVINDICACIONES**

1. Incubadora de nematodos que comprende:

5

- Una porción superior (8);
- Una porción intermedia (3) en forma de embudo o tolva, acoplable a la porción superior que delimita, junto con dicha porción superior, un espacio interior cerrado y

10

- Una porción inferior (9), en forma de recipiente decantador, acoplable a la porción intermedia;

Caracterizada porque:

15

- en el espacio interior cerrado están provistos: un nebulizador de agua (18) conectado a unos medios de suministro de agua; unos medios de climatización (5) y unos medios de control (1; 6) de la temperatura y/o humedad;

20

- la porción intermedia (3) está provista de una plataforma horizontal con perforaciones, destinada a alojar materia vegetal inoculada/infectada (10) con huevos de nematodos y/o con nematodos capaces de reproducirse;
- la porción inferior (9) está provista de al menos un orificio y/o conducto (11) de salida de agua y porque también está provista de un dispositivo medidor (12, 12') de la concentración de juveniles de nematodos.

25

2. Incubadora de nematodos según la reivindicación 1, caracterizada porque está provista de unos medios de control (6) de la temperatura integrados en los medios de climatización (5).

30

3. Incubadora de nematodos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende unos medios de control (1) de la humedad provistos de una electroválvula conectada a los medios de suministro de agua, estando igualmente dichos medios de control (1) de la humedad provistos de unos medios programables, que accionan dicha electroválvula durante unos intervalos de tiempo predefinidos.

35

4. Incubadora de nematodos según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende unos únicos medios de control (1,6) de la temperatura y/o la humedad que controlan, simultáneamente, los medios de climatización (5) y el nebulizador (18).
- 5
5. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende unos medios de control (1; 6) de la temperatura y/o humedad provistos de un termostato que activa los medios de climatización (5) cuando la temperatura en el interior de la incubadora está fuera de un intervalo de temperaturas predefinido.
- 10
6. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende unos medios de control (6) de la temperatura provistos de un primer temporizador que activa los medios de climatización (5) durante unos intervalos de tiempo predefinidos.
- 15
7. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende unos medios de control (6) de la temperatura provistos de un higrómetro que activa el nebulizador (18) cuando la humedad relativa en el interior de la incubadora está fuera de un intervalo de humedades relativas predefinido.
- 20
8. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende unos medios de control (6) de la temperatura provistos de un segundo temporizador que activa el nebulizador (18) durante unos intervalos de tiempo predefinidos.
- 25
9. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la porción superior (8), y/o la porción inferior (9) son transparentes o translúcidas.
10. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la porción superior (8) tiene forma cilíndrica.
- 30
11. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque está provista de al menos un avisador (16, 17) de temperatura y/o humedad en el interior de la incubadora, y/o de la concentración de nematodos.
- 35
12. Incubadora según la reivindicación 11, caracterizada porque los avisadores (16, 17) de

temperatura, humedad, y/o concentración de nematodos son avisadores luminosos que se activan cuando la temperatura, la humedad y/o la concentración de nematodos alcanzan un valor predeterminado.

- 5 13. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la plataforma horizontal con perforaciones y la porción intermedia (3) están construidas de forma integral, en una sola pieza.
- 10 14. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque los medios de climatización (5) están provistos de una resistencia calefactora dispuesta a lo largo de la cara interior de la porción superior (8) y/o la cara interior de la porción intermedia (3)
- 15 15. Incubadora según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende unos medios de control (6) de la temperatura provistos de un termostato y porque comprende además una cápsula o sonda (7) medidora de la temperatura, dispuesta en el interior o en las proximidades de la materia vegetal inoculada/infectada (10).

20

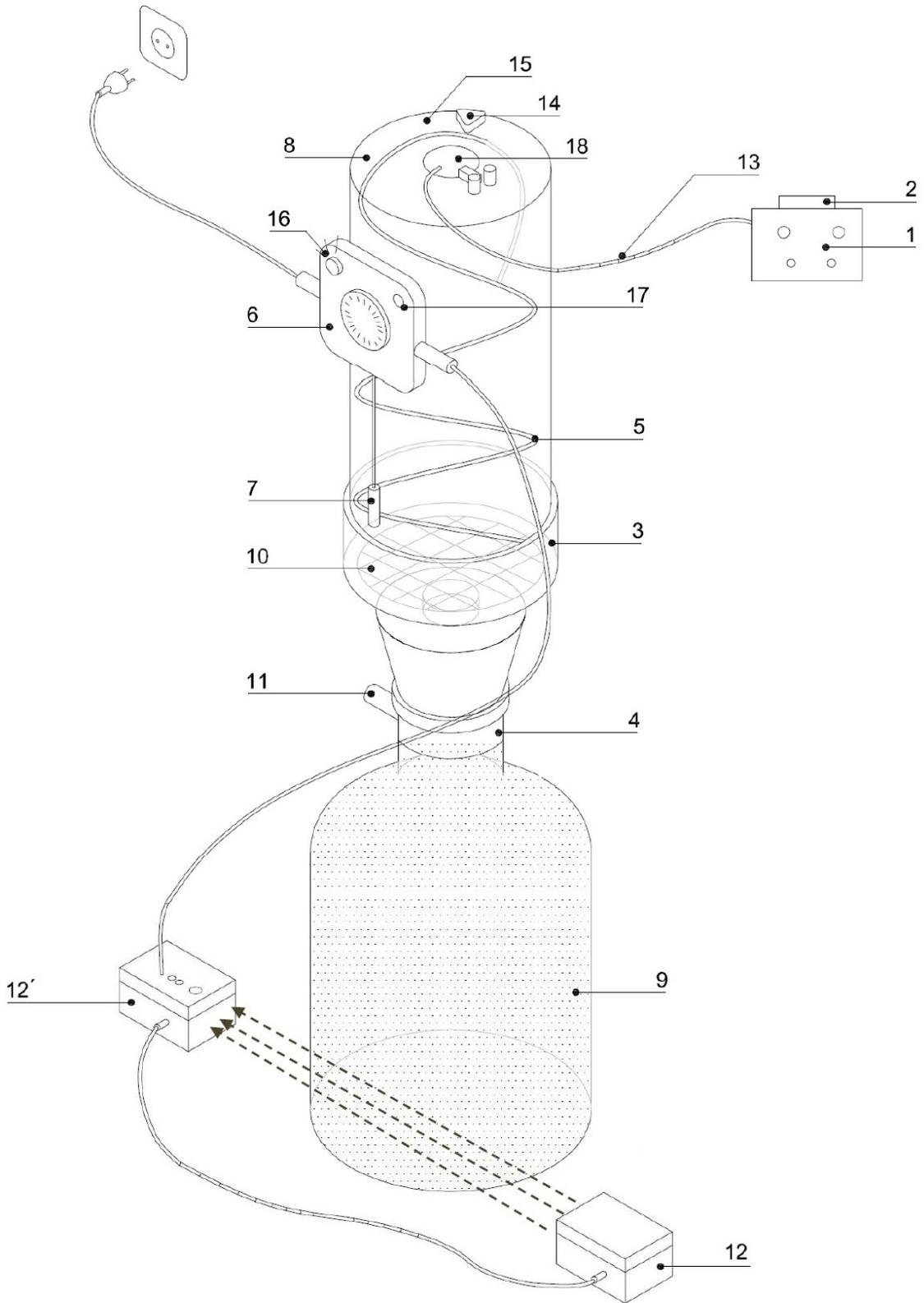


Fig. 1