



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

**ESPAÑA** 



11 Número de publicación: 2 431 955

51 Int. Cl.:

**G01N 21/35** (2006.01)

(12)

# TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 26.10.2001 E 01989302 (3)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 21.08.2013 EP 1332354

(54) Título: Procedimiento y dispositivo de analisis de productos agrícolas

(30) Prioridad:

30.10.2000 US 698214

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 28.11.2013

(73) Titular/es:

MONSANTO TECHNOLOGY LLC (100.0%) 800 NORTH LINDBERGH BOULEVARD ST. LOUIS, MISSOURI 63167, US

(72) Inventor/es:

MODIANO, STEVEN, H. y DEPPERMANN, KEVIN, L.

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

#### **DESCRIPCIÓN**

Procedimiento y dispositivo de analisis de productos agrícolas

#### Campo de la invención

15

25

35

45

50

55

La presente invención se refiere a un dispositivo y procedimiento para el análisis de productos agrícolas. Más particularmente, la presente invención se refiere a un dispositivo y procedimiento para el análisis, no destructivo a tiempo real, de las características físicas y químicas de una o más semillas.

#### Antecedentes de la invención

La reproducción de productos agrícolas mejorados de forma composicional puede necesitar el análisis de un gran número de muestras de semillas de plantas para identificar aquellas plantas con las propiedades composicionales y agronómicas deseadas para el uso o fomento a la siguiente generación. El análisis de lotes de semillas a granel para determinados rasgos, tales como altas en aceite o altas en proteínas, en una única planta o mazorca, en conjunto con una metodología de reproducción apropiada, tal como selección continua, a menudo permite la selección, e introducción, de dichos rasgos en una población comercial. Aunque el análisis de estos lotes de semillas se puede realizar mediante diversas técnicas, por lo general se usan procedimientos que son rápidos, de bajo coste, y no destructivos.

Durante la última década, la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) se ha convertido en un procedimiento convencional para identificación sistemática de muestras de semillas cada vez que la muestra de interés ha sido susceptible a esta técnica. Las muestras estudiadas incluyen trigo, maíz, soja, colza, arroz, alfalfa, avena, y otros (véase, por ejemplo, Massie y Norris, "Spectral Reflectance and Transmittance Properties of Grain in the Visible and Near Infrared", Anales de la ASAE, Reunión de Invierno de la Sociedad Americana de Ingenieros Agrícolas, 1965, páginas 598-600, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). La espectroscopia NIR usa luz en el infrarrojo cercano, que por lo general está en el intervalo de 770 a 2.500 nanómetros, para acceder a armónicos y combinaciones de las frecuencias vibratorias fundamentales de los grupos funcionales orgánicos de O-H, C-H, y N-H. En la técnica se conocen dispositivos para medir dicha luz. (Véase, por ejemplo, Hyvarinen y col., "Direct Sight Imaging Spectrograph: A Unique Add-on Component Brings Spectral Imaging to Industrial Applications", SPIE Vol. 3.302, 1998, "Handbook of Near-Infrared Analysis", Eds. Burns y Ciurczak, Marcel Dekker, Inc., 1992, ambos de los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad).

Por lo general, se determinan los espectros de NIR asociados con un lote de semillas (a menudo, por ejemplo, se usa una cubeta capaz de contener 100 granos de semillas). Esta determinación se puede combinar con el análisis químico convencional de las muestras con el fin de proporcionar datos adicionales y para construir un modelo de calibración quimiométrica. A menudo se desarrollan modelos de calibración quimiométrica para rasgos que incluyen, pero sin limitación: aceite, almidón, agua, fibra, proteína, almidón extraíble, clorofila, glucosinolatos y ácidos grasos (véase, por ejemplo, Archibald y col. "Development of Short-Wavelength Near-Infrared Spectral Imaging for Grain Color Classification," SPIE Vol. 3.543, 1998, páginas 189-198, Delwiche, "Single Wheat Kernel Analysis by Near-Infrared Transmittance: Protein Content," Analytical Techniques and Instrumentation, Vol. 72, 1995, páginas 11-16, Dowell "Automated Color Classification of Single Wheat Kernels Using Visible and Near-Infrared Reflectance," Vol. 75 (1), 1998, páginas 142-144, Orman y Schumann, "Comparison of Near-Infrared Spectroscopy Calibration Methods for the Prediction of Protein, Oil, and Starch in Maize Grain," Vol. 39, 1991, páginas 883-886, Robutti, "Maize Kernel Hardness Estimation in Breeding by Near-Infrared Transmission Analysis," Vol. 72 (6), 1995, páginas 632-636, Patente de Estados Unidos N° 5.991.025, Patente de Estados Unidos N° 5.751.421, Daun y col., "Comparison of Three Whole Seed Near-Infrared Analyzers for Measuring Quality Components of Canola Seed", Vol. 71, No 10, 1994, páginas 1.063-1.068, "Corn: Chemistry and Technology", Eds. Watson y Ramstad, American Association of Cereal Chemists, Inc., (1987), todos los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad). El desarrollo de un modelo quimiométrico se puede usar a continuación para predecir las características químicas de las muestras sin someter al ensayo con espectroscopía de NIR, sin necesidad de análisis químico convencional adicional.

El análisis de NIR de muestras a granel, trituradas o enteras, se ha informado (véase, por ejemplo, Orman y Schumann, "Comparison of Near-Infrared Spectroscopy Calibration Methods for the Prediction of Protein, Oil, and Starch in Maize Grain," Vol. 39, 1991, páginas 883-886, Robutti, "Maize Kernel Hardness Estimation in Breeding by Near-Infrared Transmission Analysis," Vol. 72 (6), 1995, páginas 632-636, Patente de Estados Unidos Nº 5.791.025, Patente de Estados Unidos Nº 5.751.421, Daun y col., "Comparison of Three Whole Seed Near-Infrared Analyzers for Measuring Quality Components of Canola Seed", Vol. 71, Nº 10, páginas 1.063-1.068, todos los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad). Los espectrómetros de NIR comerciales convencionales para el análisis de granos a granel tienen varias desventajas. Los espectrómetros convencionales se diseñaron para su uso en un entorno de laboratorio, que por lo general está alejado de los campos de reproducción, en condiciones controladas de temperatura, humedad y vibración. Además, los espectrómetros necesitan una manipulación excesiva de la muestra. Las muestras se deben cosechar, enviar a las instalaciones de reproducción, trillado, embolsado, etiquetado, y se envían al laboratorio para el análisis de NIR. En el laboratorio de NIR, las muestras se deben introducir en el sistema, alejar de las bolsas de muestras, verter en la cubeta de la muestra,

escanear con el espectrómetro de NIR, devolver a la bolsa de la muestra original, y enviar de vuelta a las instalaciones de reproducción. Los datos de NIR resultantes se deben montar en un informe final, revisar para cualquier anomalía, y enviados de vuelta al productor, que localiza y clasifica las muestras en base a los resultados de los análisis de NIR. La manipulación excesiva de muestras añade tanto tiempo como coste al análisis.

- Los enfoques actuales basados en NIR no solamente son difíciles de manejar y costosos, sino que también son lentos. El tiempo de procesamiento de datos puede ser crucial porque la selección de las semillas apropiadas se debería realizar antes del tiempo de siembra de la siguiente generación. Los retrasos en proporcionar al productor los resultados de los análisis o la devolución de las muestras puede dar como resultado la pérdida de un ciclo entero de reproducción.
- Además, la velocidad de adquisición y análisis de la tecnología actual no puede mantener el ritmo con la velocidad a la que los dispositivos de procesamiento pueden funcionar. Por ejemplo, desgranadoras de una mazorca individual pueden procesar hasta 15 mazorcas por minuto. Los espectrómetros de NIR comerciales actuales funcionan a una velocidad de alrededor de una muestra cada uno a dos minutos. La tasa de procesamiento del espectrómetro por lo general es la etapa limitante en el proceso analítico.
- Los espectrómetros convencionales recogen información de un subconjunto de la muestra total. Los espectrómetros 15 comerciales recogen la luz en un solo punto o en varias decenas de puntos con pequeñas áreas activas, lo que da como resultado que solamente una pequeña porción de la muestra es examinada en realidad por la técnica. En muestras a granel, por ejemplo, las técnicas convencionales pueden conducir al muestreo puntual de porciones de sólo unas pocas semillas entre los cientos de semillas en la muestra a granel. Además, dado que el muestreo 20 puntual de las muestras a granel analiza porciones arbitrarias de la semilla, los diferentes tejidos de las semillas en las muestras se pueden malinterpretar mediante los datos analíticos. Dado que cualidades tales como el contenido de aceite a menudo están presentes en diferentes cantidades en diferentes tejidos, estas técnicas convencionales pueden no evaluar con precisión la calidad deseada. Estas limitaciones se aplican a espectrómetros con configuraciones ópticas convencionales en las que un sistema de lentes recoge la luz de la muestra, así como los 25 que usan haces de fibra óptica para recoger la luz de la muestra. Además, dado que se usan puntos de muestreo sin relacionar, discretos, la información espacial asociada con la muestra se pierde. La información espacial (que se puede usar, por ejemplo, para determinar la morfología) se compone de, por ejemplo, tamaño, forma, daño mecánico, plagas de insectos, y daño por hongos. Dado que los espectrómetros convencionales no recogen información espacial en absoluto, no es posible una correlación de los datos espaciales y espectrales.
- Los espectrómetros convencionales tampoco consiguen proporcionar un procedimiento eficaz para el análisis de semillas individuales, que puede acelerar enormemente la tasa de desarrollo de variedades. El análisis individual de semillas es necesario para diferenciar y seleccionar las semillas presentes dentro de una población heterogénea de semillas. Las poblaciones heterogéneas de semillas se encuentran a menudo en las poblaciones de reproducción. El análisis de semillas individuales puede reducir el número de generaciones necesarias para la producción de una planta con el rasgo deseado. La selección de semillas individuales también reduce el número de plantas individuales necesarias. En el maíz, por ejemplo, la capacidad para identificar las semillas individuales con el rasgo deseado en el nivel de semilla individual en lugar de en todo el nivel de la mazorca puede reducir la necesidad de vivero en 100 veces. Esto hace que sea posible realizar un mayor número de proyectos de reproducción con los mismos recursos.
- El análisis de NIR de semillas individuales también se ha informado (véase Delwiche, "Single Wheat Kernel Analysis by Near-Infrared Transmittance: Protein Content," Analytical Techniques and Instrumentation, Vol. 72, 1995, páginas 11-16, Dowell, "Automated Color Classification of Single Wheat Kernels Using Visible and Near-Infrared Reflectance," Vol. 75 (1), 1998, páginas 142-144, Dowell y col., "Automated Single Wheat Kernel Quality Measurement Using Near-Infrared Reflectance," Reunión Internacional Anual de la ASAE, 1997, número del documento 973022, todos los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad). Estos procedimientos, sin embargo, miden la luz aparte de la semilla entera para calcular las intensidades promedio, y por lo tanto no son capaces de proporcionar información sobre semillas individuales más allá de los promedios de semillas enteras.
  - Otras técnicas analíticas convencionales, tales como cromatografía de gases, a menudo tampoco logran proporcionar un procedimiento eficaz para el análisis de una sola semilla. Por ejemplo, el procedimiento convencional para el análisis de una sola semilla de colza requiere la escisión manual de la mitad de cada semilla para el análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases, mientras que la otra mitad se planta. Debido a la preparación manual de muestras y al bajo rendimiento de esta técnica analítica, solamente se puede ejecutar un pequeño número de muestras por hora usando este procedimiento.

50

Aunque es deseable el análisis de una sola semilla, los espectrómetros convencionales y los procedimientos de muestreo no permiten el procesamiento eficaz de semillas individuales. Las técnicas convencionales requieren una amplia entrada manual, lo que limita la tasa de desarrollo de plantas con características mejoradas.

Las técnicas de análisis espectrométrico convencionales no permiten la localización de niveles de componentes químicos dentro de los diferentes tejidos de las semillas. Los enfoques convencionales, tales como la disección manual de la semilla seguido del análisis químico mediante técnicas analíticas tradicionales, no solamente son

laboriosas y destructivas, sino que también dan como resultado una escasa resolución de los componentes y una mala cuantificación, dado que el tamaño de la muestra resultante de la disección de las semillas individuales está por debajo del tamaño de la muestra en el que las técnicas más tradicionales producen resultados fiables.

Determinados sistemas convencionales para la formación de imágenes forman imágenes de la muestra total simultáneamente usando un filtro sintonizable para limitar la luz a partir una muestra a una sola longitud de onda (véase Archibald y col., "Development of Short-Wavelength Near-Infrared Spectral Imaging for Grain Color Classification," SPIE Vol. 3,543, 1998, páginas 189-198, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). Este procedimiento tiene una utilidad limitada dado que es difícil de conseguir la iluminación uniforme de la muestra. La iluminación uniforme de la muestra produce áreas con baja calidad de imagen, lo que limita la exactitud de cualquier información obtenida a partir del sistema. Además, el uso de filtros sintonizables requiere mucho tiempo, lo que ralentiza significativamente el procedimiento analítico.

La patente de Estados Unidos Nº 6.100.526 describe un sistema para determinar las concentraciones porcentuales de los constituyentes en una corriente de flujo de semillas. El sistema incluye una fuente de luz para iluminar las semillas en la corriente de flujo, and un captador de fibra óptica para recoger una porción de la luz reflejada de forma difusa de las semillas que fluyen. La luz reflejada se devuelve al captador de fibra óptica desde la porción de la corriente de flujo de las semillas. En particular, en la columna 4, líneas 33-36, se indica que "se debería entender que la luz en realidad volvió desde un volumen de muestra 19 definido por la intersección del rayo 13 producido por la fuente de luz 10 y la apertura o "campo de visión" del captador de fibra óptica 20."

En la técnica se necesitan dispositivos y procedimientos para el análisis rápido de semillas individuales y a granel que puedan analizar de forma eficaz y no destructiva las características morfológicas o químicas de las semillas individuales, y que se puedan integrar en una máquina de procesamiento agrícola. La presente invención proporciona dichos dispositivos y procedimientos.

#### Sumario de la invención

10

15

25

40

45

La presente invención proporciona dispositivos y procedimientos para el análisis no destructivo, a tiempo real de las características físicas y químicas de una o más semillas. El análisis se puede realizar dirigiendo la luz a una muestra, que forma luz transmitida o reflejada. La luz transmitida o reflejada desde la muestra se puede dispersar a continuación en diferentes longitudes de onda, que se detectan con una serie de puntos de datos. Las señales producidas por la serie de puntos de datos se pueden usar para determinar el valor de cualquiera de los muchos rasgos químicos y morfológicos.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz transmitida; (C) pasar la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si un tejido vegetal presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar el tejido vegetal en un dispositivo de muestra; (B) dirigir la luz desde una fuente de luz al tejido vegetal, formando de este modo luz transmitida o reflejada; (C) pasar la luz transmitida o reflejada a través de un espectrógrafo, formando de este modo luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si el tejido vegetal presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada; (C) dispersar la luz reflejada para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir la luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz transmitida; (C) dispersar la luz transmitida para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos;

(E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si un tejido vegetal presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar el tejido vegetal en un dispositivo de muestra; (B) dirigir la luz desde una fuente de luz al tejido vegetal, formando de este modo luz transmitida o reflejada; (C) dispersar la luz transmitida o reflejada para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos; y, (F) determinar si la semilla del tejido vegetal presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si un lote de semillas contiene semillas que presentan un rasgo que comprende: (A) proporcionar el lote de semillas en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz al lote de semillas, formando de este modo luz reflejada; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si miembros del lote de semillas presentan el rasgo en base a las señales, en el que la determinación comprende asociar los miembros con los puntos de datos correspondientes.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si un lote de semillas contiene semillas que presentan un rasgo que comprende: (A) proporcionar el lote de semillas en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz al lote de semillas, formando de este modo luz transmitida; (C) pasar la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si miembros del lote de semillas presentan el rasgo en base a las señales, en el que la determinación comprende asociar los miembros con los puntos de datos correspondientes.

20

35

40

55

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si un lote de semillas contiene semillas que presentan un rasgo que comprende: (A) proporcionar el lote de semillas en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz al lote de semillas, formando de este modo luz reflejada y luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada o la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si miembros del lote de semillas presentan el rasgo en base a las señales, en el que la determinación comprende asociar los miembros con los puntos de datos correspondientes.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta múltiples rasgos que comprenden: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta cada uno de los rasgos en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta múltiples rasgos que comprenden: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir la luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz transmitida; (C) pasar la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta cada uno de los rasgos en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta múltiples rasgos que comprenden: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada y luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada o la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta cada uno de los rasgos en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para seleccionar una semilla que tiene un rasgo, que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz transmitida o reflejada; (C) pasar la luz transmitida o reflejada a través de un espectrógrafo; (D) recibir la luz transmitida o la luz reflejada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo; (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales; y (G) seleccionar la semilla que tiene el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento de introgresión de un rasgo en una planta que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a una semilla y generar luz transmitida o reflejada; (C) pasar la luz transmitida o reflejada a través de un espectrógrafo; (D) recibir la luz transmitida o la luz reflejada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo; (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales; (G) seleccionar la semilla que tiene el rasgo en base a las señales; (H) hacer crecer una planta fértil a partir de la semilla; y, (I) usar la planta fértil como un progenitor femenino o un progenitor masculino en un cruce con una segunda planta.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada, en el que una primera línea de la luz reflejada a partir de la muestra pasa a través del espectrógrafo; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo para medir la luz; (F) repetir las etapas (A) a (E) para líneas posteriores de la luz reflejada; y, (G) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada, en el que una o más líneas posteriores de la luz reflejada a partir de la muestra pasa a través del espectrógrafo; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo para medir la luz; (F) repetir las etapas (A) a (E) para líneas posteriores de la luz reflejada; y, (G) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

20

35

40

45

50

55

60

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir la luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada, en el que una primera línea de la luz reflejada a partir de la muestra pasa a través del espectrógrafo; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo para medir la luz; (F) repetir las etapas (A) a (E) para líneas posteriores de la luz reflejada; y, (G) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir la luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada, en el que una o más líneas posteriores de la luz reflejada a partir de la muestra pasa a través del espectrógrafo; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo para medir la luz; (F) repetir las etapas (A) a (E) para líneas posteriores de la luz reflejada; y, (G) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada y luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada o la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada, en el que una primera línea de la luz reflejada a partir de la muestra pasa a través del espectrógrafo; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo para medir la luz; (F) repetir las etapas (A) a (E) para líneas posteriores de la luz reflejada; y, (G) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada y luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada o la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada, en el que una o más líneas posteriores de la luz reflejada a partir de la muestra pasa a través del espectrógrafo; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo para medir la luz; (F) repetir las etapas (A) a (E) para líneas posteriores de la luz reflejada; y, (G) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar simultáneamente si un lote de semillas contiene semillas que presentan un rasgo que comprende: (A) proporcionar el lote de semillas en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz al lote de semillas, formando de este modo luz reflejada; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz

dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si miembros del lote de semillas presentan el rasgo en base a las señales, en el que la determinación comprende asociar los miembros con los puntos de datos correspondientes.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar simultáneamente si un lote de semillas contiene semillas que presentan un rasgo que comprende: (A) proporcionar el lote de semillas en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz al lote de semillas, formando de este modo luz transmitida; (C) pasar la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si miembros del lote de semillas presentan el rasgo en base a las señales, en el que la determinación comprende asociar los miembros con los puntos de datos correspondientes.

La presente invención incluye y proporciona un procedimiento para determinar simultáneamente si un lote de semillas contiene semillas que presentan un rasgo que comprende: (A) proporcionar el lote de semillas en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz a partir de una fuente de luz al lote de semillas, formando de este modo luz reflejada y luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada o la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si miembros del lote de semillas presentan el rasgo en base a las señales en el que la determinación comprende asociar los miembros con los puntos de datos correspondientes.

La presente invención incluye y proporciona un dispositivo para medir propiedades de productos agrícolas, que comprende: un dispositivo de muestreo para producir una muestra; un dispositivo de muestreo para proporcionar una muestra, en el que el dispositivo de muestreo está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de procesamiento; y, un sistema para la formación de imágenes por espectroscopía óptica, en el que el sistema está colocado para analizar la muestra en el dispositivo de muestreo.

La presente invención incluye y proporciona un dispositivo para medir propiedades de productos agrícolas, que comprende: un dispositivo de muestreo para proporcionar una muestra; un sistema para la formación de imágenes por espectroscopía óptica, en el que el sistema está colocado para analizar la muestra en el dispositivo de muestreo; y, un dispositivo de clasificación para clasificar la muestra en dos o más grupos diferentes, en el que el dispositivo de clasificación está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de muestreo.

La presente invención incluye y proporciona un dispositivo para medir propiedades de productos agrícolas, que comprende: un dispositivo de procesamiento para producir una muestra; un dispositivo de muestreo para proporcionar una muestra, en el que el dispositivo de muestreo está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de procesamiento; un sistema para la formación de imágenes por espectroscopía óptica, en el que el sistema está colocado para analizar la muestra en el dispositivo de muestreo; y, un dispositivo de clasificación para clasificar la muestra en dos o más grupos diferentes, en el que el dispositivo de clasificación está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de muestreo.

#### Descripción de las figuras

15

20

25

30

35

45

50

55

60

La Figura 1 es un diagrama esquemático de una realización de una fuente de luz, un dispositivo de 40 muestreo, y un dispositivo para medir la luz.

La Figura 1a es un diagrama esquemático de una realización de un dispositivo para medir la luz, en el que el dispositivo para medir la luz es un espectrómetro.

La Figura 1b es un diagrama esquemático de una realización de una fuente de luz.

La Figura 1c es un diagrama esquemático de una realización de un dispositivo de muestreo.

La Figura 2 es un diagrama esquemático de una realización de un espectrógrafo para la formación de imágenes del eje del prisma/rejilla/prisma.

La Figura 3 es un diagrama esquemático de un conjunto de datos.

La Figura 4 es una imagen de una muestra de maíz.

La Figura 5 es un diagrama esquemático de una realización de un dispositivo automatizado para proporcionar, analizar, y clasificar muestras de semillas a granel.

La Figura 6 es una realización de un diagrama de bloque de un sistema de control electrónico adecuado para su uso en la práctica del dispositivo de la Figura 5.

La Figura 7 es un ejemplo de una imagen ampliada en escala de grises de una muestra de maíz a granel a 1, 100 nanómetros.

La Figura 8 es un diagrama esquemático de una realización alternativa de la presente invención en la forma de un sistema de formación de imágenes espectrales de transmitancia difusa.

La Figura 9 es un diagrama esquemático de una realización de la presente invención para el análisis de una sola semilla

La Figura 10 muestra una imagen de una bandeja de 24 granos de maíz.

La Figura 11 es una representación de la reflectancia frente a la longitud de onda frente a espectros

promedio de 96 muestras de maíz a granel.

La Figura 12 es una representación de la reflectancia frente a la longitud de onda para cuatro de los espectros promediados que se muestran en la Figura 11.

La Figura 13 es una representación de la varianza de validación total explicada (%) frente al número de componentes principales para muestras de maíz a granel.

La Figura 14 es una representación del contenido de aceite predicho frente al contenido de aceite de referencia para muestras de maíz a granel.

La Figura 15 es una representación del contenido de proteína predicho frente al contenido de proteína de referencia para muestras de maíz a granel.

La Figura 16 es una representación del contenido de almidón predicho frente al contenido de almidón de referencia para muestras de maíz a granel.

La Figura 17 es una representación del contenido de humedad predicho frente al contenido de humedad de referencia para muestras de maíz a granel.

La Figura 18 es un resumen del rendimiento, validación cruzada total para aceite, proteínas, almidón, humedad del modelo de tipo 2 por mínimos cuadrados parciales (PLS).

La Figura 19 es una representación de la reflectancia frente a la longitud de onda para 288 muestras individuales de granos de maíz.

La Figura 20 es una representación de la reflectancia frente a la longitud de onda para 6 muestras individuales representativas de granos de maíz de las muestras que se muestran en la Figura 19.

La Figura 21 es una representación de la varianza de validación total explicada (%) frente al número de componentes principales, granos de maíz individuales.

La Figura 22 es una representación del porcentaje de aceite predicho frente al porcentaje de aceite de referencia para 265 muestras de granos individuales.

#### Descripción detallada de la invención

#### 25 Procedimientos Analíticos

5

10

15

30

35

40

45

50

La presente invención proporciona procedimientos analíticos para analizar semillas que tienen un rasgo deseado. En un aspecto de la invención, los procedimientos analíticos permiten el análisis de porciones discretas o atributos de una sola semilla. Además, en otro aspecto de la presente invención, los procedimientos analíticos permiten el análisis de semillas individuales que están presentes en un lote o en una muestra a granel de modo que se pueda determinar una distribución de una característica.

En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada; (C) pasar la luz reflejada a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

En otra realización, la presente invención proporciona un procedimiento para determinar si una semilla presenta un rasgo que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir la luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz transmitida; (C) pasar la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales.

Los procedimientos de la presente invención se pueden usar para detectar cualquier rasgo que se puede medir por NTR. En una realización preferente, el rasgo es un rasgo bioquímico. Tal como se usa en el presente documento, un rasgo bioquímico es cualquier rasgo que afecta a la composición química de la muestra agrícola. En una realización preferente el rasgo bioquímico está seleccionado entre el grupo que consiste en contenido de aceite, contenido de proteína, contenido de hidratos de carbono, contenido de almidón, contenido de fibra y contenido de agua. Tal como se usa en el presente documento, contenido se refiere a la cantidad de un componente, por ejemplo, 5 miligramos (mg) o semilla de proteína o 5 mg de proteína por cada 10 gramos de peso seco de tejido. En otra realización preferente, el rasgo bioquímico está seleccionado entre el grupo que consiste en composición de aceite, composición de proteína, composición de hidratos de carbono, y composición de fibra. Tal como se usa en el presente documento, composición hace referencia a constituyentes bioquímicos una muestra agrícola, por ejemplo, la relación de proteínas de alto peso molecular a proteínas de bajo peso molecular o la relación de aceites saturados a aceites no saturados.

Por ejemplo, en una realización, los procedimientos de la presente invención se usan para diferenciar muestras de almidón con fenotipos deseables. El almidón de maíz dentado o liso normal está compuesto de aproximadamente un 73 % de amilopectina (la fracción de almidón con moléculas ramificadas) un 27 % de amilosa (la fracción con moléculas lineales). El maíz ceroso (que tiene el gen wx) se descubrió primero en China, pero las mutaciones cerosas también se han encontrado en cepas dentadas americanas. El almidón de este mutante tiene un 100 % de amilopectina. El prolongador de la cadena de amilosa del mutante endospermo (ae) aumenta la fracción de amilosa

del almidón a un 50 % y superior. El grano de este maíz se caracteriza por un aspecto sin brillo, translucido, y parcialmente lleno. Varios otros genes mutantes, solos o en combinación, afectan a la composición del almidón cambiando la relación de amilosa-amilopectina. El gel de almidón opaco firme característico producido por el maíz común se atribuye a la fracción de amilosa. Las propiedades del almidón del maíz ceroso son el resultado de las soluciones coloidales de amilopectina producidas que tienen una forma de pasta translúcida blanda característica. Estas diferencias en las características del gel de almidón nativo llevan a través de los procedimientos de modificación del almidón y son deseables en determinadas aplicaciones. Los procedimientos de la presente invención pueden discernir fácilmente los diferentes tipos de mutantes y se pueden usar como una técnica de identificación sistemática no destructiva, de alto rendimiento para ellos.

En otra realización, por ejemplo, los procedimientos de la presente invención se usan para identificar muestras que tienen rasgos endospermos deseados. Por ejemplo, se han identificado varios mutantes endospermos que alteran el equilibrio de los aminoácidos. Se ha demostrado que las líneas mutantes opaco-2 (o2), harinoso-2 (fl2), y opaco-7 (o7) tienen zeínas reducidas (la proteína en el maíz que carece de aminoácidos esenciales tales como lisina y triptófano) en el endospermo y en la lisina aumentada. Los granos con el gen opaco-2 se caracterizan por un aspecto no transparente, blanquecino, blando, con muy poco endospermo vítreo duro. Los procedimientos de la presente invención pueden discernir fácilmente los diferentes tipos de mutantes y niveles de lisina, y por lo tanto se pueden usar como una técnica de identificación sistemática no destructiva, de alto rendimiento para este rasgo.

En otra realización el rasgo es un rasgo morfológico. Tal como se usa en el presente documento, un rasgo morfológico es cualquier rasgo estructural. Los rasgos morfológicos preferentes son tamaño del endospermo, tamaño del germen, forma de la semilla, tamaño de la semilla, color de la semilla, textura de la superficie de la semilla, peso de la semilla, densidad de la semilla, e integridad de la semilla. La integridad de la semilla se puede correlacionar con la resistencia o susceptibilidad a enfermedades. La presencia de agujeros dentro de un revestimiento de la semilla a menudo es un indicativo de infección por insectos.

20

35

40

45

50

55

60

La correlación de un estado de enfermedad con un cambio estructural tal como agujeros se puede establecer mediante la estimulación de muestras de la semilla a someter a ensayo con el organismo. Tal como se usa en el presente documento, una "muestra" se refiere a cualquier material vegetal que se está examinando mediante un procedimiento de la presente invención. Una muestra puede ser, por ejemplo, una fracción de la semilla, una semilla entera, más de una semilla, y otros tejidos vegetales, entre otras. Los controles pueden incluir semillas conocidas por ser susceptibles y resistentes. La correlación de la enfermedad a un cambio estructural en particular se puede establecer mediante un análisis estadístico apropiado. Se entiende que no es necesario ejecutar controles frente a una semilla o un lote de semillas en particular una vez que se ha establecido una correlación.

Los daños a los granos causados durante la recolección, secado, elevación, y transporte del grano a través de canales comerciales se pueden determinar con los procedimientos de la presente invención. El uso de técnicas modernas de cultivo, tales como el uso de cosechadoras recolectoras-desgranadoras, ha dado lugar a un contenido de humedad del grano mucho mayor en las muestras que si se permitiera que las muestras se secaran en la mazorca. El alto contenido de humedad requiere el uso de secado artificial a temperaturas superiores a 80 °C, lo que puede conducir a grietas por tensión y ruptura del grano. Los indicadores de ruptura del grano pueden incluir, pero no se limitan a, la relación de endospermo vítreo a no vítreo, densidad del grano, peso medio del grano, cantidad y calidad del pericarpio, y tamaño y forma del grano. Los procedimientos de la presente invención se pueden usar en la identificación de ruptura y susceptibilidad a la ruptura, en la identificación de rasgos químicos y físicos que pueden minimizar estos problemas.

Se puede usar cualquier semilla en un procedimiento o dispositivo de la presente invención. En una realización preferente, la semilla está seleccionada entre el grupo que consiste en semilla de alfalfa, semilla de manzana, semilla de plátano, semilla de cebada, semilla de judía, semilla de brócoli, semilla de ricino, semilla de cítrico, semilla de trébol, semilla de coco, semilla de café, semilla de maíz, semilla de algodón, semilla de pepino, semilla de abeto de Douglas, semilla de Eucalipto, semilla de pino de Loblolly, semilla de linaza, semilla de melón, semilla de avena, semilla de oliva, semilla de palma, semilla de guisante, semilla de cacahuetes, semilla de pimienta, semilla de álamo, semilla de pino Radiata, semilla de colza, semilla de arroz, semilla de centeno, semilla de sorgo, semilla de pino del Sur, semilla de soja, semilla de fresa, semilla de remolacha azucarera, semilla de caña de azúcar, semilla de girasol semilla de liquidambar, semilla de té, semilla de tabaco, semilla de tomate, césped, semilla de trigo, y semilla de Arabidopsis thaliana. En una realización más preferente, la semilla de está seleccionada entre el grupo que consiste en semilla de algodón, semilla de maíz, semilla de soja, semilla de colza, semilla de arroz y semilla de trigo. En una realización incluso más preferente, la semilla de maíz.

Se puede usar cualquier dispositivo de muestreo si ese dispositivo de muestreo se puede usar con una fuente de luz. Los dispositivos de muestreo incluyen, pero no se limitan a, dispositivos tales como envases con al menos una superficie a través de la cual la luz puede pasar en el intervalo deseado de longitud de onda, así como dispositivos de muestreo que comprenden una superficie generalmente horizontal (con o sin paredes laterales) sobre los que la muestra de semilla se puede cargar para el análisis. Los dispositivos de muestreo de envases incluyen, pero no se limitan a, envases transparentes y translúcidos y envases opacos que tienen al menos una superficie transparente o translúcida. Los dispositivos de muestreo de envases también incluyen, pero no se limitan a, dispositivos de muestreo usados convencionalmente con espectrómetros, tales como cubas para muestras, soportes de muestra

con 2 cm. y 2,5 cm de longitud es de trayectoria, células de muestra, soportes de muestra, y cubetas. Los dispositivos de muestreo que comprenden una superficie generalmente horizontal incluyen, pero no se limitan a, cualquier material sobre el que las muestras de semillas se pueden colocar para el análisis, que incluyen materiales que comprenden un material opaco para análisis de reflectancia y materiales que comprenden un material translúcido o transparente para el análisis de transmisión. En una realización preferente, el dispositivo de muestreo es una cubeta transparente. En otra realización preferente, el dispositivo de muestreo es cualquier material negro plano sobre el cual la semilla de muestra se puede cargar para el análisis de reflectancia.

Se puede usar cualquier fuente de luz que pueda proporcionar la iluminación de banda ancha para el intervalo de longitudes de onda usado para cualquier muestra en particular estudiada y dispositivo usado para medida de la luz. Fuentes de luz particularmente preferentes son las que pueden proporcionar luz a través del intervalo de la respuesta espectral para el dispositivo usado de medida de la luz. Ejemplos de dichas fuentes de luz incluyen, pero no se limitan a, halógena, halógena y tungsteno, halógena de filamento largo, xenón, xenón pulsado, fluorescente, neón, y mercurio. En una realización preferente, se usa una luz halógena de tungsteno tal como una lámpara AS220 de CVI Laser Inc. (CVI Laser Corp., 200 Dorado Pl. SE, PO Box 11308, Albuquerque, NM 87192) que proporciona luz sobre al menos el intervalo de 700 a 1.800 nanómetros. En otra realización, se usa una fuente de luz que produce luz sobre al menos el intervalo de 350 a 750 nanómetros. Esta fuente de luz puede ser cualquier fuente de luz que se ha mencionado anteriormente, que incluye halógena, halógena de tungsteno, halógena de filamento largo, xenón, xenón pulsado, fluorescente, neón, y mercurio.

15

30

35

40

45

50

55

60

La fuente de luz se puede dirigir a una muestra para formar luz reflejada y luz transmitida. Luz reflejada es cualquier luz que incide y que se emite desde la muestra pero que no pasa a través de la muestra. Para medir la luz reflejada, el dispositivo para medir la luz se puede orientar en cualquier ángulo de la muestra con respecto a la fuente de luz. En una realización preferente que usa luz reflejada, el dispositivo para medir la luz está orientado en un ángulo inferior a 180 grados con respecto a la fuente de luz. Por ejemplo, para un dispositivo de muestreo plano colocado horizontalmente, la fuente de luz se puede colocar en un ángulo de 20 grados desde una línea imaginaria perpendicular al plano del dispositivo de muestreo con la intersección de la línea de la muestra como el vértice, y un dispositivo para medir la luz se puede colocar en un ángulo de 20 grados desde la línea imaginaria opuesta a la fuente de luz y 40 grados desde la fuente de luz con el mismo vértice. Con esta orientación, la luz desde la fuente de luz será reflejada desde la muestra al dispositivo para medir la luz.

La luz transmitida es luz que pasa a través de la muestra y que se emite desde la muestra en el lado opuesto a la fuente de luz. En una realización preferente, la fuente de luz y el dispositivo para medir la luz están colocados en lados opuestos de la muestra, y todos los tres están colocados de forma colineal. Por ejemplo, un dispositivo de muestreo de cubeta que tiene paredes transparentes opuestas entre las cuales se coloca una muestra a granel se puede colocar entre una fuente de luz y un dispositivo para medir la luz. La luz desde la fuente de luz incide en la muestra, y una parte de la luz se transmite a través de la muestra al otro lado de la cubeta en la que se emite en el dispositivo para medir la luz.

Tal como se usa en el presente documento, "formar luz reflejada o transmitida" se refiere a dirigir luz desde una fuente de luz a una muestra de modo que la luz reflejada y/o la luz transmitida se genera de este modo.

La luz reflejada o la luz transmitida o ambas pueden pasar a través de un espectrógrafo. Un espectrógrafo, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un dispositivo que tiene componentes ópticos que son capaces de recibir luz de varias longitudes de onda, dispersar la luz de la longitud de onda mixta en sus componentes, y emitir las longitudes de onda dispersadas. En una realización preferente, un espectrógrafo comprende una rendija de entrada para recibir luz y un prisma-rejilla-prisma para dispersar la luz. En otra realización, el espectrógrafo es un espectrógrafo de rejilla reflector que tiene una rejilla holográfica como una rejilla de canal fijado. Tal como se usa en el presente documento, luz "dispersada" es la luz que se ha convertido desde la luz de varias longitudes de onda en luz con las longitudes de onda componentes separadas. "Dispersar" luz reflejada o transmitida, tal como se usa en el presente documento, se refiere a separar luz de varias longitudes de onda en luz con las longitudes de onda componentes separadas. "Pasar" la luz reflejada o la luz transmitida a través de un espectrógrafo, tal como se usa en el presente documento, se refiere recibir la luz reflejada o transmitida en una apertura de entrada tal como una rendija de modo que la luz viaja a través de los componentes ópticos del espectrógrafo, se dispersa, y se emite desde una apertura de salida. En una realización preferente, la rendija de entrada se coloca de modo que reciba luz de la muestra, y un dispositivo para medir la luz se fija en la apertura de salida.

El intervalo de longitudes de ondas emitidas por el espectrógrafo puede ser intervalo que sea lo suficientemente amplio como para permitir el análisis de la muestra. En una realización preferente, el espectrógrafo es capaz de emitir los dispersada que tiene longitudes de onda en el intervalo de 500 a 2.000 nanómetros, más preferentemente de 700 a 1.800 nanómetros, e incluso más preferentemente de 900 a 1.700 nanómetros. En otra realización preferente, el espectrógrafo es capaz de emitir luz dispersada que tiene longitudes de onda en el intervalo de 100 a 1.000 nanómetros. El espectrógrafo tiene preferentemente una dispersión espectral de al menos 50 nanómetros por milímetro (nm/mm), más preferentemente 100, 125 y 150 nm/mm. El espectrógrafo tiene preferentemente al menos espectral de 100 nm, más preferentemente 50 nm, e incluso más preferentemente una resolución espectral de 40, 30, y 20 nm. En una realización preferente, el espectrógrafo tiene un intervalo espectral de 900 a 1.700 nm, una dispersión espectral de al menos 150 nm/mm y al menos una resolución espectral de 20 nm.

La salida del espectrógrafo se puede recibir en un dispositivo para medir la luz capaz de recibir luz desde el espectrógrafo en múltiples puntos de datos. Tal como se usa en el presente documento "punto de datos" se refiere a un área discreta, tal como una matriz plana focal, en la que la luz se puede recibir y medir independientemente. Estos puntos de datos se pueden organizar, por ejemplo, en múltiples dimensiones. Én una realización preferente. los múltiples puntos de datos se organizan en una matriz de dos dimensiones. Una matriz de múltiples puntos de datos puede comprender píxeles, con cada píxeles correspondiendo a un punto de datos y que es capaz de recibir independientemente luz y emitir una señal. En una realización preferente, el número de puntos de datos es superior a 100, más preferentemente 500, incluso más preferentemente 1.000, 5.000, 10.000, 75.000 o 100.000. En una realización preferente, el número de píxeles es superior a 1.000, más preferentemente 5.000, incluso más preferentemente 10.000, 75.000 o 100.000. Ejemplos de matrices disponibles para medir múltiples puntos de datos incluyen, pero no se limitan a, dispositivos de medida de la luz, tales como cámaras, que tiene matices para la formación de imágenes. El dispositivo para medir la luz tiene preferentemente unpaso inferior a 100 micrómetros, y más preferentemente tiene unpaso inferior a 50, 40, 30, o 20 micrómetros, y una frecuencia de imágenes en exceso de 5 fotogramas por segundo, y más preferentemente superior al 10, 15, 20, y 25 fotogramas por segundo. En una realización preferente, un dispositivo para medir la luz tiene un plano focal superior a 75.000 píxeles, unpaso inferior a 20 micrómetros, y una frecuencia de imágenes en exceso de 25 fotogramas por segundo. En una realización preferente, el dispositivo para medir la luz es una cámara de Antimoniuro de Indio (InAs), Telururo de Mercurio y Cadmio (MCT), Siliciuro de Platino (PtSi), Silicio dopado con Arsénico (Si:As), Arseniuro de Indio y Galio, o CCD. En una realización preferente, el dispositivo para medir la luz es una cámara de Arseniuro de Indio y Galio, e incluso más preferente una cámara SU320-1.7RT-D/RS170 de Sensors Unlimited Inc., (Sensors Unlimited Inc., 3490 US Rte 1, Building 12, Princeton, NJ, 08540), que es capaz de recibir luz a 76.800 píxeles.

10

15

20

25

35

40

60

Los puntos de datos son capaces de emitir una señal. Tal como se usa en el presente documento, "emitir una señal" se refiere a la producción de cualquier forma de señal que se puede usar para medir directa o indirectamente la intensidad de la luz en uno o más puntos de datos. Por ejemplo, la señal se puede producir a través de la conversión de energía luminosa en impulsos eléctricos, o de otro modo.

Las salidas particulares se pueden correlacionar con un rasgo. En base a dicha correlación, si una semilla presenta un rasgo se puede determinar. En una realización preferente, la información conocida se ha recogido mediante procedimientos convencionales y se ha correlacionado con las medidas. Por ejemplo, una semilla se puede analizar con el procedimiento de la presente invención con el fin de producir un conjunto conocido de medidas. La concentración real de los componentes químicos se puede medir a continuación con técnicas quimiométricas convencionales, y los valores resultantes se pueden asociar con las medidas producidas con la presente invención. El procedimiento se repite para las semillas con diferente composición química, creando de este modo un conjunto de asociaciones. Cuando una semilla desconocida se analiza a continuación con el procedimiento de la presente invención, las medidas producidas por los puntos de datos se pueden comparar con el conjunto conocido de asociaciones para predecir la composición de la semilla, y la composición predicha de la semilla se pueden comparar con un umbral predefinido para determinar si la semilla presenta el rasgo. Tal como se usa en el presente documento, "presenta un rasgo" se refiere a que las medidas de la serie de puntos de datos están por encima de un valor mínimo, por debajo de un valor máximo, o dentro de un intervalo, cualquiera de los cuales se puede definir previamente. Los valores pueden corresponder con medidas a partir de cualquier longitud de onda o cualquier combinación de longitudes de onda.

Para cualquier rasgo dado, las medidas de una o más longitudes de onda de la luz se pueden usar para determinar si una semilla presenta un rasgo. Dado que el espectrógrafo dispersara la luz sobre los puntos de datos con un patrón conocido, los puntos de datos se pueden asociar con las longitudes de onda, y las medidas a partir de esos puntos de datos se pueden asociar del mismo modo con las longitudes de onda.

En una realización preferente, la determinación de si una semilla presenta un rasgo se basa en múltiples longitudes de onda. Dicha determinación multivariante puede comprender hasta todo el conjunto de longitudes de onda que entran en un dispositivo para medir la luz un dispositivo para medir la luz. En dicha realización, se puede usar la luz en el intervalo de longitud de onda de 800 a 2.600 nanómetros, más preferentemente de 800 a 2.200 nanómetros. Cuando se examina una semilla con múltiples longitudes de onda, dichas longitudes de onda formarán un perfil. Un perfil es el conjunto de señales combinadas para una semilla, cualquier porción de una semilla, o más de una semilla. Por ejemplo, en un análisis de una sola semilla, las señales a partir de los puntos de datos que representan una semilla entera se pueden combinar en un perfil. Los puntos de datos asociados con una porción de la semilla, por ejemplo el endospermo, se pueden combinar para formar un perfil para el endospermo. Para una muestra a granel, en una realización, las señales de puntos de datos se pueden promediar o combinar de otro modo para formar un perfil para toda la muestra. En una realización preferente, los perfiles se pueden correlacionar con un rasgo en particular.

En otra realización preferente, la determinación de si una semilla presenta un rasgo usa una o varias longitudes de onda distintas asociadas con la presencia de un rasgo en particular. La tabla que sigue a continuación indica varias longitudes de onda se pueden asociar con rasgos en particular y que se pueden usar para predecir los rasgos correlacionados.

| Rasgo                      | Longitud de onda, en nanómetros  |
|----------------------------|--|
| Lignina                    | 2.270  |
| Aceite                     | 2.310, 1.274, 1.284, 1.318, 1.410, 1.510, 1.772, 1.790, 2.136, 2.245, 2.250  |
| Celulosa                   | 2.336  |
| Proteína                   | 2.180, 1.460-1.530, 1.680, 1.709, 2.083, 2.139, 2.180, 2.190, 1.282, 2.110, 2.388, 2.442, 1.460, 1.760, 1.574, 1.610, 1.786, 1.818, 2.084, 2.100, 2.164, 2.254, 1.018  |
| Hidrato de carbono         | 2,100, 1.450,1.540, 920, 1.000   |
| Humedad                    | 1.940, 97, 958   |
| Fibra de Detergente Ácido  | 1.666, 1.492, 1.854, 1.558, 1.898, 2.148, 2.210, 2.250, 1.458  |
| Fibra de Detergente Neutro | 2.294, 2.072, 1.902, 2.204, 1.850, 1.586   |
| Almidón Hidratado          | 1.000  |
| Plaga de Insectos          | 1.000-1.350, 1.500-1.680   |
| Forma o Ruptura            | 1.104, 1.300   |
| Germen                     | 2.180, 1.460-1.530, 1.680, 1.709, 2.083, 2.139, 2.180, 2.190, 1.282, 2.110, 2.388, 2.442, 1.460, 1.760, 1.574, 1.610, 1.786, 1.818, 2.084, 2.100, 2.164, 2.254, 1.018, 2.310, 1.274, 1.284, 1.318, 1.410, 1.510, 1.772, 1.790, 2.136, 2.245, 2.250 |
| Endospermo                 | 2.100, 1.450, 1.540, 920, 1.000, 1.940, 970, 958   |

Otros tejidos vegetales o muestras agrícolas se pueden sustituir con semillas. Tal como se usa en el presente documento, tejidos vegetales incluyen, pero no se limitan a, cualquier parte vegetal tal como hoja, flor, raíz, y pétalo. Tal como se usa en el presente documento, muestras agrícolas incluyen, pero no se limitan a, tejidos vegetales tales como semillas, pero también incluyen material sin base vegetal tal como materia no orgánica o materias sin base vegetal que se producen en un contexto agrícola. Muestras de hongos son un ejemplo de una muestra agrícola.

Semillas individuales o lotes de semillas se pueden usar con los procedimientos y dispositivos de la presente invención. Un lote de semillas es cualquier número de semillas mayor que uno. Tal como se usa en el presente documento, un "miembro" de un lote es cualquier semilla individual dentro del lote. Un lote de semillas se puede definir con un número. En una realización preferente, un lote de semillas es superior a 10 semillas, más preferentemente superior a 20, 50, 500, 1.000 o 10.000 semillas. En otra realización, el lote de las semillas se puede clasificar por su origen, tal como semillas que se derivan de una sola mazorca, una sola planta o un solo cruce de planta.

10

15

20

25

30

35

Las semillas individuales en un lote se pueden analizar simultáneamente con un procedimiento de la presente invención. Tal como se usa en el presente documento, "simultáneamente" se refiere a cualquier conjunto de datos que se deriva de un único análisis. Un análisis único puede ser una exploración de una sola línea de una muestra, o múltiples exploraciones de línea de una muestra. Por ejemplo, un análisis de una única línea de muestra a granel por línea constituye un único análisis. Dicho análisis simultáneo puede ser el análisis simultáneo de un lote de semillas para uno o más rasgos. Dicho análisis simultáneo también puede ser el análisis simultáneo de una semilla para múltiples rasgos. En una realización preferente, se puede analizar más de un rasgo simultáneamente. En una realización más preferente, se pueden analizar simultáneamente más de 3, 4, 5, o 6 rasgos. Incluso en una realización más preferente, se pueden analizar simultáneamente entre 5 y 10 o entre 10 y 20 rasgos.

En una realización, las semillas de una sola fuente se proporcionan en conjunto en el dispositivo de muestreo. En una realización, la única fuente puede ser cualquier fuente que proporcione semillas que tengan un antecedente genético común, tal como una mazorca de maíz, una única planta, o el producto de un único cruce. Usando este procedimiento, las semillas del lote se proporcionan como un grupo proporcionado aleatoriamente en el dispositivo de muestreo. Tal como se usa en el presente documento, "proporcionar aleatoriamente" un lote de semillas en un dispositivo de muestreo se refiere a colocar las semillas en el dispositivo de muestreo sin tener en cuenta la orientación o la separación de una semilla en un momento posterior. Por ejemplo, se dice que un lote de 100 semillas que se vierte en una cubeta individual, grande para el análisis se "proporciona aleatoriamente."

Después de haber emitido las señales, programas de software tales como programas de detección de bordes, por ejemplo la versión 5.3 de Matlab con Caja de Herramientas para Procesamiento de Imágenes, de Mathworks Inc. (Mathworks Inc., 24 Prime Park Way, Natick, Massachusetts 01760) y la versión 3.2 de ENVI, de Research Systems Inc. (Research Systems, Inc., 4990 Pearl East Circle, Boulder, CO 80301), se pueden usar a continuación para analizar las señales producidas por los puntos de datos para determinar los puntos de datos que corresponden a las semillas individuales. Estos puntos de datos se pueden asociar a continuación con esas semillas individuales. Tal

como se usa en el presente documento, miembros "de asociación" con "puntos de datos correspondientes" se refiere a la asignación de las medidas de un grupo de puntos de datos contiguos como atribuibles a un miembro del lote con el fin de determinar si ésta presente un rasgo.

En otra realización, las semillas en un lote se proporcionan en un dispositivo de muestreo que es capaz de mantener cada semilla en su propio compartimento individual. Un "compartimento individual" tal como se usa en el presente documento puede ser cualquier elemento que pueda colocar cada semilla de modo que la semilla se pueda asociar con medidas de puntos de datos después del análisis. En una realización, el dispositivo de muestreo comprende una superficie plana y está colocado horizontalmente, y los compartimentos individuales son porciones designadas de la superficie plana. En otra realización, el dispositivo de muestreo comprende compartimentos individuales que tienen un suelo y cuatro paredes colocadas en un patrón cuadrado en el que se pueden proporcionar semillas individuales. En otra realización más, el dispositivo de muestreo es una superficie plana sobre la cual se colocan compartimentos individuales de forma desmontable que tienen solamente cuatro paredes. En la presente realización, la superficie plana o los compartimentos individuales se pueden retirar para permitir la clasificación de las semillas.

5

15

30

35

40

45

50

En cualquiera de las realizaciones que se han mencionado anteriormente para el análisis de lotes, el tiempo para realizar el procedimiento para todo el lote puede ser inferior a 30 segundos, preferentemente inferior a 10 segundos, y más preferentemente inferior a aproximadamente 5 segundos. Este tiempo de muestreo reducido mejora el rendimiento de las muestras con respecto a la técnica anterior, y permite mejor identificación sistemática de muestras de cultivos dentro de un ciclo de reproducción.

Además, en cualquiera de las realizaciones de semilla individual y análisis de lotes que se han proporcionado anteriormente, la semilla se puede analizar para más de un rasgo a la vez. Por ejemplo, los rasgos que corresponden a diferentes longitudes de onda o intervalos de longitudes de onda y los rasgos que tienen un efecto acumulativo dentro del mismo intervalo se pueden investigar simultáneamente. Además, se pueden analizar separadamente diferentes tejidos de una semilla individual. Usando modelado espectral para diferenciar entre los dos tejidos, regiones de puntos de datos contiguos se pueden asociar con cualquier porción de una semilla o tejido vegetal, tal como, por ejemplo, el germen y el endospermo. Los datos espectrales para las diferentes porciones se pueden usar a continuación para analizar diferencialmente los diferentes tejidos de la semilla.

Para cualquiera de las realizaciones que se han enumerado anteriormente, se pueden formar imágenes de la muestra con el espectrógrafo y el dispositivo para medir la luz línea a línea. En una realización preferente, la fuente de luz comprende una lente cilíndrica que concentra la luz en un haz fino a través de la anchura de la muestra. El espectrógrafo tiene una rendija de entrada que está alineada con la línea de luz en la muestra, maximizando de este modo la cantidad de luz reflejada o transmitida que entra en el espectrógrafo. Tal como se usa en el presente documento, una "línea" de luz es luz reflejada o transmitida que se hace pasar a través del espectrógrafo y que corresponde con una región física en la muestra de una forma especificada. En una realización preferente, la forma especificada es una forma rectangular fina o segmento. Por lo tanto, se dice que una muestra comprende una multitud de líneas contiguas, que, cuando se coloca en su orden correcto, forman la muestra en conjunto. Tal como se usa en el presente documento, la "primera línea" es la línea que se analiza mediante el procedimiento antes que todas las otras líneas en la muestra. En una realización preferente, la primera línea es una línea en un extremo del dispositivo de muestreo. El extremo del dispositivo de muestreo puede ser cualquier lado o borde. Por ejemplo, el extremo en un dispositivo de muestreo con una cara con forma de cuadrado puede ser cualquiera de los cuatro bordes de la cara. Un procedimiento de la presente invención se puede realizar usando una sola línea, o cualquier combinación de líneas hasta todo el complemento de líneas para la muestra. A medida que se analizan más líneas, se examinan más parte de la muestra. En una realización, se analiza una sola línea. En otra realización, se analizan varias líneas no advacentes. En una realización adicional, se analizan todas las líneas de la muestra desde un extremo de la muestra al otro, comenzando con la primera línea y continuando con las líneas posteriores hasta que se alcanza la última línea. Tal como se usa en el presente documento, una "línea posterior" es la línea sin analizar adyacente a la línea que se acaba de analizar. La "última línea" es la línea final analizada.

Para analizar líneas posteriores después de la primera línea, una muestra se puede mover el grosor de una línea para alinear cada línea posterior con respecto a la fuente de luz y el espectrógrafo. Este movimiento relativo se puede conseguir moviendo el dispositivo de muestreo o la fuente de luz y el espectrógrafo. En una realización preferente, el dispositivo de muestreo está montado en una etapa de traslación lineal que es capaz de ser movido en incrementos equivalentes al ancho de una línea, o a una velocidad constante. En otra realización preferente, la etapa se desplaza a una velocidad constante, y un dispositivo para medir la luz se controla con el fin de capturar una imagen en el momento exacto en el que cada línea posterior, sin solapamiento, está alineada con la rendija. Mediante el análisis de la primera línea y cada línea posterior, se puede analizar completa.

Los procedimientos y dispositivos de la presente invención se pueden usar en un programa de reproducción para seleccionar plantas o semillas que tienen un rasgo deseado. En un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para seleccionar una semilla que tiene un rasgo, que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a la semilla, formando de este modo luz reflejada y luz transmitida; (C) pasar la luz reflejada o la luz transmitida a través de un espectrógrafo para formar luz dispersada; (D) recibir la luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal con el dispositivo para cada uno de los múltiples puntos de datos para medir la luz; y, (F)

determinar si la semilla presenta cada uno de los rasgos en base a las señales.

25

30

40

45

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento de introgresión de un rasgo en una planta que comprende: (A) proporcionar la semilla en un dispositivo de muestreo; (B) dirigir luz desde una fuente de luz a una semilla y generar luz transmitida o reflejada; (C) pasar la luz transmitida o reflejada a través de un espectrógrafo; (D) recibir la luz transmitida o la luz reflejada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos; (E) emitir una señal para cada uno de los múltiples puntos de datos con el dispositivo; (F) determinar si la semilla presenta el rasgo en base a las señales; (G) seleccionar la semilla que tiene el rasgo en base a las señales; (H) hacer crecer una planta fértil a partir de la semilla; y, (I) usar la planta fértil como un progenitor femenino o un progenitor masculino en un cruce con una segunda planta.

Los procedimientos de introgresión y selección de la presente invención se pueden usar en combinación con cualquier metodología de reproducción y se pueden usar para seleccionar una única generación o para seleccionar múltiples generaciones. La elección del procedimiento de reproducción depende del modo de reproducción de la planta, la heredabilidad del rasgo o rasgos que se están mejorando, y del tipo de variedad cultivada usada comercialmente (por ejemplo, variedad cultivada híbrida F1, variedad cultivada de línea pura, etc). A continuación se exponen enfoques no limitantes, seleccionados para la reproducción de las plantas de la presente invención. Además se entiende que cualquier variedad cultivada comercial y no comercial se puede usar en un programa de reproducción. Factores tales como, por ejemplo, vigor de emergencia, vigor vegetativo, tolerancia al estrés, resistencia a enfermedades, ramificación, floración, conjunto de semillas, tamaño de la semilla, densidad de la semilla, resistencia a la caída por efecto del viento o la lluvia, y desgranabilidad etc. generalmente dictará la elección.

Para rasgos altamente heredables, será eficaz una elección de plantas individuales superiores evaluadas en una sola ubicación, mientras que para rasgos con baja heredabilidad, la selección se debería basar en valores medios obtenidos a partir de evaluaciones replicadas familias de plantas relacionadas. Los procedimientos de selección populares normalmente incluyen, pero no se limitan a, selección de líneas puras, selección de líneas puras modificadas, selección de masa, y selección repetida. En una realización preferente se comienza un programa de retrocruzamiento o reproducción repetida.

La complejidad de la herencia influye en la elección del procedimiento de reproducción. La reproducción por retrocruzamiento se puede usar para transferir o unos cuantos genes favorables para un rasgo altamente heredable en una variedad cultivada deseable. Este enfoque se ha usado extensivamente para reproducción de variedades cultivadas resistentes a enfermedades. Se usan diversas técnicas de selección repetida para mejorar cuantitativamente los rasgos heredados controlados por numerosos genes. El uso de selección repetida en cultivos de autopolinización depende de la facilidad de polinización, la frecuencia y los híbridos exitosos de cada polinización, y la cantidad de descendencia híbrida a partir de cada cruce exitoso.

Las líneas de reproducción se pueden someter a ensayo y comparar con los patrones apropiados en medios representativos del área o áreas de objetivo comercial para dos o más generaciones. Las mejores líneas son candidatas para nuevas variedades cultivadas comerciales; las que aún son deficientes en rasgos se pueden usar como progenitores para producir nuevas poblaciones para la selección adicional.

Un procedimiento para identificar una planta superior es observar su rendimiento con respecto a otras plantas experimentales y con una variedad cultivada convencional ampliamente cultivada. Si una sola observación no es concluyente, las observaciones replicadas pueden proporcionar una mejor estimación de su valor genético. Un productor puede seleccionar y cruzar dos o más líneas parentales, seguido de auto fecundación y selección repetidas, produciendo muchas nuevas combinaciones genéticas.

El desarrollo de nuevas variedades cultivadas de soja implica el desarrollo y selección de variedades de soja, el cruce de estas variedades lección de cruces híbridos superiores. La semilla híbrida se puede producir mediante cruces manuales entre progenitores seleccionados con fertilidad masculina o mediante el uso de sistemas de esterilidad masculina. Los híbridos se seleccionan para determinados rasgos de genes individuales tales como color de la vaina, color de la flor, rendimiento de la semilla, color en la pubescencia o resistencia a herbicidas que indican que la semilla es realmente un híbrido. Los datos adicionales sobre líneas parentales, así como el fenotipo del híbrido, influyen en la decisión del productor de si debe continuar con el cruce híbrido específico.

Los procedimientos de reproducción de líneas puras y de reproducción de selección repetitivos se pueden usar para desarrollar variedades cultivadas a partir de poblaciones de reproducción. Los programas de reproducción combinan rasgos deseables de dos o más variedades cultivadas o diversas fuentes de una base amplia en espacios de reproducción a partir de los cuales se desarrollan variedades cultivadas por autofecundación y selección de fenotipos deseados. Se pueden evaluar nuevas variedades cultivadas para determinar cuáles tienen potencial comercial.

La reproducción de líneas puras se usa normalmente para la mejora de cultivos de autopolinización. Dos progenitores que poseen rasgos complementarios, favorables se cruzan para producir un F1. Una población F2 se produce por auto fecundación de uno o varios de F1. La selección de los mejores individuos en las mejores familias

se selecciona. El ensayo replicado de familias puede comenzar en la generación F4 para mejorar la eficacia de la selección de rasgos con baja heredabilidad. En una fase avanzada de endogamia (es decir, F6 y F7), las mejores líneas o mezclas de líneas fenotípicamente similares se someten a ensayo para su liberación potencial como nuevas variedades cultivadas.

La reproducción por retrocruzamiento se ha usado para transferir genes para un rasgo altamente heredable, simplemente heredado en una variedad cultivada homocigótica deseable o línea innata, que es el progenitor repetido. La fuente del rasgo a transferir se denomina progenitor donante. Se espera que la planta resultante tenga atributos del progenitor repetido (por ejemplo, variedad cultivada) y el rasgo deseable transferido del progenitor donante. Después del cruce inicial, los individuos que poseen el fenotipo del progenitor donante se seleccionan y se cruzan repetidamente (retrocruzamiento) con el progenitor repetido. Se espera que el progenitor resultante tenga atributos del progenitor repetido (por ejemplo, variedad cultivada) y el rasgo deseable transferido desde el progenitor donante.

El procedimiento de linaje de una sola semilla se refiere a plantar una población segregada, cosechar una muestra de una semilla por planta, y usar la muestra de una semilla para plantar la siguiente generación. Cuando la población se ha avanzado desde el F2 a nivel deseado de endogamia, cada una de las plantas a partir de las cuales se derivan líneas trazará a diferentes individuos de F2. El número de plantas en una población declina cada generación debido al fracaso de algunas semillas para germinar o de algunas plantas para producir al menos una semilla. Como resultado, no todas las otras plantas de F2 muestre a las originalmente en la población se representarán por una progenie cuando se complete el avance de la generación.

20 En un procedimiento de múltiples semillas, por ejemplo, los productores de soja normalmente cosechan una o más vainas de cada planta en una población y las desgranan en conjunto para formar una masa. Parte de la masa se usa para plantar la siguiente generación y parte se pone en reserva. El procedimiento se ha denominado técnica de linaje de una sola semilla o de vaina a granel.

El procedimiento de múltiples semillas se ha usado para ahorrar mano de obra en la cosecha. Es considerablemente más rápido que desgranar vainas con una máquina que retirar una semilla de cada vaina a mano en el procedimiento de una sola semilla. El procedimiento de múltiples semillas también hace posible plantar el mismo número de semillas de una población cada generación de endogamia.

En una realización, la presente invención se usa para diferenciar muestras haploides de muestras no haploides. El uso de plantas haploides aumenta la eficacia de selección repetida en programas de reproducción de plantas proporcionando una forma de producir líneas totalmente homocigóticas de líneas haploides dobles. Debido a que los haploides son hemicigóticos, es decir, solamente un alelo por locus, son útiles para estudios de mutaciones y selección frente a alelos recesivos no deseados. Los procedimientos de la presente invención se pueden usar para discriminar muestras haploides de otros tipos de muestras, tales como diploides. Cualquier rasgo haploides que produzca un fenotipo que produce luz reflejada o transmitida tiene una composición espectral diferente de la de una muestra no haploide se puede determinar con los procedimientos de la presente invención. Por ejemplo, algunas líneas parentales llevan genes marcados tales como R-nj, que permiten la identificación de haploides en la etapa de semillas maduras mediante la coloración con antocianina de la parte superior del endospermo y la falta de coloración en el embrión. Los procedimientos de la presente invención pueden discernir fácilmente la presencia o la ausencia de estos fenotípicos en la ubicación requerida en la semilla.

40 Se pueden encontrar descripciones de otros procedimientos de reproducción que se usan normalmente para diferentes rasgos y cultivos en uno de varios libros de referencia (por ejemplo, Fehr, Principles of Cultivar Development Vol. 1, páginas 2-3 (1987)), cuya totalidad se incorpora en el presente documento por referencia).

#### Dispositivos y Sistemas Analíticos

15

30

35

45

50

La presente invención proporciona un dispositivo para medir propiedades de productos agrícolas, que comprende: un dispositivo de procesamiento para producir una muestra; un dispositivo de muestreo para proporcionar una muestra, en el que el dispositivo de muestreo está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de procesamiento; y, un sistema para la formación de imágenes por espectroscopía óptica, en el que el sistema está colocado para analizar la muestra en el dispositivo de muestreo. La presente invención también proporciona un dispositivo para medir propiedades de productos agrícolas, que comprende: un dispositivo de muestreo para proporcionar una muestra; un sistema para la formación de imágenes por espectroscopía óptica, en el que el sistema está colocado para analizar la muestra en el dispositivo de muestreo; y, un dispositivo de clasificación para clasificar la muestra en dos o más grupos diferentes, en el que el dispositivo de clasificación está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de muestreo. La presente invención proporciona adicionalmente un dispositivo para medir propiedades de productos agrícolas, que comprende: un dispositivo de procesamiento para producir una muestra; un dispositivo de muestreo para proporcionar una muestra, en el que el dispositivo de muestreo está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de procesamiento; un sistema para la formación de imágenes por espectroscopía óptica, en el que el sistema está colocado para analizar la muestra en el dispositivo de muestreo; y, un dispositivo de clasificación para clasificar la muestra en dos o más grupos diferentes, en el que el dispositivo de clasificación está colocado para recibir la muestra desde el dispositivo de muestreo.

El dispositivo que se describe en el presente documento usa un sistema para la formación de imágenes por espectroscopía óptica para analizar muestras agrícolas. Tal como se usa en el presente documento, un "sistema de formación de imágenes por espectroscopía óptica" es cualquier sistema que puede formar una imagen de la muestra, en el que la imagen comprende una multitud de puntos de datos. En una realización preferente, el sistema de formación de imágenes por espectroscopía óptica comprende la fuente de luz, un dispositivo para dispersar luz, y un dispositivo para medir la luz. Tal como se usa en el presente documento, un "dispositivo para dispersar luz" se refiere a cualquier dispositivo que es capaz de dispersar la luz que tiene varias longitudes de onda en longitudes de onda separadas. En una realización preferente, el dispositivo para dispersar la luz es un espectrógrafo. La fuente de luz, espectrógrafo, y dispositivo para medir la luz incluyen, pero no se limitan a, los que se describen en el presente documento.

10

15

45

50

55

Una muestra se puede preparar para el análisis con un sistema de formación de imágenes espectroscópicas con un dispositivo de procesamiento. Tal como se usa en el presente documento, un "dispositivo de procesamiento" es cualquier dispositivo que es capaz de separar la porción deseada de una planta del resto de la planta. En una realización preferente, el dispositivo de procesamiento es una desgranadora, una trilladora, o una cosechadora. La desgranadora puede ser, por ejemplo, una desgranadora modificada para mazorcas de maíz individuales de Almaco (Almaco, 99 M Avenue, P.O. Box 296, Nevada, IA 50201).

Después de preparar la muestra con el dispositivo de procesamiento, se analiza con el sistema de formación de imágenes espectroscópicas. Después del análisis con el sistema de formación de imágenes espectroscópicas, la muestra se puede clasificar automáticamente con un dispositivo de clasificación.

Tal como se usa en el presente documento, un "dispositivo de clasificación" es cualquier dispositivo que es capaz de separar la muestra en al menos dos contenedores diferentes dependiendo de los resultados del análisis. Un dispositivo de clasificación puede ser, por ejemplo, una única paleta móvil que dirige la muestra en una de dos direcciones. En una realización preferente, un dispositivo de clasificación es capaz de clasificar independientemente 10, 20, 50, o 100 semillas individuales. Tal como se usa en el presente documento, un "contenedor" es cualquier dispositivo que puede contener una porción de una muestra separada de otras porciones.

En una realización preferente, el dispositivo de clasificación es capaz de clasificar un uso lote de semillas en uno de un múltiplo de contenedores. Este tipo de clasificación es útil si se está examinando más de un solo rasgo durante el análisis.

En una realización preferente, un dispositivo de procesamiento y un dispositivo de clasificación están acoplados a un dispositivo de muestreo y a un sistema de formación de imágenes espectroscópicas para proporcionar un dispositivo para proporcionar automáticamente una muestra, analizar una muestra, y clasificar una muestra. En una realización preferente, una muestra se puede proporcionar, analizar, y clasificar más rápido que una vez cada 10 segundos, más preferentemente más rápido que una vez cada cinco segundos.

La Figura 1 representa un diagrama esquemático de una realización del dispositivo de la presente invención generalmente en 10. Una fuente de luz 12 se coloca para dirigir la luz a la muestra 14 en el dispositivo de muestreo 16, que está colocado para reflejar luz a un dispositivo para medir la luz 18. La fuente de luz 12 puede ser cualquier dispositivo que sea capaz de proporcionar luz en el intervalo correcto de longitud de onda a la muestra 14 para análisis con el dispositivo para medir la luz 18. El dispositivo de muestreo 16 de pesetas que dispositivo que sea capaz de proporcionar una muestra 14 para análisis mediante sujeción y colocación de la muestra 14 en el campo de visión del dispositivo para medir la luz 18. El dispositivo para medir la luz 18 puede ser cualquier dispositivo que sea capaz de caracterizar la intensidad de una o más longitudes de onda de interés de la luz a partir de la muestra 14.

La Figura 1 a es una representación esquemática de un dispositivo preferente para medida de la luz 18 y los accesorios se muestran generalmente en 20. Adjunto al dispositivo para medir la luz 18, que en la presente realización es una cámara de exploración progresiva 22, está una lente de formación de imágenes 24, y un espectrógrafo de formación de imágenes con el eje en línea recta 26. Los componentes se colocan de modo que la luz que viene de la muestra 14 pasa primero a través de la lente de formación de imágenes 24, a continuación pasa a través del espectrógrafo 26 antes de entrar en la cámara 22. Un obturador accionado electrónicamente 38 está situado en la parte frontal de la lente de formación de imágenes. Cuando se cierra, el obturador 38 bloquea completamente cualquier entrada de luz del espectrógrafo, y se usa para recoger una imagen oscura para su uso en la corrección de las imágenes de las muestras recogidas con el sistema.

La lente de formación de imágenes 24 puede ser cualquier lente de video convencional, tal como una lente macro de 25 mm f/1,4 de Electrophysics con diafragma de iris integral. La lente de formación de imágenes 24 acopla la luz reflejada o transmitida a partir de la muestra 14 en un espectrógrafo de formación de imágenes con el eje lineal en línea recta 26, el cual, en una realización, es un Specim Inspector N17-04-100 con un ancho de una rendija de 80 micrómetros. El espectrógrafo 26 tiene un intervalo espectral nominal de 900 a 1.750 nanómetros, una resolución espectral nominal de 10 nanómetros, y una apertura numérica de f/2,8. El espectrógrafo se basa en un elemento de dispersión de prisma/rejilla/prisma (PGP) y elementos ópticos transmisores, que proporcionan un eje óptico en línea recta, una imagen sin astigmatismo, y una capacidad de procesamiento de polarización independiente. El

espectrógrafo 26, en una realización, está equipado con una pestaña de montura C convencional que permite dirigir la conexión a la lente de formación de imágenes 24 y a la cámara de matriz de plano focal 22, convirtiendo de ese modo a la cámara 22 en un sistema de formación de imágenes de línea espectral.

La cámara de exploración progresiva de matriz focal 22 que se muestra en la Figura 1 a puede ser, por ejemplo, de Antimoniuro de Indio (InAs), Telururo de Mercurio y Cadmio (MCT), Siliciuro de Platino (PtSi), Silicio dopado con Arsénico (Si:As) y Arseniuro de Indio y Galio, siendo preferente Arseniuro de Indio y Galio. Una matriz de plano focal de Arseniuro de Indio y Galio, puede ser, por ejemplo, una cámara SU320-1.7 RT-D/RS 170 de Sensors Unlimited Inc. El formato de la matriz focal para esta cámara 22 es de 320 por 240 píxeles para un total de 76.800 detectores de píxeles con un paso de 40 micrómetros para cada píxel. La cámara 22 tiene una precisión de análoga a digital de 12 bits, una tasa de lectura de píxeles de 6,1 MHz, y una respuesta espectral de 900 a 1.730 nanómetros. La cámara 22 tiene una salida de sitio de exploración progresiva que permite la adquisición de un campo por fotograma. La velocidad de fotogramas de la cámara 22 en el modo de exploración progresiva es de 60 fotogramas por segundo. Esto significa que una imagen de línea espectral se puede capturar cada 16,67 milisegundos. En una realización, el eje de 320 píxeles de la cámara 22 se usa para el eje espacial mientras que el eje de 240 píxeles se usa para el eje espectral. Esto significa que se pueden adquirir 320 espectros individuales cada 16,67 milisegundos.

15

20

25

35

40

45

50

55

60

La iluminación de la muestra 14 para la formación de imágenes de línea espectral se consigue, en una realización, con una fuente de banda ancha continua tal como una lámpara halógena de tungsteno y cuarzo. La fuente de luz 12 puede ser, por ejemplo, una lámpara AS220 y montaje de CVI Laser Inc. una realización de la fuente de luz se muestra en la Figura 1b generalmente en 28. La fuente contiene una lámpara halógena de tungsteno y cuarzo de treinta vatios con un reflector parabólico integral 30, elementos ópticos de condensador 32, un filtro de corte en el infrarrojo cercano 34, y una lente cilíndrica 36 para enfocar la luz a una línea para una iluminación uniforme. El filtro de corte en el infrarrojo cercano 34 evita que la luz ultravioleta y visible dañina, no deseada incida sobre la muestra.

Una realización de un dispositivo de muestreo 16 se muestra en la Figura 1c generalmente en 40. En la Figura 1c, el dispositivo de muestreo es una cubeta, que consiste en un compartimento rectangular 42 con una ventana de cuarzo 44 a través de la cual se forma la imagen de la muestra 14, una puerta inferior 46 para retirar la muestra 14 después de que se haya completado el análisis, una tira de un material de reflectancia calibrada 48, por ejemplo Spectralon de Labsphere Inc. (Labsphere, Inc., Sucursal de X-Rite, Inc., Shaker St., PO Box 70, North Sutton, NH 03260-0070), para normalizar la respuesta del instrumento, una tira de un material de reflectancia calibrada dopado con óxidos de tierras raras 50 para establecer la precisión de la escala de longitud de onda, y un compartimento de muestra más pequeña 52 con su propia ventana de cuarzo colocada en el fondo de la cubeta para contener una muestra de referencia del mismo tipo de producto agrícola como el que se está analizando.

La construcción opto-mecánica, tubular del espectrógrafo en la Figura 1 se muestra generalmente en las Figuras 2 a 26. El espectrógrafo 26 es compacto, estable, resistente, y no tiene componentes móviles. La rejilla en el componente de PGP es una rejilla de transmisión de volumen-fase que proporciona una buena eficiencia de difracción en un amplio intervalo. Para una realización de la presente invención, las características de ciencia de difracción son un máximo de más de un 60 % a 1.100 nanómetros y una eficiencia de un 40 % a 1.700 nanómetros. Los elementos ópticos transmisores de visión directa producen una imagen de alta calidad con una distancia focal corta y elementos ópticos rápidos, minimizando de este modo el tamaño del espectrógrafo mientras que se proporciona una buena eficiencia de recogida de luz. El espectrógrafo 26 comprende un alojamiento tubular 54 dentro del cual se coloca un disco 56 que define una rendija de entrada. La luz desde la muestra 14 entra a través de la rendija de entrada y pasa a través de una lente 58, que enfoca la luz sobre el componente de PGP 60 en el cual se dispersa a su distribución espectral continua perpendicular a la imagen de la línea. La luz dispersada pasa a continuación a través de una segunda lente 62 y se enfoca sobre la matriz del plano 64 de la cámara 22. La longitud de onda central de todo el intervalo espectral va recta y las longitudes de onda más cortas y más largas se dispersan simétricamente a ambos lados de la longitud de onda central. La matriz del plano focal de la cámara 22 colocada en el foco de la salida del espectrógrafo registra en un fotograma de la línea espacial la distribución espectral de cada píxel en la imagen en línea.

La anchura de la rendija del espectrógrafo 26 afecta tanto a la resolución espectral como a la anchura de la línea de la imagen. En una realización, la rendija es una rendija de 80 micrómetros, que proporciona una resolución espectral nominal tal como se define mediante los criterios de anchura media máxima total de 10 nanómetros a través del intervalo espectral de 900-1.530 nanómetros, mientras que aumenta a 13 nanómetros en el límite espectral superior de 1.750 nanómetros. La longitud y la anchura de la línea de la imagen se determinan mediante la longitud de la rendija, la anchura de la rendija, la longitud focal de la lente, y la distancia entre la muestra y la lente. Por ejemplo, una longitud de rendija de 9,9 mm, una anchura de rendija de 80 micrómetros, una longitud focal de la lente de 25 mm, y la distancia entre la muestra y la lente de 214 milímetros proporciona una anchura de la línea de la imagen de 0,37 milímetros de longitud de la línea de la imagen de 85 milímetros.

Para que la cámara 22 mida los datos de luz de todos los contenidos de la muestra 14, la muestra 14 se mueve con respecto al espectrómetro. El dispositivo de muestreo 16 del dispositivo para medir la luz 18, o ambos se puede mover para conseguir este movimiento relativo. En una realización preferente, el dispositivo de muestreo 16 está montado en una plataforma móvil. La plataforma puede ser, por ejemplo, una plataforma traslacional lineal controlada por servo tal como un Parker Hannefin Gemini GV Series con controlador (Parker Hannifin Corp., 6035)

Parkland Boulevard, Cleveland, Ohio). La plataforma traslacional lineal mueve la cubeta de la muestra de forma precisa y reproducible, a una velocidad constante a través del campo de visión del espectrómetro de formación de imágenes 20. El movimiento de la plataforma traslacional lineal está sincronizado con el funcionamiento de la cámara 22 de modo que cada fotograma capturado por la cámara 22 una línea de imagen de no solapamiento, adyacente de la muestra. La imagen espectroscópica de la muestra 14 en la cubeta se forma añadiendo líneas de imagen de no solapamiento, adyacentes en la muestra en conjunto, construyendo de este modo la imagen línea a línea

La Figura 3 representa gráficamente los datos hiperespectrales al cubo producidos de este modo. Tal como se muestra en la Figura 3, una dimensión de la cámara 22, el eje espacial, registra una imagen de intensidad de cada línea a una longitud de onda dada, y la otra dimensión, el eje espectral, registra la información espectral de cada píxel de la imagen. En una realización, el eje largo de la matriz del plano focal de la cámara con 320 píxeles se usa para el eje espectral. Si se desea una mejora en la relación señal a ruido del sistema, o si la velocidad de adquisición es de importancia principal, los píxeles individuales de cada línea, cada uno con un espectro único se pueden promediar, formando de este modo un espectro por cada línea de la imagen. Para la realización que se ha descrito anteriormente, esto significa que se pueden promediar 320 espectros cada 16,67 milisegundos para cada línea de la imagen. Además, una imagen de pseudo color se puede extraer a partir de los datos hiperespectrales al cubo por asignación de 3 imágenes espectrales en escala de grises en planos de longitud de onda única a los componentes de color Rojo Verde Azul (RGB), en este modo una imagen de pseudo-color, tal como se muestra en la Figura 4.

15

35

40

45

20 En el caso de reflectancia, la fuente de luz se coloca en el mismo lado del dispositivo de muestreo 16 como la cámara 22, tal como se muestra en la Figura 1. El ángulo entre la cámara 22 y la fuente de luz 12 se determina mediante la optimización de la recogida de la luz dispersada de forma difusa desde la muestra 14. La luz se enfoca sobre la muestra 14 a través de la lente cilíndrica 36.

La luz dispersada de forma difusa desde la superficie de la muestra se dirige a través de la lente de formación de imágenes 58 en la rendija de entrada del espectrógrafo en el que la rejilla de transmisión 60 dispersables en su distribución espectral continua perpendicular a la línea de la imagen definida por la rendija de entrada. La longitud de onda central del intervalo de la longitud de onda diseñada va recta a través, y longitudes de onda las más cortas y más largas se dispersan simétricamente a ambos lados de la longitud de onda central.

Las diversas realizaciones que se han descrito anteriormente para la fuente de luz 12, dispositivo de muestreo 16, y dispositivo para medida de la luz 18 se pueden combinar con dispositivos de procesamiento que separan diferentes partes de plantas, y dispositivos de clasificación, que son capaces de clasificar la muestra en base a la salida del dispositivo para medir la luz 18.

La Figura 5 muestra un diagrama esquemático de cualquiera de las realizaciones que se han descrito anteriormente integradas con un dispositivo de procesamiento agrícola convencional, que en la presente realización es un dispositivo de clasificación, y un sistema de control generalmente en 70. La salida de un dispositivo de procesamiento 72 está conectada mediante un tubo 74 a una rampa de entrada de muestra 76. El dispositivo de procesamiento 72 puede ser cualquier dispositivo agrícola convencional que separa la parte deseada de la planta del resto de la planta. En una realización, el dispositivo de procesamiento 72 es una sola desgranadora de mazorcas de maíz, que se usa para retirar los granos de maíz de la mazorca. Una sola desgranadora de mazorcas de maíz diseña para separar los granos de la mazorca, aspirar los granos para retirar cualquier resto pequeño no deseable, recoger los granos en un compartimento de recolección, y expulsar la mazorca después del descascarado. La salida del dispositivo de procesamiento 72 se alimenta directamente a través de un tubo 74 en una rampa de entrada de muestra 76 del sistema de ensayo. El movimiento de la muestra 14 a través del tubo 74 se proporciona mediante un motor de vacío 92. Un ciclón 78 con una puerta evita la salida de la muestra de la cámara de ciclón 78. La puerta se puede activar, por ejemplo, con un solenoide. Cuando al solenoide se acciona (cuando el dispositivo de muestreo está vacío y preparado para recibir una muestra nueva) la puerta en el ciclón 78 se abre, y la muestra cae dentro de una celda de pesaje 80 para medir el peso de la muestra. La parte inferior de la celda de pesaje 80 es una puerta de trampa 82, que se puede accionar, por ejemplo, mediante un solenoide. Después de registrar el peso de la muestra, la puerta de la trampa 82 se abre, permitiendo de este modo que la muestra caiga en el dispositivo de muestreo 16.

El dispositivo de muestreo 16, en la presente realización, está unido a una plataforma traslacional lineal controlada por servo 84, que se puede controlar para mover el dispositivo de muestreo 16 a una velocidad constante a través del campo de visión del dispositivo para medir la luz 18. La plataforma 84 también se usa para mover el dispositivo de muestreo 16 en una posición para aceptar la siguiente muestra o para descargar la muestra 14 después de completar la medida. Las imágenes se obtienen mediante líneas adyacentes de formación de imágenes sobre la muestra 14, construyendo de este modo la imagen línea a línea. La velocidad a la que la plataforma traslacional 84 mueve el dispositivo de muestreo 16 se determina mediante la anchura de la línea de la imagen y la velocidad de lectura de la cámara 22 por cada fotograma de imagen. Después de haber recogido los datos de imagen y el procesamiento de datos es completo, la puerta de la parte inferior 46 del dispositivo de muestreo 16 se abre, lo que permite que la muestra caiga hacia abajo. La puerta de la parte inferior 46 se puede abrir, por ejemplo, mediante un activador electrónico. Después de caer del dispositivo de muestreo 16, la muestra 14 cae en un dispositivo de clasificación 86 en el que la muestra 14 se dirige mecánicamente a uno cualquiera de dos o más recipientes. En una

realización, el dispositivo de clasificación 86 puede comprender paletas activadas electrónicamente que dirige la muestra a los recipientes. La combinación de procesamiento, análisis, y clasificación que se ha descrito anteriormente se puede diseñar, una unidad individual, o como unidades separadas que se pueden acoplar.

Un sistema de control 88 se puede incluir para automatizar todas las funciones del sistema, que incluven la recogida de datos de imágenes de fotogramas a partir del movimiento de la cámara 22, plataforma traslacional 84, apertura y cierre de puertas, movimiento de las paletas del dispositivo de clasificación, y análisis de datos. Las fuentes de alimentación asociadas y los controladores de entrada/salida están opcionalmente contenidos en un armario de componentes electrónicos 90. En una realización adicional, el dispositivo de clasificación 86 tiene múltiples paletas, permitiendo de este modo la clasificación en más de dos recipientes. El dispositivo de clasificación 86 se puede configurar para acomodar la clasificación en decenas de recipientes si se miden características múltiples al mismo

10

15

20

30

40

45

50

La Figura 6 es un diagrama de bloques del sistema de control electrónico adecuado para su uso en la práctica de la realización de la presente invención. Tal como se muestra en la Figura 6, en una realización, el sistema de control 88 comprende un controlador, una pantalla, y un teclado. El controlador contiene código legible por máquina que controla los diversos componentes del sistema usando señales recibidas de la celda de pesaje 80, un controlador de la celda de pesaje 100, y el dispositivo para medir la luz 18 (a través de las conexiones 102 y 104). El controlador envía señales a los diversos componentes para tomar las acciones apropiadas a través de la conexión 106 y el controlador de servo/motor de pasos 108, que puede ser cualquier controlador de servo/motor de pasos, tal como un controlador 6K4. El controlador de servo/motor de pasos 108 controla el dispositivo de clasificación 86, el obturador de la cámara 38, el activador del dispositivo de muestreo 110, el solenoide de la puerta de la celda de pesaje 112, la válvula del solenoide de ciclón 114, y la plataforma móvil 84.

Como por los expertos en la materia observarán, se pueden usar diversas configuraciones de controlador y código legible por máquina para conseguir el control automatizado deseado del sistema.

En una realización, el sistema funciona como sigue a continuación. Después de recibir una muestra 14 en el ciclón 25 78, la muestra 14 se aspira para eliminar el exceso de desechos. La plataforma móvil 84 mueve el dispositivo de muestreo 16 a su posición "inicial" del material de referencia de reflectancia Spectralon 48 en el que el sistema espera para empezar a adquirir los datos de formación de imágenes. Un obturador electrónico 38 bloquea la entrada al dispositivo para medir la luz 18. El sistema de control 88 adquiere y almacena una imagen oscura para el cálculo posterior de reflectancia de la muestra. El obturador electrónico 38 se abre a continuación. La plataforma móvil 84 acelera el dispositivo de muestreo 16 hasta que alcanza su velocidad constante programada previamente moviéndolo a través del campo de visión del dispositivo para medir la luz 18. El inicio del movimiento de la plataforma 84 desencadena la adquisición de fotogramas de imágenes desde el dispositivo para medir la luz 18 al sistema de control 88. Las imágenes espectroscópicas se obtienen mediante líneas adyacentes de formación de imágenes sobre la muestra, construyendo de este modo la imagen línea a línea. La velocidad a la que la plataforma 35 móvil 84 mueve el dispositivo de muestreo 16 se determina por la anchura de la línea de la imagen y la velocidad de lectura del dispositivo para medir la luz 18 por fotograma de imagen. La adquisición y el almacenamiento de una imagen oscura y un objetivo de referencia de reflectancia con cada muestra aseguran la compensación correcta por el sistema de cualquier desplazamiento debido a la corriente oscura en el detector, iluminación espacial sin uniformidad a través de la línea de la escena, y la deriva de temperatura del color de la fuente de luz. El sistema de control continúa tomando fotogramas de imágenes a medida que la plataforma móvil 84 se mueve. El sistema de control 88 detiene la adquisición de fotogramas de imágenes y para el movimiento de la plataforma cuando se encuentra un criterio válido de "Fin de la Exploración" en el sistema de control. La expresión lógica "Fin de la Exploración" se somete ensayo después de adquirir cada fotograma de imagen. El número total de líneas válidas de la imagen es proporcional al volumen total de la muestra. El volumen de la muestra con los datos de peso de la celda de pesaje se usa para calcular el rendimiento. Después de haber recogido los datos de las imágenes y de completar el procesamiento de datos, la muestra 14 se clasifica como se ha hecho anteriormente dependiendo de los criterios de selección determinados previamente y los datos del análisis del dispositivo para medir la luz 18. La información química cuantitativa para la muestra se puede extraer a partir de los datos espectrales recogidos con la presente invención. Es bien sabido que las moléculas orgánicas poliatómicas contenidas en materiales biológicos presentan transiciones de absorción en regiones espectrales del infrarrojo y del infrarrojo cercano y que estas transiciones están bien correlacionadas con los grupos funcionales orgánicos. Específicamente, en la región del infrarrojo cercano de 770 a 2.500 nanómetros, armónicos y bandas de combinación de las frecuencias vibracionales fundamentales de los grupos funcionales orgánicos de O-H, C-H, y N-H proporcionan una firma espectral molecular para correlacionar la concentración de componentes químicos.

55 Cuando se usa como sistema de formación de imágenes espectrales, la presente invención proporciona muchas ventajas. Debido a que la luz reflejada desde cada unidad de muestra dentro del campo de visión del sistema se recoge y se mide, se pueden obtener datos más precisos para las muestras de grano a granel. La Figura 7 muestra el tipo de detalle que se puede adquirir con la realización preferente de la presente invención. La Figura 7 muestra una imagen ampliada en escala de grises una muestra de maíz a granel a 1.100 nanómetros. También se muestran 60 dos espectros superpuestos, uno que corresponde a un punto espacial en la porción de germen de un grano de maíz tal como se indica en la imagen, mientras que el otro corresponde a un punto espacial en la porción del endospermo tal como se indica en la imagen de un grano de maíz. Tal como se puede observar a partir de la comparación de la imagen en escala de grises junto con los espectros, los dos granos se pueden discriminar entre sí usando sus firmas espectrales. El análisis de las imágenes espectroscópicas se puede usar para clasificar la muestra en base al, por ejemplo, sin limitación, tamaño del endospermo, tamaño del germen, forma de la semilla, tamaño de la semilla, color de la semilla, textura de la superficie de la semilla, peso de la semilla, densidad de la semilla, integridad de la semilla, contenido de aceite, contenido de proteína, contenido de hidratos de carbono, contenido de almidón, contenido de fibra y contenido de agua. El detalle espacial proporcionado por la imagen de la muestra se puede usar a través del uso de filtros morfológicos para estimar el número total de unidades para un volumen dado así como el promedio de la forma unitaria.

Haciendo referencia a la Figura 8, se muestra una realización alternativa de la presente invención en la forma de un 10 sistema de formación de imágenes de transmitancia difusa. El dispositivo de muestreo 116 en la presente realización permite el paso de luz a través de los lados, y puede consistir en un compartimento rectangular con dos ventanas de cuarzo a través de las cuales la luz se transmite a través de la muestra a la rendija de salida del espectrógrafo 26. En el caso de transmitancia difusa, la fuente de luz 12 se coloca directamente opuesta al dispositivo para medir la luz 18 a una distancia X y en el mismo plano. La luz desde la fuente de luz 12 se dirige en una línea mediante la lente cilíndrica y se colima a través del dispositivo de muestreo 116 en el que se enfoca sobre la rendija de entrada del espectrógrafo 26. El material de referencia calibrado de Spectralon usado en la realización de reflectancia se reemplaza con la célula de referencia de transmisión 118 que consiste en dos ventanas pequeñas colocadas a cada lado de la cubeta, una de las cuales es de cuarzo en los que la otra está hecha con un filtro de intensidad neutra de modo que se puede recoger una imagen de referencia. La medida de la transmitancia se hace dividiendo la línea de 20 imagen adquirida a través de la muestra 14 mediante la imagen de referencia de transmisión. La parte inferior del dispositivo de muestreo 116 comprende una celda de muestra 120 con dos ventanas de cuarzo en lados opuestos que contienen una referencia del mismo tipo que la que se está analizando. El procedimiento analítico evoluciona tal como se ha mencionado anteriormente.

Haciendo referencia a la Figura 9, se muestra una realización alternativa de la presente invención en la forma de un sistema de reflectancia difusa para análisis de semillas individuales. Las semillas se colocan en un dispositivo de muestreo 122 a través del cual se puede mantener su colocación e identidad. Las imágenes espectrales se obtienen moviendo el dispositivo de muestreo 122 a una velocidad fija de una forma análoga a la del sistema para las muestras a granel. La Figura 10 muestra una imagen de una bandeja de veinticuatro granos de maíz obtenida tal como se ha descrito anteriormente. La imagen se generó al seleccionar 3 imágenes espectrales en escala de grises en 3 planos de longitud de onda única y haciendo escala cada uno de los componentes de color Rojo o Verde o Azul. También se muestran dos espectros superpuestos, uno que corresponde a un punto espacial en una semilla individual en la región del endospermo mientras que el otro espectro corresponde a un punto espacial en la región del germen de una semilla separada. La capacidad para diferenciar entre diferentes tejidos de la semilla de muestra (por ejemplo, endospermo y germen) permite la medida de la muestra característica elegida en esos tejidos diferentes.

El análisis de la semilla individual que se ha descrito anteriormente se puede coordinar con un dispositivo de clasificación 86 que clasifica cada semilla individualmente. En la presente realización, el dispositivo de muestreo 116 tiene particiones para separar las semillas individuales en las celdas. La parte inferior del dispositivo de muestreo 116 comprende puertas que se pueden abrir diferencialmente para liberar cualquiera o todas las semillas. dependiendo de los criterios de selección programados. Como alternativa, el dispositivo de clasificación 86 puede comprender paletas móviles controlables diferencialmente para cada celda en el dispositivo de muestreo 116, permitiendo de este modo la descarga simultánea de las semillas en el dispositivo de clasificación.

Mientras que las realizaciones ilustradas de la presente invención incluyen formaciones de imágenes espectrales en la región espectral del infrarrojo cercano, se podrían usar otras regiones espectrales, tales como las regiones visible, ultravioleta, o infrarrojo medio. Además, si la fuente de luz 12 se reemplaza con un láser coherente, la formación de imágenes por fluorescencia la que se podría realizar con la presente invención. La presente realización incluye un sistema de muestreo que usa un dispositivo de muestreo 16 que se mueve a través del campo de visión del dispositivo para medir la luz 18. Otra realización de la presente invención usa un dispositivo de muestreo fijo 16 a través del cual la muestra de grano fluye más allá de la ventana de cuarzo. La velocidad a la que el grano fluve dentro de la celda se controla mediante un ajuste de la puerta entre la celda de pesaje y el dispositivo de muestreo. El análisis de la muestra que pasa se realiza capturando imágenes con el dispositivo para medir la luz 18 a un ritmo que permite una imagen completa o parcial del grano que pasa.

Los siguientes ejemplos sólo son ilustrativos. No se pretende que la presente invención se limite a las realizaciones ilustrativas.

#### 55 Ejemplo 1

15

25

35

40

45

50

60

Un modelo de calibración de maíz a granel se desarrolla de acuerdo con lo que sigue a continuación. Un grupo de noventa y seis muestras de maíz a granel se selecciona en base a su gama de constituyentes químicos. Las muestras tienen su origen en cinco muestras diferentes de aceite y una fuente de proteína. El conjunto de muestras incluve líneas de base. líneas F1. líneas de la misma estirpe, y líneas haploides dobles. Los pesos de las muestras variaron de 13 gramos a 100 gramos. Los intervalos de aceite variaron de un 4-13 % (base de materia seca, DMB), proteína de un 9-24 % (DMB), almidón de un 60-75 % (DMB), y humedad de un 9-14 %.

El Analizador de Granos Tecator Infratec 1221 (Fos Tecator, P.O. Box 70, S-26321 Hoeganaes, Suecia) se usa para obtener datos de análisis de referencia. Con un modelo de calibración comercial para maíz suministrado por el fabricante. El Analizador de Granos Tecator 1221 es un instrumento de transmitancia difusa en el infrarrojo cercano. Se ha construido en un ordenador y usa una regresión de Mínimos Cuadrados Parciales en base al software Infrasoft Win-ISI para el desarrollo de las ecuaciones de calibración. El instrumento explora entre 850-1050 nanómetros. Una celda de muestra se usa con insertos metálicos, reduciendo de este modo el área activa de muestreo de 42.8 cm<sup>2</sup> a 15,2 cm<sup>2</sup>. La celda de muestra tiene una longitud de recorrido de 2,60 cm. El tiempo de adquisición de datos es de 60 segundos por muestra sin incluir el tiempo para insertar y retirar la cubeta de la muestra desde el compartimento de la muestra.

Las muestras se procesan en el dispositivo de la presente invención usando los procedimientos de la presente invención tal como se ha descrito anteriormente. Se produce un espectro promediado para 96 muestras a granel mediante la identificación de todos los píxeles espaciales en datos hiperespectrales al cubo asociados con cada muestra y haciendo un promedio de los espectros correspondientes. Una representación de la reflectancia frente a la longitud de onda para todos los 96 espectros promediados superpuestos se muestra en la Figura 11. Los espectros promediados representativos para cuatro de las 96 muestras de maíz a granel con composición química variable se muestran en la Figura 12.

Antes de realizar el modelo, cada espectro de reflectancia se transforma usando el algoritmo de la derivada segunda de Savitsky-Golay con una ventana de diferencia finita de nueve puntos y coeficientes polinomiales de segundo orden. Una vez que los espectros se descomponen en sus componentes principales y se ponderan mediante las variables dependientes de proteína, aceite, almidón, y humedad, se realizó un procedimiento de regresión en un modelo de mínimos cuadrados parciales en las puntuaciones de cada espectro.

El modelo se realiza en los espectros procesados de reflectancia de media centrada. Un modelo único de tipo 2 de mínimos cuadrados parciales (PLS) se usa para todos los componentes químicos de interés: proteína, aceite, almidón, y humedad. El modelo quimiométrico se realiza usando el software Unscrambler, (Camo ASA, Oslo, 25 Noruega). Los procedimientos de modelado de PLS se realizan tal como se describen en Haaland y Thomas, Anal. Chem., 60, 1.193-1.202, (1988) y Geladi y Kowalski, Anal. Chem. Acta, 185, 1-17, (1986), ambos de los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. El rendimiento del modelo se define en términos del coeficiente de determinación multivariante (r2), el error estándar de precisión (SEP) entre los valores medidos y modelados, y la polarización entre el valor medio de los componentes medidos y de los componentes modelados. Un cálculo completo de validación cruzada se realiza para evaluar el rendimiento del modelo producido. La Figura 13 muestra la representación de la varianza total de validación explicada con el modelo de tipo 2 de Mínimos Cuadrados Parciales para el total de aceite, proteína, almidón y humedad para maíz a granel frente al número de componentes principales. Tal como se puede observar a partir de la representación de la Figura 13, el modelo 35 captura un 74 % de la varianza de validación.

Los resultados del procedimiento de modelado se muestran en las Figuras 14-17 for aceite, proteína, almidón, y humedad respectivamente. Las Figuras 14-17 son representaciones de los porcentajes predichos de cada rasgo frente al porcentaje del rasgo tal como se determina mediante la técnica de referencia. Un resumen del rendimiento del modelo de PLS usado se muestra en la Figura 18.

#### 40

10

15

20

30

45

50

55

Un grupo de 288 muestras individuales de granos de maíz se seleccionan en base a su gama de constituyentes químicos. El conjunto de muestras incluye líneas F1, líneas de la misma estirpe, y líneas haploides dobles. El peso de las muestras varía de 100 miligramos a 584 miligramos. Los intervalos de aceite variaron de un 0.4 % a un 19.3 % (como una base, no corregida para la humedad) tal como se mide con un espectrómetro de una única semilla por RMN de Maran a 23 megahercios (Resonance Research Inc., Oxford, Inglaterra), y la proteína varió de un 7 % a un 17 % (base de materia seca) tal como se estima a partir de medidas de maíz a granel usando un espectrómetro en el Infrarrojo Cercano Infratec 1221 (Fos Tecator, P.O. Box 70, S-26321 Hoeganaes, Suecia).

Una técnica de RMN de campo bajo se usó para determinar la concentración absoluta de aceite para cada semilla individual. El procedimiento no es destructivo y no daña las semillas de maíz. Un espectrómetro de RNM de Maran Ultra-20 Benchtop (Resonance Research Inc., Oxford, Inglaterra) con una sonda de 18 milímetros se usa para medir el aceite de cada una de las semillas, y los datos resultantes se usan para construir el modelo de calibración quimiométrico. Los datos de de aceites derivados del espectrómetro no se corrigen para la humedad. El procedimiento tiene un intervalo analítico típico de 0-0,22 gramos de semilla (un 0 - 25 % para una semilla de 0,22 gramos), con un intervalo de error estándar absoluto típico de un 0,39 - 0,44 %. El tiempo de adquisición de la muestra es de aproximadamente 20 segundos por semilla. La técnica necesita un peso exacto de cada semilla para calcular el porcentaje de concentración de aceite.

Un modelo de tipo 1 de mínimos cuadrados parciales (PLS) se desarrolla para el componente guímico del aceite. El modelado quimiométrico se realiza usando un paquete de software comercial denominado Unscrambler, (Camo

ASA, Oslo, Noruega). Las matemáticas del procedimiento de modelado de PLS son como se ha descrito para el Ejemplo 1. Se produce un espectro promediado para cada muestra individual de semilla mediante la identificación de todos los píxeles espaciales en los datos cúbicos hiperespectrales asociados con cada semilla y promediando los espectros correspondientes. Una representación de todos los 288 espectros promediados superpuestos se muestra en la Figura 19, que es una representación de la reflectancia frente a la longitud de onda. Los espectros promediados representativos para seis muestras de granos individuales de maíz concentraciones variables de aceite se muestran en la Figura 20.

Antes de realizar el cálculo del modelo de PLS, cada espectro de reflectancia se transforma usando una corrección de dispersión multiplicativa (MSC), (véase, Martens y Naes, Near Infrared Technology in Agricultural and Food Industries, eds., Williams y Norris, Am. Assoc. Cereal Chem.) y usando el algoritmo de la derivada segunda de Savitsky-Golay con una ventana de diferencia finita de 15 puntos y coeficientes polinomiales de segundo orden. El modelado se realiza en los espectros de reflectancia de media centrada tal como en el Ejemplo 1. El procedimiento de regresión en un modelo de PLS se realiza en las puntuaciones de cada espectro, una vez que los espectros se descomponen en sus componentes principales y se ponderan mediante la variable dependiente de aceite. El modelo de rendimiento se define en términos del coeficiente multivariable de determinación (r2), el error estándar de 15 predicción (SEP) entre los valores medidos y modelados, y la polarización entre el valor promedio para los componentes medidos y los componentes modelados. Un cálculo completo de validación cruzada se realiza para evaluar el rendimiento del modelo producido. La Figura 21 muestra la representación de la varianza de validación total explicada para el modelo de tipo 1 de PLS para el aceite total de un solo grano de maíz frente al número de componentes principales. Como se puede observar a partir de la representación en la Figura 21, el modelo captura 20 un 87 % de la varianza de validación total.

Los resultados del procedimiento de modelado para el aceite se muestran en la Figura 22. Para este modelo de PLS desarrollado para el aceite total con 265 muestras de calibración, el coeficiente multivariable de determinación, r2, fue 0,93, con un error estándar de predicción, SEP, de 1,23, y una polarización entre el valor promedio para los valores medidos los valores modelados predichos fue 0,000163.

25

#### **REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para determinar si una muestra agrícola presenta un rasgo, que comprende las etapas de:

dirigir luz sobre una muestra agrícola formando de ese modo luz emitida a partir de la muestra agrícola: dispersar dicha luz emitida para formar dispersada:

5

recibir dicha luz dispersada en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos, incluyendo la matriz una dimensión espacial que define múltiples puntos de muestra en la muestra agrícola y una dimensión espectral que define datos espectrales para la luz dispersada a partir de cada uno de los múltiples puntos de muestra:

10

- emitir una señal de datos espectrales para cada uno de dichos múltiples puntos de datos con dicho dispositivo para medir la luz; y determinar si dicha muestra agrícola presenta dicho rasgo en puntos individuales de los múltiples puntos de muestra en base a dichas señales de datos espectrales.
- 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho rasgo es uno de un rasgo cuantitativo, un rasgo bioquímico y un rasgo morfológico.
  - 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicho rasgo bioquímico está seleccionado entre el grupo que consiste en contenido de aceite, contenido de proteína, contenido de hidratos de carbono, contenido de almidón, contenido de fibra y contenido de agua.
- 4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3 en el que dicho el rasgo bioquímico de almidón comprende adicionalmente un fenotipo de almidón seleccionado entre el grupo que consiste en amilopectina y amilosa.
  - 5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicho rasgo bioquímico está seleccionado entre el grupo que consiste en composición de aceite, composición de proteína, composición de hidratos de carbono, y composición de fibra.
- 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicha muestra agrícola es una semilla o parte de una semilla y dicho rasgo morfológico está seleccionado entre tamaño del endospermo, tamaño del germen, forma de la semilla, tamaño de la semilla, color de la semilla, textura de la superficie de la semilla, peso de la semilla, densidad de la semilla, e integridad de la semilla.
  - 7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha integridad de la semilla está correlacionada con resistencia o susceptibilidad a una de enfermedad, plaga de insectos y plaga de hongos.
- 30 8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la luz dirigida y la luz dispersada tienen longitudes de onda en el intervalo de 900 a 1.700 nanómetros.
  - 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicha luz dispersada proporciona una dispersión espectral de al menos 150 nm/mm y al menos una resolución espectral de 20 nm.
- 10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la luz emitida está seleccionada entre el grupo que consiste en luz reflejada a partir de la muestra agrícola en cada uno de los puntos de la muestra y luz transmitida a través de la muestra agrícola en cada uno de los puntos de la muestra.
  - 11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa de determinación incluye la etapa de determinar si está presente más de un rasgo.
- 12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la muestra agrícola es una semilla, y en el que
   dicha etapa de determinación comprende la etapa de determinar una distribución espacial relativa del rasgo dentro de la muestra agrícola.
  - 13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la muestra agrícola está seleccionada entre el grupo que consiste en una sola semilla, un lote de semillas y un tejido vegetal.
- 14. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la etapa de determinación comprende
   45 adicionalmente la etapa de determinar una cantidad cuantitativa del rasgo presentado en cada uno de los puntos de la muestra.
  - 15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el rasgo comprende características de mutación del endospermo seleccionadas entre el grupo que consiste en zeínas reducidas en el endospermo y cantidades de aminoácidos.
- 50 16. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el rasgo comprende un indicador de ruptura del grano seleccionado entre el grupo que consiste en la relación de endospermo vítreo a no vítreo, densidad del grano, peso medio del grano, cantidad de pericarpio, calidad del pericarpio, tamaño del grano y forma del grano.

17. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 que incluye adicionalmente la etapa de:

medir el peso de la muestra agrícola; y

en el que la etapa de determinación incluye adicionalmente la etapa de determinar una cantidad cuantitativa del rasgo presentado por peso medido de la muestra agrícola.

- 5 18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que incluye adicionalmente la etapa de clasificar la muestra agrícola entre una pluralidad de destinos en base a la presencia determinada del rasgo determinado presentado.
  - 19. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 que incluye adicionalmente la etapa de seleccionar individuos preferentes de la muestra agrícola en base a la presencia determinada del rasgo determinado presentado.
  - 20. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1,
- en el que la etapa de dirigir luz comprende la etapa de (A) dirigir una línea de luz sobre una porción de una muestra agrícola para producir luz emitida;
  - en el que la etapa de recepción comprende la etapa de (B)
  - recibir, junto con la línea de luz, luz dispersada a partir de cada uno de los puntos de la muestra de la muestra agrícola en un dispositivo para medir la luz que comprende una matriz de múltiples puntos de datos;
- 15 en el que la etapa de emitir comprende la etapa de (C)

20

25

30

35

40

45

emitir una señal de datos espectrales para cada uno de dichos múltiples puntos de datos; que incluye adicionalmente las etapas de:

repetir las etapas (A)-(C) para explorar cada porción de la muestra agrícola; y producir, a partir de la luz recibida a partir de cada una de las porciones exploradas, unos datos cúbicos hiperespectrales para la muestra agrícola.

- 21. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 20 en el que la etapa de determinación incluye la etapa de comparar las señales de datos espectrales frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta un determinado rasgo en cada uno de los puntos de la muestra, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con la presencia del rasgo determinado presentado en el punto de la muestra correspondiente para la muestra agrícola.
- 22. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 20 en el que la etapa de determinación incluye la etapa de comparar las señales de datos espectrales en puntos de la muestra en una porción determinada de la muestra agrícola frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta un determinado rasgo en cada uno de los puntos de la muestra en esa porción determinada de la muestra agrícola, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con la presencia del rasgo determinado presentado en los puntos de la muestra correspondientes de la porción determinada de la muestra agrícola.
- 23. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 20 en el que la etapa de determinación incluye la etapa de comparar las señales de datos espectrales en puntos de la muestra en una porción determinada de la muestra agrícola frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta un determinado rasgo en la porción determinada de la muestra agrícola, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales para los puntos de la muestra en la porción determinada de la muestra agrícola con la presencia del rasgo determinado presentado en la porción determinada de la muestra agrícola.
- 24. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 23 que incluye adicionalmente la etapa de promediar las señales de datos espectrales asociadas con los puntos de la muestra en una porción determinada de la muestra agrícola para formar una señal de datos espectrales promedio para determinada porción para el procesamiento frente al modelo.
  - 25. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la muestra agrícola es una semilla y la etapa de determinación comprende la etapa de comparar las señales de datos espectrales para cada uno de los puntos de la muestra en el endospermo de la semilla frente a un modelo para determinar si la semilla es un haploide, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con un fenotipo producido por un rasgo haploide.
  - 26. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 25 que comprende adicionalmente diferenciar la ubicación del endospermo dentro de la semilla.
- 27. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 26 en el que la etapa de determinación comprende adicionalmente la etapa de procesar las señales de datos espectrales para esos puntos de la muestra dentro del endospermo de la semilla para detectar la coloración con antocianina indicativa de que la semilla es un haploide.
  - 28. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 25 que comprende adicionalmente diferenciar la ubicación del embrión dentro de la semilla.
  - 29. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 28 en el que la etapa de determinación comprende

adicionalmente la etapa de procesar las señales de datos espectrales para esos puntos de la muestra dentro del embrión de la semilla para detectar una falta de coloración indicativa de que la semilla es un haploide.

- 30. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa de determinación comprende adicionalmente la etapa de comparar las señales de datos espectrales frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta el rasgo en cada uno de los puntos de la muestra, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con la presencia del rasgo presentado en el punto correspondiente de la muestra para la muestra agrícola.
- 31. Un aparato para determinar si una muestra agrícola presenta un rasgo, comprendiendo el aparato:
- una fuente de luz operativa para dirigir luz, sobre una muestra agrícola, formando de este modo luz emitida a partir de la muestra agrícola; un espectrógrafo operativo para dispersar dicha luz emitida para formar luz dispersada; un dispositivo para medir la luz operativo para recibir dicha luz dispersada, comprendiendo el dispositivo una matriz de múltiples puntos de datos, incluyendo la matriz una dimensión espacial que define múltiples puntos de la muestra agrícola y una dimensión espectral que define datos espectrales para la luz dispersada a partir de cada uno de los múltiples puntos de la muestra, siendo el dispositivo operativo para producir una señal de datos espectrales para cada uno de dichos múltiples puntos de datos; y un procesador operativo para determinar si dicha muestra agrícola presenta dicho rasgo en puntos individuales de múltiples puntos de la muestra en base a dichas señales de datos espectrales.
- 32. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que dicho espectrógrafo está seleccionado entre el grupo que consiste en un espectrógrafo de prisma-rejilla-prisma o un espectrógrafo de rejilla reflectora.
  - 33. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que dicha fuente de luz está seleccionada entre el grupo que consiste en halógena, halógena de tungsteno, halógena de filamento largo, xenón, xenón pulsado, fluorescente, neón, y mercurio.
- 34. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que el dispositivo para medir la luz está seleccionado entre el grupo que consiste en una cámara de Antimoniuro de Indio, una cámara de Telururo de Mercurio y Cadmio, una cámara de Siliciuro de Platino, una cámara de Silicio dopado con Arsénico, una cámara de Arseniuro de Indio y Galio. y una cámara de CCD.
  - 35. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que dicho rasgo es uno de entre un rasgo cuantitativo, un rasgo bioquímico y un rasgo morfológico.
- 30 36. El aparato de acuerdo con la reivindicación 35, en el que dicho rasgo bioquímico está seleccionado entre el grupo que consiste en contenido de aceite, contenido de proteína, contenido de hidratos de carbono, contenido de almidón, contenido de fibra y contenido de agua.
  - 37. El aparato de acuerdo con la reivindicación 36 en el que el rasgo bioquímico de almidón comprende adicionalmente un fenotipo de almidón seleccionado entre el grupo que consiste en amilopectina y amilosa.
- 35. El aparato de acuerdo con la reivindicación 35, en el que dicho rasgo bioquímico está seleccionado entre el grupo que consiste en composición de aceite, composición de proteína, composición de hidratos de carbono, y composición de fibra.
- 39. El aparato de acuerdo con la reivindicación 35, en el que dicha muestra agrícola es una semilla o parte de una semilla y dicho rasgo morfológico está seleccionado entre tamaño del endospermo, tamaño del germen, forma de la semilla, tamaño de la semilla, color de la semilla, textura de la superficie de la semilla, peso de la semilla, densidad de la semilla, e integridad de la semilla.
  - 40. El aparato de acuerdo con la reivindicación 39, en el que dicha integridad de la semilla está correlacionada con la resistencia o susceptibilidad a una de entre enfermedad, plaga de insectos y plaga de hongos.
- 41. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que la luz dirigida y la luz dispersada tienen longitudes de onda en el intervalo de 900 a 1.700 nanómetros.
  - 42. El aparato de acuerdo con la reivindicación 41, en el que dicha luz dispersada proporciona una dispersión espectral de al menos a 150 nm/mm y al menos una resolución espectral de 20 nm.
  - 43. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que la luz emitida está seleccionada entre el grupo que consiste en luz reflejada a partir de la muestra agrícola en cada uno de los puntos de la muestra y luz transmitida a través de la muestra agrícola en cada uno de los puntos de la muestra.

50

44. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que el procesador es operativo adicionalmente para determinar si está presente más de un rasgo.

- 45. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que la muestra agrícola es una semilla, y en el que procesador es operativo adicionalmente para determinar una distribución espacial relativa del rasgo dentro de la muestra agrícola.
- 46. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que la muestra agrícola está seleccionada entre el grupo que consiste en una sola semilla, un lote de semillas y un tejido vegetal.
  - 47. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31 en el que procesador es operativo adicionalmente para determinar una cantidad cuantitativa del rasgo presentado en cada uno de los puntos de la muestra.
- 48. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31 en el que el rasgo comprende características de mutación del endospermo seleccionadas entre el grupo que consiste en zeínas reducidas en el endospermo y cantidades de aminoácidos.
- 49. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31 en el que el rasgo comprende un indicador de ruptura del grano seleccionado entre el grupo que consiste en la relación de endospermo vítreo a no vítreo, densidad del grano, peso medio del grano, cantidad de pericarpio, calidad del pericarpio, tamaño del grano y forma del grano.
- 50. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31 que incluye adicionalmente:
- medios para medir el peso de la muestra agrícola; y en el que procesador es operativo adicionalmente para determinar una cantidad cuantitativa del rasgo presentado por peso medido de la muestra agrícola.
  - 51. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31 que incluye adicionalmente un dispositivo de clasificación que selecciona individuos preferentes de la muestra agrícola para entregar en determinados destinos en base a la presencia determinada del rasgo determinado presentado.
  - 52. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que la fuente de luz dirige una línea de luz sobre una porción de una muestra agrícola para producir luz emitida; en el que el espectrógrafo dispersa la luz emitida
  - para formar luz dispersada para cada uno de los puntos de la muestra en la porción de la muestra agrícola junto con la línea de luz;
  - en el que el dispositivo para medir la luz recibe dicha luz dispersada a partir de cada punto de la muestra junto con la línea de luz;
  - que incluye adicionalmente:

5

10

20

25

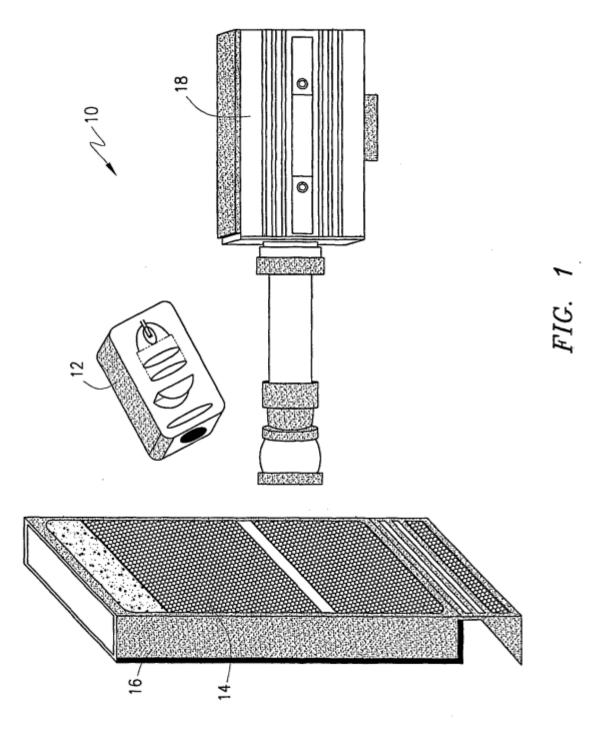
30

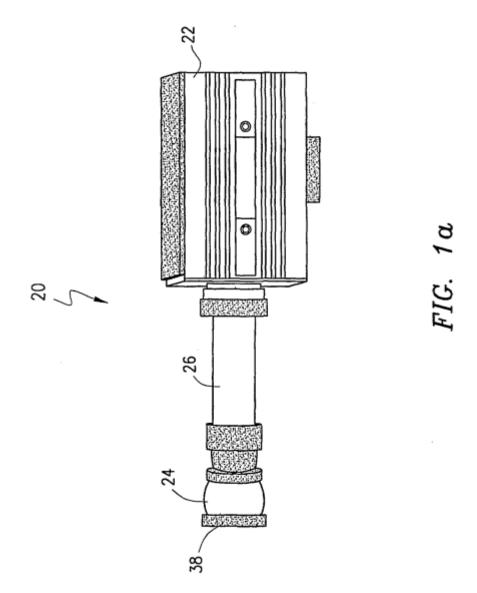
- medios para mover la muestra agrícola con respecto a la línea de luz para explorar cada porción de la muestra agrícola.
- 53. El aparato de acuerdo con la reivindicación 52 en el que el procesador es adicionalmente operativo para producir, a partir de la luz recibida de cada punto de la muestra para cada una de las porciones exploradas, un dato cúbico hiperespectral para la muestra agrícola.
- 54. El aparato de acuerdo con la reivindicación 53 en el que el procesador es adicionalmente operativo para comparar las señales de datos espectrales frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta un determinado rasgo en cada uno de los puntos de la muestra, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con la presencia del rasgo determinado presentado en el punto correspondiente de la muestra para la muestra agrícola.
- 55. El aparato de acuerdo con la reivindicación 53 en el que el procesador es adicionalmente operativo para comparar las señales de datos espectrales en puntos de la muestra en una porción determinada de la muestra agrícola frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta un determinado rasgo en cada uno de los puntos de la muestra en esa porción determinada de la muestra agrícola, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con la presencia del rasgo determinado presentado en los puntos correspondientes de la muestra de la porción determinada de la muestra agrícola.
- 56. El aparato de acuerdo con la reivindicación 53 en el que el procesador es adicionalmente operativo para comparar las señales de datos espectrales en puntos de la muestra en una porción determinada de la muestra agrícola frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta un determinado rasgo en la porción determinada de la muestra agrícola, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales para los puntos de la muestra en la porción determinada de la muestra agrícola con la presencia del rasgo determinado presentado en la porción determinada de la muestra agrícola.
  - 57. El aparato de acuerdo con la reivindicación 56 en el que el procesador además es adicionalmente operativo para promediar las señales de datos espectrales asociadas con los puntos de la muestra en una porción determinada de la muestra agrícola para formar una señal de datos espectrales promedio para la porción determinada para su procesamiento frente al modelo.

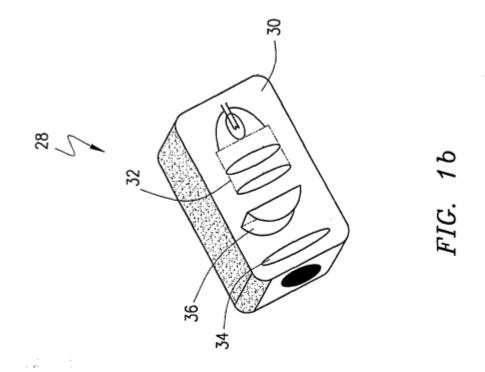
- 58. El aparato de acuerdo con la reivindicación 52 que incluye adicionalmente: un soporte de muestras para soportar la muestra agrícola; y en el que los medios para el movimiento comprenden una plataforma de traslación lineal que sostiene el soporte de muestras y es operativo para mover el soporte de muestras con respecto al espectrógrafo para conseguir una exploración de luz a partir de la fuente de luz que atraviesa, y la producción de luces con longitud de onda mixta emitidas a una pluralidad de puntos discretos espaciales de la muestra sobre, la muestra agrícola sostenida en el mismo.
- 59. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31 que comprende adicionalmente un dispositivo de procesamiento seleccionado entre el grupo que consiste en una desgranadora, trilladora y trilladora cosechadora para proporcionar la muestra agrícola.
- 60. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que la muestra agrícola es una semilla y el procesador es operativo para comparar las señales de datos espectrales para cada uno de los puntos de la muestra en el endospermo de la semilla frente a un modelo para determinar si la semilla es una haploide, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con un fenotipo producido por un rasgo haploide.
- 61. El aparato de acuerdo con la reivindicación 60 en el que el procesador es adicionalmente operativo para diferenciar la ubicación del endospermo dentro de la semilla y procesar las señales de datos espectrales para esos puntos de la muestra dentro del endospermo de la semilla para detectar coloración con antocianina indicativa de que la semilla es un haploide.
- 62. El aparato de acuerdo con la reivindicación 60 en el que el procesador es adicionalmente operativo para diferenciar ubicación del embrión dentro de la semilla y procesar las señales de datos espectrales para esos puntos de la muestra dentro del embrión de la semilla para detectar una falta de coloración indicativa de que la semilla es un haploide.
  - 63. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que el procesador es adicionalmente operativo para comparar las señales de datos espectrales frente a un modelo para determinar si la muestra agrícola presenta el rasgo en cada uno de los puntos de la muestra, asociando el modelo la existencia de determinadas señales de datos espectrales con la presencia del rasgo presentado en el punto correspondiente de la muestra para la muestra agrícola.
  - 64. El aparato de acuerdo con la reivindicación 31, en el que dicho dispositivo para medir la luz es una cámara que posee un plano focal que tiene más de 75.000 píxeles, unpaso inferior a 20 micrómetros, y una frecuencia de imágenes en exceso de 25 fotogramas por segundo.

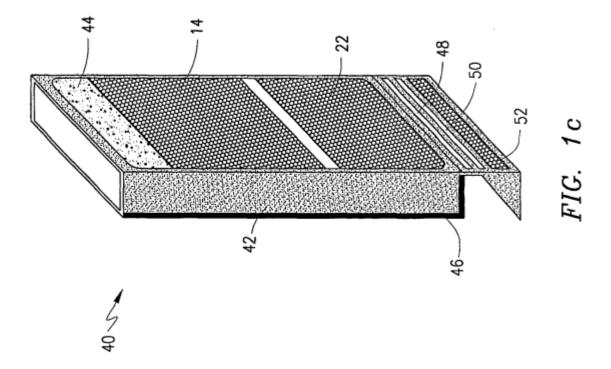
30

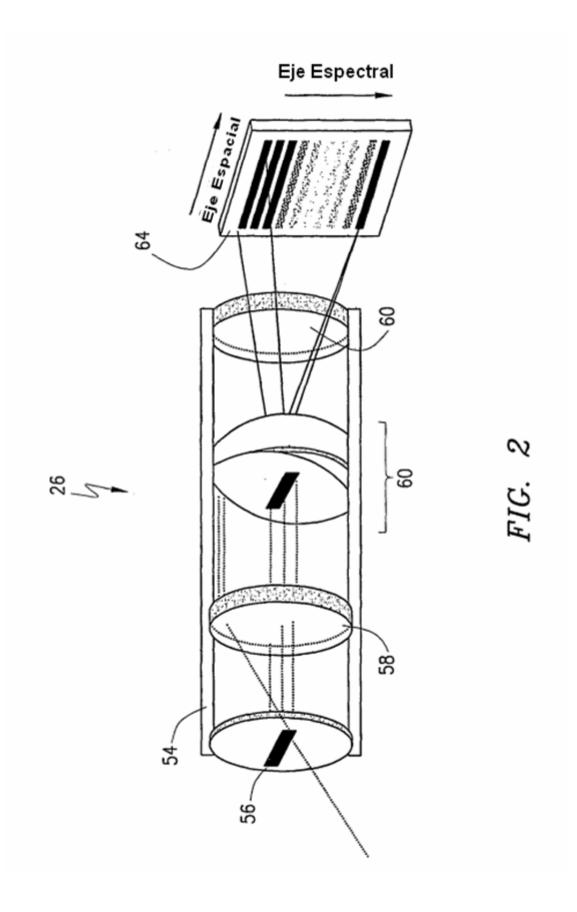
25

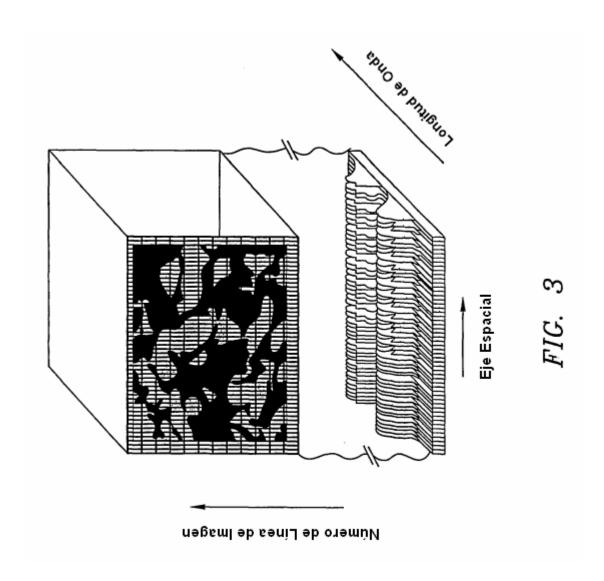




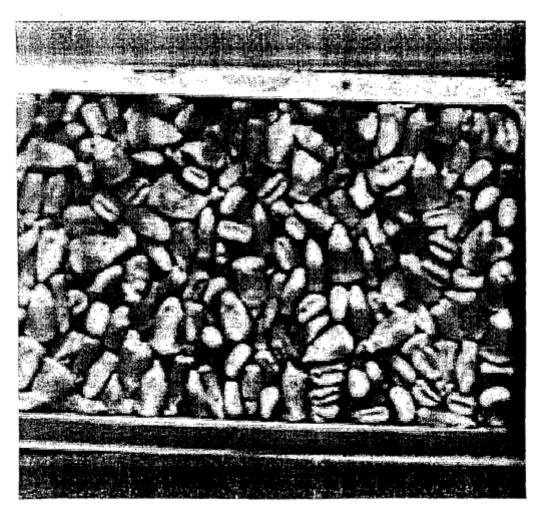


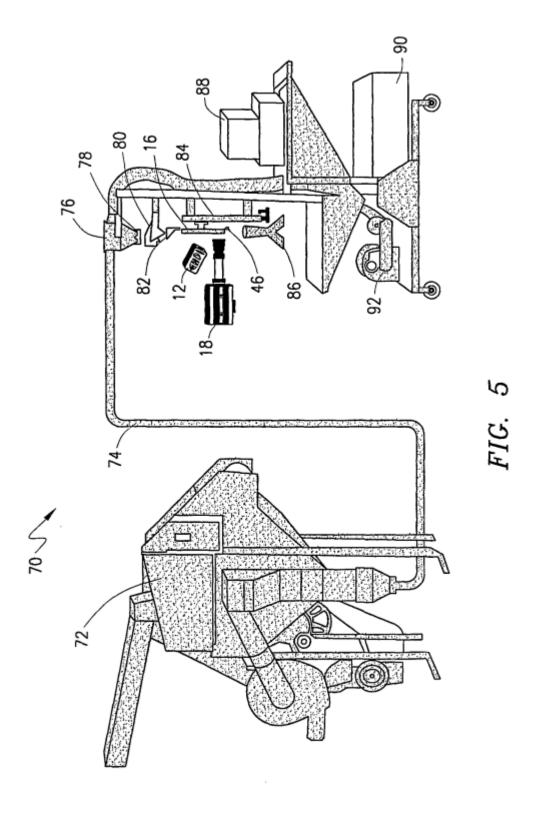












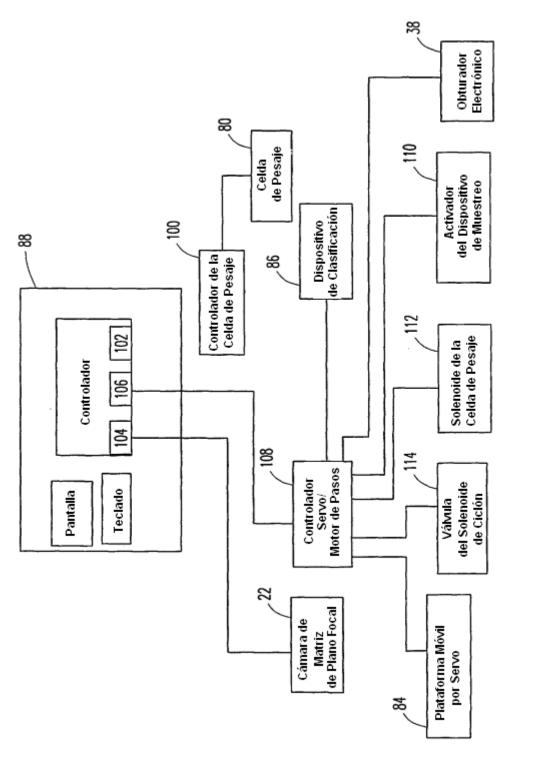
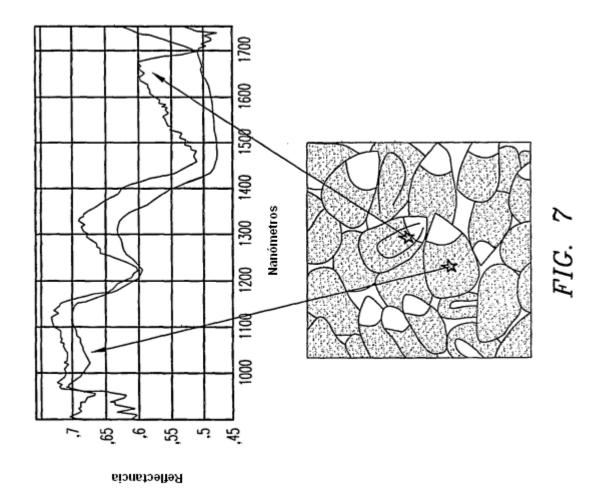
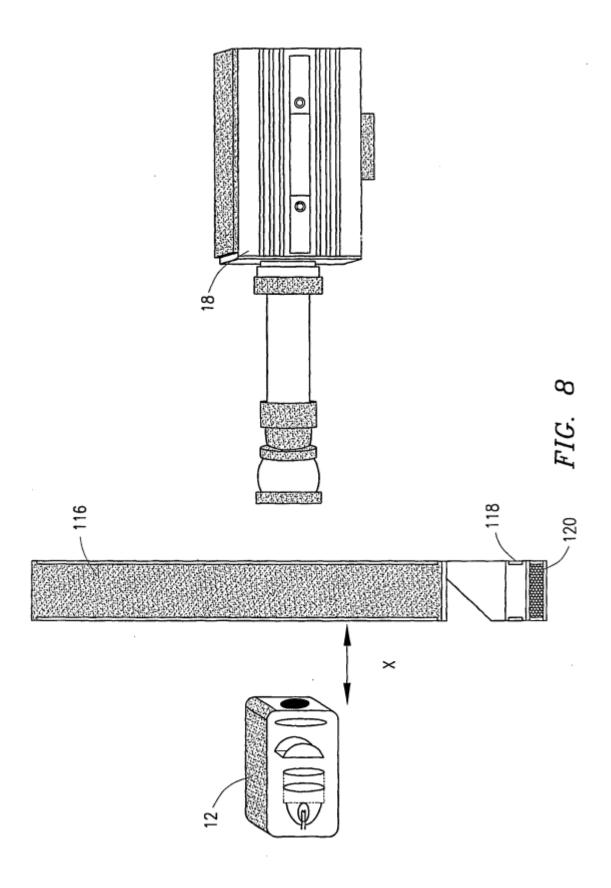
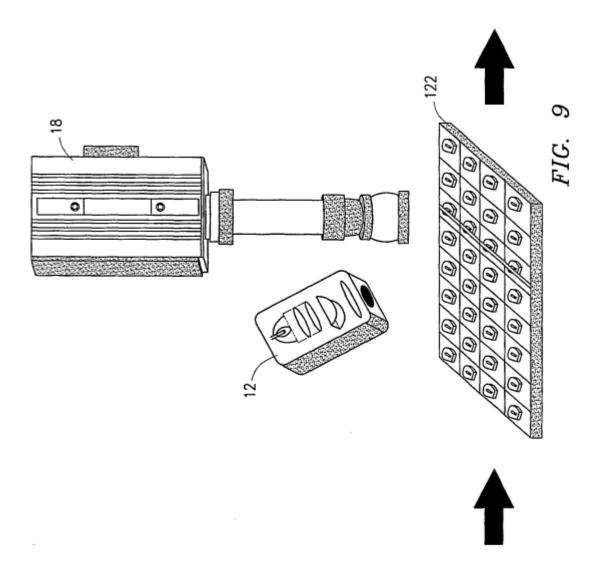


FIG. 6







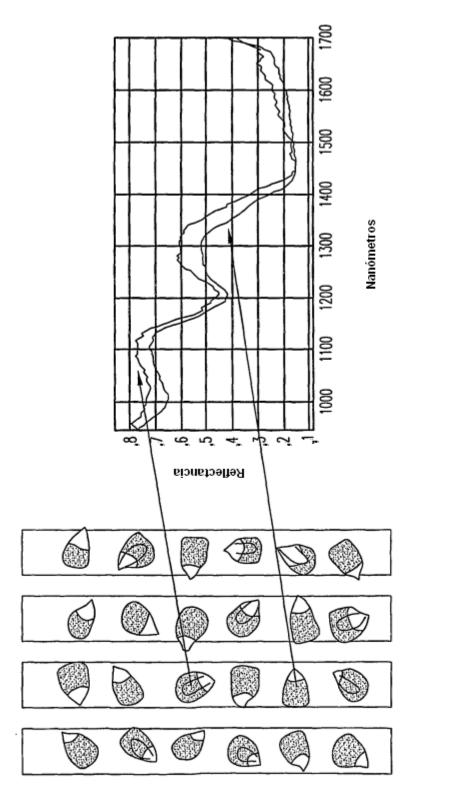
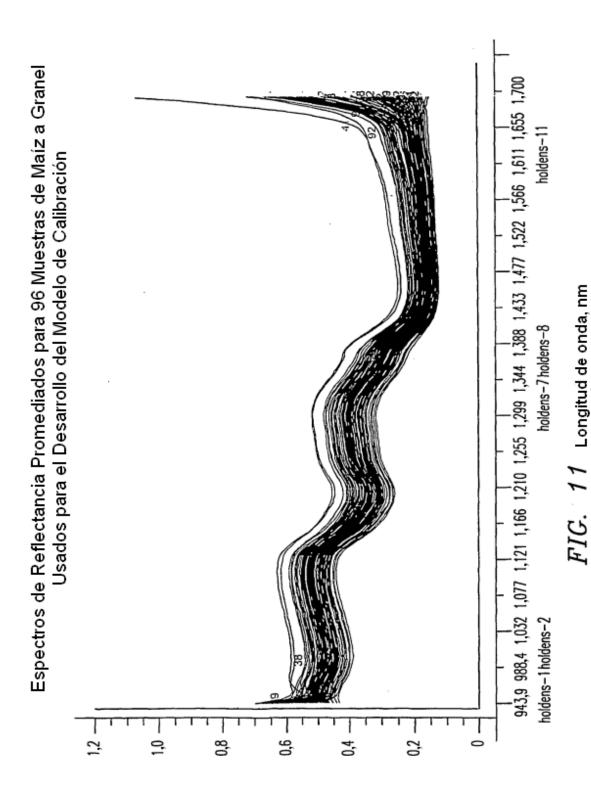
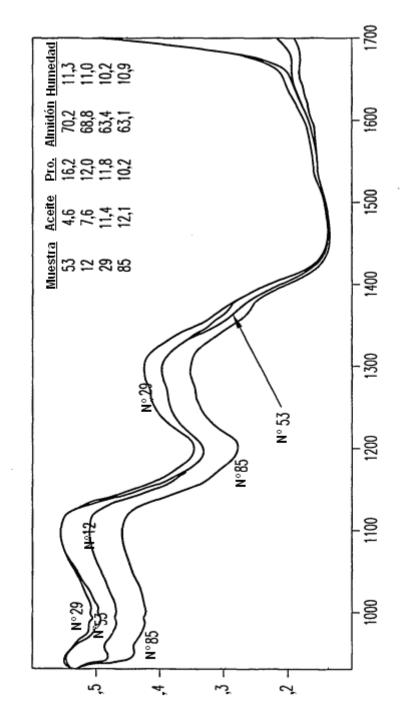


FIG. 10



41

Espectros de Reflectancia Típica para las Muestras de Maíz a Granel Usadas para el Desarrollo del Modelo de Calibración

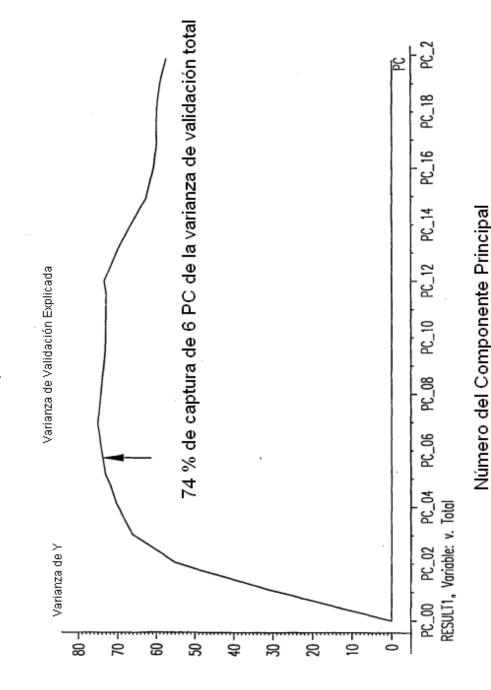


Longitud de onda, nm

EIC 19

Reflectancia, R

Varianza de Validación Total Explicada frente a Nº de PC, Maíz a Granel



Varianza de Validación Total Explicada (%)

96 muestras de maíz a granel medidas con el sistema de formación de imágenes de exploración en Línea y correlacionadas con datos obtenidos a partir de algunas muestras ejecutadas en el Analizador de Grano Infratec 1221

### Y Medida Contenido Total de Aceite, Maíz a Granel RESULT1, (Y-var, PC)(I-tec\_A Oil,6) 0,478145 0,480658 0,006919 0,961775 Compensación: **0,48880**7 Y Predicha Polarización. Correlación Pendiente 🖫 Elementos; 12√RMSEP; SEP -0 8 6

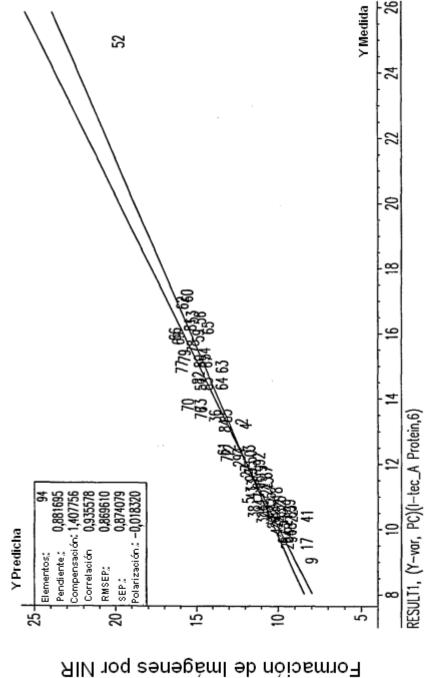
Aceite Total Predicho (%), Formación de Imágenes por NIR

### Referencia, Aceite Total (%)

96 muestras de maíz a granel medidas con el sistema de formación de imágenes de exploración en Línea y correlacionadas con datos obtenidos a partir de algunas muestras ejecutadas en el Analizador de Grano Infratec 1221

### 44

Contenido Total de Proteína, Maíz a Granel

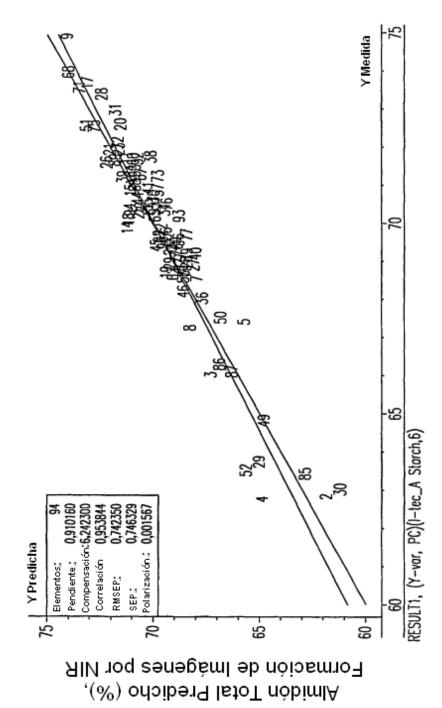


Referencia, Proteína Total (%)

de exploración en Línea y correlacionadas con datos obtenidos a partir de algunas muestras 96 muestras de maíz a granel medidas con el sistema de formación de imágenes ejecutadas en el Analizador de Grano Infratec 1221

Proteina Total Predicha (%),

# Contenido Total de Almidón, Maíz a Granel

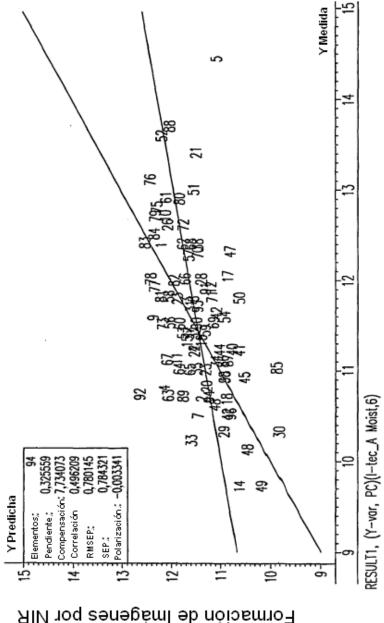


## Referencia, Almidón Total (%)

96 muestras de maíz a granel medidas con el sistema de formación de imágenes de exploración en Línea y correlacionadas con datos obtenidos a partir de algunas muestras ejecutadas en el Analizador de Grano Infratec 1221

FIG. 16

Contenido Total de Humedad, Maíz a Granel



Humedad Total Predicha (%), Formación de Imágenes por NIR

96 muestras de maíz a granel medidas con el sistema de formación de imágenes de exploración en Línea y correlacionadas con datos obtenidos a partir de algunas muestras ejecutadas en el Analizador de Grano Infratec 1221

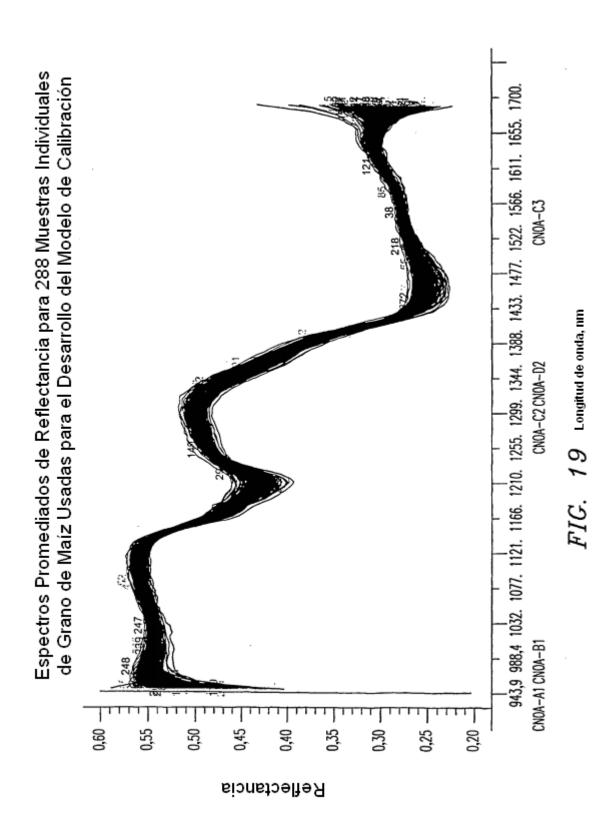
Referencia, Humedad Total (%)

Resumen del Rendimiento del Modelo de Tipo 2 por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS), Validación Cruzada Total

| <u>Somponente</u> Aceite Proteína Almidón | R <sup>2</sup> 0,962 0,936 0,954 | SEP<br>0,48<br>0,87<br>0,75 | Pendiente<br>0,93<br>0,88<br>0,91 | Polarización<br>0,0069<br>-0,018<br>0,0016 |
|---|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|--|
| nedad                                     | 0,496                            | 0,78                        | 0,32                              | -0,0033                                    |

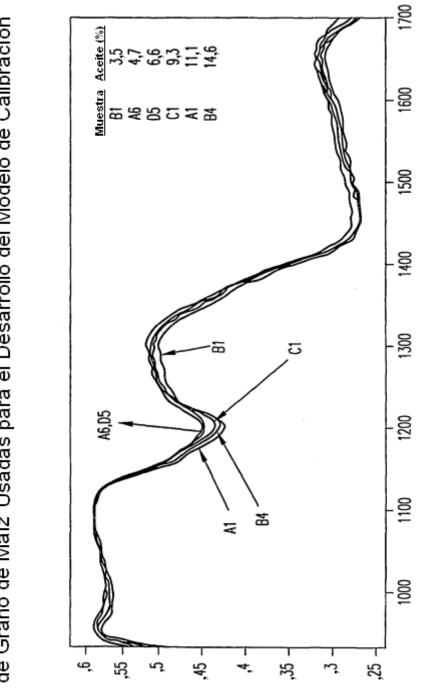
6 Componentes Principales usados en el Modelo

F.I.G. 18



49

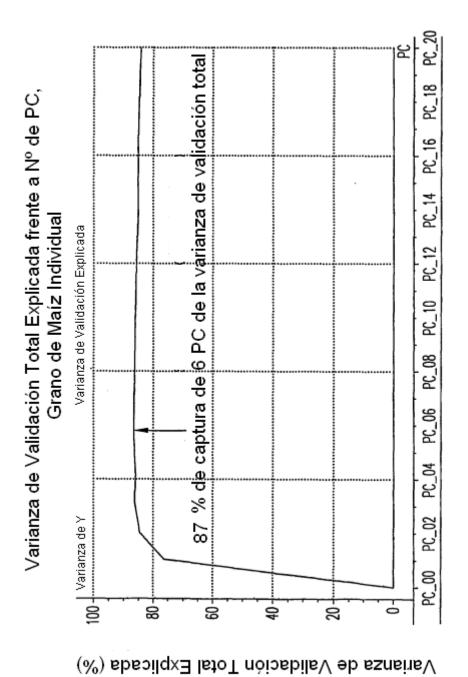
de Grano de Maíz Usadas para el Desarrollo del Modelo de Calibración Espectros de Reflectancia Típica para las Muestras Individuales



Longitud de onda, nm

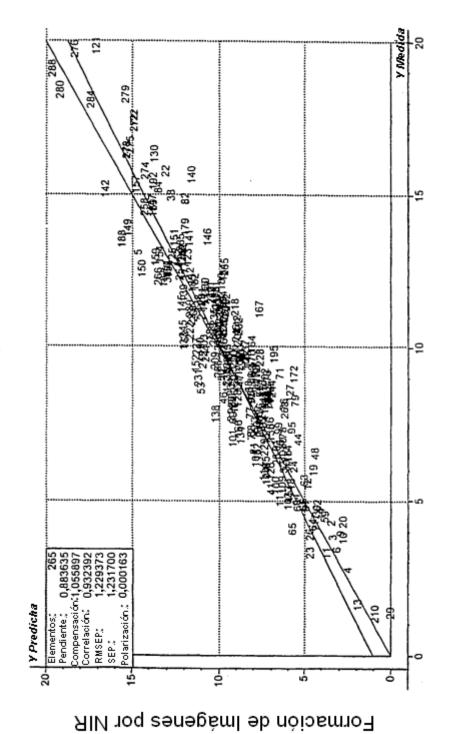
FIG. 20

Reflectancia, R



Número del Componente Principal $FIG.\,\,21$ 

Contenido Total de Aceite, Grano de Maíz Individual



Referencia, Aceite Total (%)

FIG. 22

Aceite Total Predicho (%),