

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 608 326**

51 Int. Cl.:

**A01C 1/02**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.01.2011 PCT/EP2011/050567**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.07.2011 WO11089102**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.01.2011 E 11700656 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.09.2016 EP 2525641**

54 Título: **Procedimiento para evaluar las propiedades de germinación de semillas de plantas**

30 Prioridad:

**21.01.2010 DE 102010001111**

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

**07.04.2017**

73 Titular/es:

**STRUBE GMBH & CO. KG (100.0%)  
Hauptstr. 1  
38387 Söllingen, DE**

72 Inventor/es:

**WOLFF, ANTJE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 608 326 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para evaluar las propiedades de germinación de semillas de plantas

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la evaluación objetiva y automatizada de propiedades de germinación de semillas de plantas y de plántulas que se desarrollan a partir de las semillas de plantas, en el que las semillas de plantas y plántulas se encuentran en un medio denso como sustrato de germinación, en particular papel de filtro o tierra, en base a características anatómicas referidas a un determinado momento.

### Estado de la técnica

Si bien en lo que sigue se hace referencia ante todo a semillas de remolacha azucarera, la invención no se limita a ellas, sino que, en principio, se puede aplicar a todas las plantas relevantes en agricultura o la ciencia.

10 Las semillas deben poseer, con el fin de satisfacer requisitos legales en el examen de las semillas, determinadas características cualitativas mínimas con el fin de garantizar un brote y crecimiento en el campo suficientes. La calidad de la semilla es decisiva para que se puedan configurar las respectivas características de rendimiento y calidad genotípicas.

15 El objetivo de la investigación de las semillas es, entre otros, el asegurar de la mejor manera posible un brote temprano, elevado y unitario, una elevada velocidad del brote, un buen rendimiento de crecimiento y una elevada tolerancia al estrés. Con ello, se ha de alcanzar, entre otros, una homogeneidad lo mayor posible del crecimiento, es decir, de las plantas que se desarrollan y de las plantas listas para ser cosechadas, así como un rendimiento cuantitativo y cualitativamente elevado y unitario.

20 En el cultivo de reproducción, que sirve para la obtención de semillas, se examina y controla la influencia de medidas del cultivo sobre las propiedades de las semillas. Sobre esta base se desarrollan nuevos procedimientos de producción coordinados con el fin de aumentar y estabilizar los rendimientos y la calidad de la materia prima de las semillas.

Una característica cualitativa de las semillas es su capacidad de germinación mínima. La determinación se lleva a cabo, por lo general, según las especificaciones de la International Seed Testing Association (ISTA).

25 En este caso, las semillas son germinadas en papel de filtro humedecido de calidad definida bajo condiciones de humedad y temperatura controladas a lo largo de un determinado espacio de tiempo. Después de este espacio de tiempo tiene lugar un recuento manual de las semillas germinadas.

Es sabido que determinadas propiedades morfológicas, anatómicas y fisiológicas de las semillas tienen una influencia decisiva sobre el comportamiento de germinación y de brote en el campo.

30 Con el fin de obtener informaciones adicionales sobre la calidad de, por ejemplo, semillas de remolacha azucarera, se conoce toda una serie de diferentes procedimientos de ensayo mediante los cuales se puede estimar, por ejemplo, el potencial de brote bajo las condiciones del campo. Una panorámica para ello la proporciona H. P. Draycott (Comp.): "Sugar beet", World Agriculture Series, Blackwell Publishing, 2006.

35 MAISL Michael, KASPERL Stefan, WOLFF Antje: "Process Monitoring using Three Dimensional Computed Tomography and Automatic Image Processing", ECNDT 2006 Proceedings, 27 de septiembre de 2006, presentan un procedimiento para la representación tridimensional tomográfica computarizada de semillas de remolacha azucarera. El examen de la semilla tiene lugar primeramente después de la recepción del material, otra vez después del pulido de la semilla y una tercera vez después del tamizado de la semilla. Semillas en germinación o plántulas no son examinadas. De igual manera, tampoco tiene lugar un examen durante el transcurso de la germinación. Las semillas se disponen individualmente en un disco porta-muestras, en cada caso en escotaduras, apilándose a continuación los discos porta-muestras. Por consiguiente, los discos porta-muestras sirven únicamente para soportar y apilar las semillas individuales. Por consiguiente, no tiene lugar examen alguno de semillas de plantas germinativas ni plántulas en un medio denso como sustrato de germinación.

45 Procedimientos conocidos para la determinación de las propiedades de germinación tienen a menudo el inconveniente de que la evaluación no se basa o apenas se basa en criterios de determinación objetivables. Además de ello, de procedimientos habituales sólo se pueden extraer en pequeña medida informaciones que permitan una evaluación prospectiva de las semillas, es decir, una predicción de su comportamiento germinativo y, en particular, de la fuerza impulsora en el campo. Semillas de elevada capacidad de germinación no poseen necesariamente tampoco una elevada fuerza impulsora. Con ello, la capacidad de germinación por sí sola no permite afirmar, por ejemplo, la tolerancia al estrés de las plantas en desarrollo.

50 Los procedimientos habituales son, además, a menudo laboriosos y requieren un elevado empleo de personal. Dado que se trata de ensayos esencialmente manuales, determinados parámetros dependen de la evaluación individual por parte del personal de ensayo y, con ello, son difícilmente estandarizables. Otra limitación en relación con la

capacidad de estandarización resulta de medios de ensayo no siempre unitariamente disponibles tales como, por ejemplo, tierras (estándares) necesarias para la comparabilidad de los exámenes.

5 Los correspondientes ensayos tienen lugar, además, por norma general bajo determinadas condiciones de laboratorio definidas, en las que en cada caso se examina sólo un parámetro determinado (humedad, cubierta del suelo, etc.). Por lo tanto, es difícil sacar conclusiones sobre el comportamiento en el campo.

Por lo tanto, existe la necesidad de procedimientos de examen automatizados, preferiblemente totalmente automatizados y objetivos para evaluar la capacidad de germinación y la calidad de germinación de las semillas.

### **Divulgación de la invención**

10 Ante estos antecedentes, la presente invención propone un procedimiento con las características de la reivindicación 1. Ejecuciones ventajosas se indican en las reivindicaciones subordinadas y en la siguiente descripción.

### **Ventajas de la invención.**

15 La presente invención permite documentar de forma cualitativa y no destructiva el desarrollo de semillas hasta formarse la planta, tanto en superficie como de forma subterránea, incluyendo hojas y raíces (nabos). Para ello, por ejemplo, las semillas se examinan primeramente en un medio denso, mediante el procedimiento de tomografía computarizada formadora de imágenes y, a continuación, se trasladan para el cultivo ulterior a un recinto de germinación. En una secuencia escalonada en el tiempo se realizan exámenes renovados durante el transcurso de la germinación. Mediante el transcurso ampliamente automatizado del procedimiento pueden realizarse intervalos de examen arbitrarios, los cuales no dependen ya de la disponibilidad de personal.

20 Conforme a la invención, los exámenes tienen lugar mientras que las semillas se encuentran en un sustrato de germinación. Como sustrato de germinación pueden utilizarse los filtros de pliegues empleados habitualmente en ensayos de germinación, pero el procedimiento propuesto se adecua también para el examen de la germinación en otros medios tales como, p. ej., en la tierra.

25 Por medio del procedimiento propuesto se examinan semillas vegetales y las plántulas que se desarrollan a partir de ellas utilizando al menos un procedimiento tomográfico computarizado formador de imágenes y obteniendo datos de investigación referidos al momento en una secuencia escalonada en el tiempo durante el transcurso de la germinación.

30 Los datos de examen referidos al momento obtenidos se someten en forma de datos de imágenes 3D en cada caso a un proceso o bien algoritmo de tratamiento de imágenes. En el marco de este proceso de tratamiento de imágenes se segmentan en cada caso las semillas formadas y las plantas germinativas en desarrollo primeramente del sustrato de germinación, por ejemplo de un papel de filtro o de la tierra.

Por el término “segmentación” se ha de entender en el marco de esta solicitud una asociación de segmentos de imágenes o bien segmentos de datos de examen a segmentos de un objeto investigado que tiene lugar, en particular, utilizando técnicas de procesamiento de imágenes sustentadas por ordenador.

35 Junto a la segmentación de semillas o bien plantas germinativas por una parte y el sustrato de germinación por otra, tiene lugar, además, una segmentación y asociación de segmentos de imágenes a unidades atómicas de las semillas vegetales o plántulas.

40 A partir de las unidades anatómicas asociadas de manera correspondiente o bien de los segmentos de imagen correspondientes a ellas, se deducen características de estas unidades anatómicas preferidas al momento de examen respectivo. La deducción de las propiedades puede tener lugar ventajosamente, mediante un algoritmo, mediante el cual pueden medirse tridimensionalmente los segmentos de imágenes.

La evaluación de las propiedades de germinación de las semillas vegetales tiene lugar entonces en virtud de las características anatómicas referidas al momento, obtenidas con ello.

45 Por “propiedades de germinación” se ha de entender en este caso, junto al simple comportamiento de germinación mínimo, también, en particular, la calidad del brote, la velocidad del brote, el rendimiento de crecimiento, la tolerancia al estrés, la uniformidad del crecimiento, la calidad de la plántula tal como longitud y/o volumen del brote y la raíz, su velocidad de desarrollo, así como sus propiedades sustanciales y eventualmente propiedades derivadas además de ellas. En el caso de una propiedad de germinación se puede tratar, por lo tanto, también de una propiedad de una plántula procedente de las semillas de plantas a través de la germinación (por ejemplo, del tamaño de los cotiledones y el tamaño, la longitud y las propiedades sustanciales de las raíces) y, en particular, del desarrollo en el tiempo de esta propiedad. Además, quedan abarcadas con ello también, sin embargo, propiedades de las semillas que pueden ser atribuidas a éstas en virtud de un procedimiento de acuerdo con la invención (es decir, de propiedades pronosticadas tales como previsible capacidad de germinación mínima o velocidad de brote).  
50 El color del tejido (coloración negra) permite afirmar al final del período de germinación sobre un posible ataque por hongos de las plántulas.

- 5 En el marco de este procedimiento se emplean procedimientos tomográficos computarizados para la formación de imágenes. La tomografía computarizada y la tomografía por resonancia magnética permiten una medición de las plántulas o semillas tridimensional y exenta de perturbaciones en un sustrato de germinación que no necesita ser separado para el examen del material. Con ello, puede tener lugar una medición totalmente libre de perturbaciones y destructiva de las plantas, sin influir sobre la germinación.
- Con particular ventaja, las semillas o plántulas son conducidas a la trayectoria de los rayos de un tomógrafo de rayos X o de resonancia magnética, allí se giran en la trayectoria de los rayos y se tomografían formando imágenes reveladas en el lugar.
- 10 Además, junto al procedimiento tomográfico presentado puede ser ventajoso también un examen óptico. Por ejemplo, al final del periodo de germinación o bien de un correspondiente periodo de examen puede tener lugar una evaluación a través de uno o varios sensores formadores de imágenes tales como, por ejemplo, una cámara de color, pudiendo establecerse, por ejemplo, el color del hipocótilo y una posible variación del color por parte de una infección por hongos, o puede tener lugar a través de un proceso de resonancia magnética.
- 15 Con particular ventaja, las semillas de plantas o las plántulas que se desarrollan a partir de ellas son incubadas bajo condiciones controladas en un dispositivo de germinación, por ejemplo una fitocámara. Antes del examen, las semillas o las plántulas son conducidas, preferiblemente de forma totalmente automática, por ejemplo al tomógrafo de resonancia magnética y, a continuación, son llevadas de nuevo al dispositivo de germinación.
- 20 Como se ha mencionado, con particular ventaja, mediante el empleo de procesos tomográficos por ordenador o de resonancia magnética pueden examinarse semillas vegetales y/o plántulas en un sustrato de germinación libremente elegible, y sólo adaptado a la respectiva metodología de examen. En este caso puede tratarse, por ejemplo, de los mencionados filtros de pliegues, de tierra o de otro medio adecuado. Mediante esta posibilidad pueden simularse diferentes condiciones de crecimiento, por ejemplo diferentes calidades del suelo.
- 25 Con particular ventaja, el procedimiento contiene examinar semillas de plantas en estado seco semillas de plantas humedecidas y/o plántulas en diferentes momentos. Por ejemplo, primeramente pueden analizarse partes del tejido de semillas secas mediante el examen, la segmentación y la derivación de las características anatómicas referidas al momento. Para ello, las semillas se colocan, p. ej., entre pliegues de un filtro de pliegues dispuesto en posición vertical, y el filtro se conduce con las semillas, primeramente en estado seco, en la trayectoria de los rayos del tomógrafo de rayos X o de resonancia magnética.
- 30 El filtro de pliegues es entonces humedecido de forma definida y expuesto a condiciones de germinación controladas. A determinados espacios de tiempo tiene lugar durante la germinación una tomografía (automática) con subsiguiente evaluación de las imágenes tal como se ha expuesto precedentemente, con lo cual, junto a los datos tridimensionales de las imágenes se puede describir una cuarta dimensión, a saber, el desarrollo en el tiempo de partes de tejido.
- 35 Se considera particularmente ventajoso determinar, mediante el procedimiento presentado, como unidades anatómicas de las semillas de plantas el pericarpio duro, el pericarpio blando, el embrión y/o el tejido del endospermo, dado que estas estructuras anatómicas proporcionan datos particularmente concluyentes en relación con una evaluación de las propiedades de germinación. Conforme a la invención, en el caso de las plántulas se considera la radícula, el hipocótilo y/o los cotiledones.
- 40 Las respectivas características anatómicas referidas al momento comprenden un volumen, una superficie, una dimensión (longitud, anchura) y/o, en el caso que se pueda comprobar mediante el respectivo procedimiento formador de imágenes, opcionalmente una coloración de las unidades anatómicas. Mediante el volumen del tejido del endospermo se puede concluir, por ejemplo, un abastecimiento de sustancias nutritivas del embrión y, con ello, una calidad de germinación. El volumen o bien la superficie de los cotiledones permite, por el contrario, sacar conclusiones, por ejemplo, sobre la capacidad de asimilación de las plántulas en desarrollo. La longitud y la fuerza del hipocótilo permiten afirmaciones sobre su potencial de extensión. Cuanto más rápidamente los cotiledones penetren, debido al estiramiento del hipocótilo, por ejemplo en suelos enlodados y puedan comenzar con la asimilación de la luz solar, tanto antes como de forma más eficaz puede iniciarse la formación de la sustancia y, con ello, de la cosecha. La velocidad de crecimiento, la longitud y la ramificación de las raíces permite sacar conclusiones sobre el abastecimiento de agua y el anclaje al suelo de las plántulas.
- 45 Con particular ventaja, tal como se ha explicado precedentemente, mediante el procedimiento presentado puede evaluarse una capacidad de germinación y/o una calidad de germinación de las semillas de plantas, también de forma prospectiva. El procedimiento de acuerdo con la invención permite, por lo tanto, de una manera particularmente sencilla y ventajosa, establecer un ensayo de germinación automático que sea adecuado para reemplazar, objetivar y automatizar procesos de examen habituales.
- 50 Como ya se ha indicado asimismo antes, la evaluación de las propiedades de germinación contiene la determinación de las características anatómicas referidas al momento a lo largo de un espacio de tiempo predeterminado que se
- 55

correlaciona, por ejemplo, con un periodo de tiempo reconocido como significativo de un espacio de tiempo de germinación.

5 Con particular ventaja, la evaluación de las propiedades de germinación comprende la comparación de las características anatómicas referidas al momento con valores comparativos y/o umbrales. Con ello, es posible de manera particularmente sencilla correlacionar en cada caso características observadas con valores comparativos y establecer afirmaciones de orden de magnitud sobre las plántulas que se desarrollan o bien sus propiedades. La comparación con valores umbrales puede utilizarse, en particular, también para evaluar las partidas de semillas.

10 Con el fin de poder derivar afirmaciones más precisas con respecto a las propiedades de germinación, puede ser ventajoso llevar a cabo una evaluación estadística de las características anatómicas referidas al momento. En este caso, por ejemplo mediante la media de un mayor número de mediciones de diferentes individuos (muestra al azar) grande puede eliminarse la varianza biológica (intravarietal) dentro de una especie o tratamiento.

15 El procedimiento puede incluir también correlacionar un desarrollo de germinación con propiedades de características anatómicas de las semillas secas. Por ejemplo, es posible clasificar estadísticamente tipos de desarrollo en el tiempo de todas o de determinadas características y luego asociarlas a las respectivas características de las semillas. Con ello, es posible establecer a partir de las características de las semillas un pronóstico en relación con las propiedades de germinación esperadas y, por ejemplo, pre-clasificar o clasificar semillas en el marco de la producción de semillas de calidad.

20 Ventajosamente, el procedimiento de acuerdo con la invención permite llevar a cabo propiedades de germinación bajo la simulación de factores de estrés (sequedad, consistencia desfavorable del suelo). Por ejemplo, para ello puede tener lugar una variación en el contenido de agua del papel de filtro que sirve como sustrato de germinación, una variación de la profundidad de deposición de las semillas en el filtro y/o una compactación más o menos intensa de los pliegues de un filtro depositado en posición vertical por encima y por debajo de las semillas. En virtud de la evaluación automática de las imágenes, de las afirmaciones cualitativas derivadas de ello y de la capacidad de estandarización absoluta determinada con ello, el procedimiento se adecua también para la evaluación objetiva de la germinación y fuerza de impulsión en exámenes de semillas oficiales.

25 Un dispositivo para la evaluación de las propiedades de germinación de semillas vegetales es asimismo objeto de esta solicitud. En cuanto a las características y ventajas del dispositivo se remite expresamente a las características ya explicadas del procedimiento de acuerdo con la invención.

30 En particular, un dispositivo de este tipo presenta medios para la segmentación y/o medios para la derivación de características anatómicas referidas al momento que están realizados, en particular, en forma de algoritmos implementados por ordenador.

Otras ventajas y configuraciones de la invención resultan de la descripción y del dibujo adjunto.

35 Se entiende que las características precedentemente mencionadas y las que se han de explicar todavía en lo que sigue no se pueden utilizar sólo en la combinación en cada caso indicada, sino también en otras combinaciones o en una posición individual, sin abandonar el marco de la presente invención.

La invención está representada esquemáticamente con ayuda de ejemplos de realización en los dibujos y se describe en lo que sigue haciendo referencia expresa a los dibujos.

#### Descripción de las figuras

- 40 La Figura 1 muestra un papel de filtro con plántulas en un ensayo de germinación conforme al estado de la técnica.
- La Figura 2 muestra esquemáticamente una disposición para llevar a cabo el procedimiento de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.
- La Figura 3 muestra fotografías de semillas de remolacha azucarera mediante técnicas formadoras de imágenes.
- 45 La Figura 4 muestra una vista en sección parcial de una reconstrucción en 3D de una semilla de remolacha azucarera a partir de fotografías tomográficas por ordenador.
- La Figura 5 muestra fotografías tomográficas por ordenador de semillas de remolacha azucarera y representaciones de segmentos que se obtuvieron mediante procedimientos de acuerdo con una forma de realización de la invención particularmente preferida.
- 50 La Figura 6 muestra datos en volumen de tejidos segmentados de semillas de remolacha azucarera que se obtuvieron mediante un procedimiento de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.

- La Figura 7 muestra fotografías tomográficas por ordenador de semillas de remolacha azucarera de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención y plántulas correspondientes.
- 5 La Figura 8 muestra una correlación de un índice de calidad de semillas obtenido de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención con una propiedad de brote en el campo en el caso de la remolacha azucarera.
- La Figura 9 muestra un ensayo de germinación en un filtro de pliegues en posición vertical de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.
- 10 La Figura 10 muestra fotografías tomográficas por ordenador de una semilla de remolacha azucarera no germinada de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.
- La Figura 11 muestra reconstrucciones en 3D de semillas de remolacha azucarera germinadas de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.
- La Figura 12 muestra reconstrucciones en 3D de semillas de trigo germinadas de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.
- 15 La Figura 13 muestra reconstrucciones en 3D de semillas de maíz germinadas de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.
- La Figura 14 muestra una representación esquemática de una disposición para llevar a cabo un procedimiento de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención.

20 En las siguientes figuras, elementos iguales o análogos tales como, por ejemplo, características de semillas o de plántulas, se indican con los mismos símbolos de referencia y, con vistas a una perspectiva mejor, no se explican de nuevo en cada caso.

25 En la Figura 1 se representa un filtro de pliegues con plántulas tal como se utiliza en un ensayo de germinación de acuerdo con el estado de la técnica. La disposición se designa en conjunto con 100. Tal como se ha explicado precedentemente, en un ensayo de germinación habitual, en un papel de filtro 101 dispuesto en posición horizontal se introducen semillas 102 y después de la adición de líquido se germinan bajo condiciones ampliamente definidas. Las plántulas 103 que se desarrollan a partir de ellas se evalúan a continuación, por ejemplo se recuentan.

30 En la Figura 2 está representada esquemáticamente una disposición para llevar a cabo el procedimiento de acuerdo con una forma de realización particularmente preferida de la invención y se designa en conjunto con 200. La disposición 200 presenta un dispositivo de rayos X 210, por ejemplo un tomógrafo computarizado 210 con un tubo de rayos X 211 y un detector de rayos X 213. En la trayectoria de los rayos 212 del dispositivo de rayos X 210 se introduce una muestra a examinar, por ejemplo un filtro con semillas en un dispositivo de soporte o plántulas en el sustrato. La muestra es girada en el dispositivo de rayos 210 para la toma de imágenes en corte tal como se representa con una flecha de rotación  $\phi$  y se desplaza escalonadamente en la dirección z.

35 Las imágenes en corte obtenidas se pre-elaboran, por ejemplo, mediante un equipo de medición 230. Mediante un dispositivo de cálculo rápido 240, por ejemplo, un grupo a base de ordenadores individuales 241, se reconstruyen los datos de medición proporcionados por el equipo de medición 230 a través de una red 250 rápida y se ponen a disposición de un ordenador de evaluación o visualización 260.

40 En la Figura 3 se representan fotografías de semillas de remolacha azucarera por medio de técnicas formadoras de imágenes. La imagen 310 muestra una fotografía digital habitual de una semilla o glomérulo de remolacha azucarera. En la imagen 321 se representa una vista en sección transversal por tomografía computarizada de la semilla de remolacha azucarera, correspondiendo la dirección del plano de corte aproximadamente a la del plano de la imagen 310. La vista longitudinal tomográfica computarizada tomada de forma correspondientemente perpendicular a la misma se representa en la imagen 322.

45 La Figura 4 muestra una vista en sección parcial de una reconstrucción en 3D 400 de una semilla de remolacha azucarera a partir de fotografías tomográficas computarizadas como las de la Figura 3. En la representación 400 se pueden diferenciar ópticamente la envoltura de la semilla 401, las capas de dicotiledones 402, el tejido del endospermo 403 así como una cavidad 404 en la semilla.

50 Tal como se ha explicado precedentemente, el procedimiento de acuerdo con la invención contiene una asociación de características de las plántulas a unidades anatómicas mediante una segmentación automática. La segmentación automática se explica en la Figura 5. En la parte de la izquierda de la Figura 5 se representan en este caso dos fotografías en corte 510, 520 tomográficas computarizadas de una semilla de remolacha azucarera en forma de fotografías de baja resolución. En la parte de la derecha de la Figura se representan imágenes de segmentos 515, 525 generadas automáticamente mediante software. Las imágenes de segmentos 515 y 525 muestran tres o bien cuatro segmentos o bien segmentos de imágenes 516-519 que pueden corresponder, por ejemplo, a diferentes

unidades anatómicas tales como las características 401 a 404 de la Figura 4. La determinación de los segmentos 516-519 a partir de las fotografías en corte 510 tiene lugar, en parte, utilizando valores grises, pero adicionalmente, en particular, mediante una correlación de datos de imágenes individuales con tomas en serie de imágenes en corte incluyendo relaciones determinadas empíricamente en series de medición.

5 En el caso de la semilla representada en la imagen 510 y 515 se puede reconocer, por ejemplo, una cavidad 519 y que ha sido asociada de manera correspondiente mediante la segmentación, que no está presente en la semilla representada en las imágenes 520 y 525. La presencia de una cavidad dentro de una semilla y su tamaño puede utilizarse, por ejemplo, como una característica cualitativa para la evaluación de propiedades de la semilla.

10 En la Figura 6 se representan datos a modo de ejemplo que se obtuvieron de 50 fotografías tomográficas computarizadas consecutivas de semilla de remolacha azucarera. Las coordenadas respectivas de la medición tomográfica computarizada (posiciones X e Y, así como desplazamiento en la dirección Z) están indicadas en este caso en las columnas X, Y y Z. Además, en la Tabla se indica un volumen total de la semilla V en mm<sup>3</sup>, así como un volumen de una primera característica segmentada x y de una segunda característica segmentada y en mm<sup>3</sup>.

15 En la Figura 7 se representa una relación entre las propiedades de la semilla mensurables y una calidad de la planta que resulta de ello. 710 de la Figura 7 muestra en este caso tres fotografías 711, 712 y 713 tomográficas computarizadas de tres semillas que fueron sometidas a un proceso de segmentación y asociación de acuerdo con la invención.

20 En el marco del ejemplo representado en la Figura 7 se representó automáticamente con ello en cada caso un volumen total de la semilla y una cavidad dentro de una semilla (por ejemplo, de manera correspondiente a la cavidad 404 de la Figura 4 o bien la cavidad 519 de la Figura 5). Los valores para las distintas semillas 711, 712 y 713 se indican (en mm<sup>3</sup>) en la siguiente Tabla:

Característica	711	712	713
Volumen de la semilla	2,80	3,52	4,19
Cavidad	0,51	1,42	0,19

25 En la línea 720 de la Figura 7 se representan plántulas 721, 722 y 723 correspondientes en cada caso a las semillas. Se puede reconocer claramente que las plántulas 721 y 722 muestran un rendimiento de crecimiento claramente peor que la plántula 723 correspondiente a la semilla 713. Las distintas calidades de la planta se han de atribuir tanto a un brote en el campo temprano distinto como también a diferentes tamaños de partida del tejido embrionario. Se pudo comprobar que, en particular, el tamaño de una cavidad dentro de una semilla muestra una clara correlación con una calidad de la planta resultante. En el caso de la semilla 713, en la que esta cavidad es mínima en comparación, por ejemplo, con las semillas 712, pudo correlacionarse un brote particularmente temprano en el campo y, con ello, una calidad particularmente buena de la plántula 723.

30 Mediante las características de las semillas o bien plántulas determinadas de acuerdo con la invención, entre ellas, por ejemplo, una cavidad dentro de una semilla, puede establecerse un índice de calidad de las semillas determinado a partir de varios parámetros. Este índice de calidad de las semillas permite predecir, por ejemplo, un comportamiento del brote en el campo de semillas correspondientes.

35 Este hecho se representa en la Figura 8. La Figura 8 muestra un diagrama 800 en el que se representa un índice de calidad de la semilla determinado de manera correspondiente de partidas de semilla de diferentes tipos en el eje x 810 frente a la proporción de plantas germinadas en fase temprana (deseadas) en el eje y 820 en proporciones en porcentaje. Con ello, la gráfica 800 muestra una relación entre la calidad de la semilla descrita a través de un índice de calidad y el brote temprano en el campo. Los datos representan valores medios de tres lugares, en donde en cada caso se examinaron semillas de un procedencia o bien genética A, una genética B y una genética C. Dentro de las distintas genéticas se puede reconocer una clara correlación del índice de calidad de la semilla con el brote temprano en el campo.

40 El experto en la materia es conocedor que las propiedades de brote en el campo de semillas de remolacha azucarera se correlacionan con los tamaños posteriormente alcanzados de los nabos. Una plántula o bien semilla con un brote temprano o bien rápido en el campo dispone, tal como se ha explicado antes, de un acceso particularmente rápido al agua y/o sales nutricias y confiere, mediante una superficie de la hoja desarrollada de forma suficientemente temprana, la actividad de asimilación con eficiencia completa.

45 En la Figura 9 se representa un ensayo de germinación propuesto de acuerdo con la invención en un filtro de pliegues situado en posición vertical, tal como se ha explicado antes. La disposición se designa en conjunto con 900.

5 En un filtro de pliegues 910 situado en posición vertical se introduce en este caso una semilla y se hace germinar en posición vertical en un recipiente de humedad 920. Mediante la compresión del filtro de pliegues y/o el abastecimiento diferente de humedad pueden simularse en este caso diferentes relaciones de estrés. Durante la germinación de la semilla tiene lugar de manera repetida un examen tomográfico computarizado para obtener datos del examen referidos al tiempo que, a continuación, pueden ser sometidos a un proceso de evaluación precedentemente explicado.

10 La Figura 10 muestra una imagen en corte tomográfica computarizada obtenida a este respecto de un filtro de pliegues 910 con semillas 930 secas introducidas en el mismo. Tal como se ha explicado precedentemente, también en el marco de este ensayo de germinación tiene lugar una toma estratificada, con lo cual se pueden obtener datos tridimensionales reconstruidos.

En las Figura 11, 12 y 13 se representan reconstrucciones en 3D en cada caso correspondientes a ello que pueden ser utilizadas para la evaluación libre de perturbaciones y de destrucción de propiedades de germinación.

15 En este caso, las Figuras parciales A de las Figuras 11, 12 y 13 designan en cada caso fotografías que fueron obtenidas tres días después del comienzo de la plántula, las Figuras parciales B designan fotografías que fueron obtenidas después de seis días y en las Figuras parciales C se representan plántulas de siete días de edad. La Figura 11 muestra plántulas de maíz, la Figura 12 plántulas de remolacha azucarera y la Figura 13 plántulas de trigo.

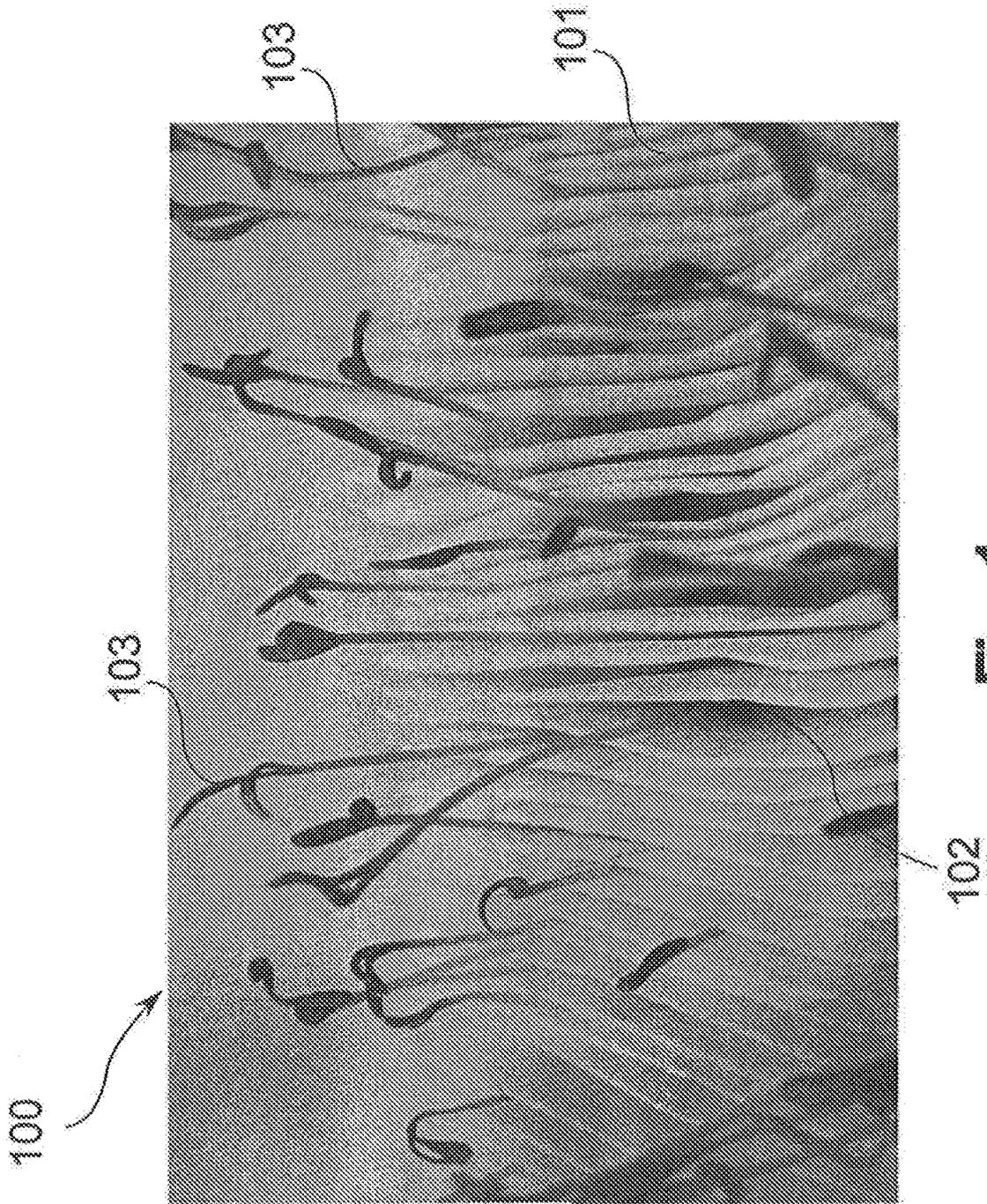
Tal como se ha establecido ya precedentemente, el procedimiento propuesto se adecua, por lo tanto, para examinar una gran gama de géneros y especies vegetales relevantes para la agricultura y la ciencia.

20 En la Figura 14 se representa una estructura esquemática de un dispositivo para la germinación y la inspección tomográfica de semillas y plántulas germinadas a partir de ellas en un medio denso, por ejemplo en papel de filtro tal como se explica en las Figuras 9 a 13. El dispositivo puede utilizarse, en particular, para la evaluación automatizada de plántulas.

25 Con 1 se designan en cada caso recipientes de germinación con semillas germinadas en papel de filtro, tierra o similares. Los recipientes de germinación 1 son conducidos a través de un mecanismo de transporte y desplazamiento 2 a un sistema de tomografía 3 para la inspección en 3D libre de destrucción de los medios cerrados y allí son tomografiados de manera resuelta en el lugar. Después del examen, los recipientes de germinación 1 son conducidos ulteriormente de nuevo a través del mecanismo de transporte y de desplazamiento 2, por ejemplo son llevados de nuevo al espacio de germinación.

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para la evaluación objetiva y automatizada de propiedades de germinación de semillas de plantas y de plántulas que se desarrollan a partir de las semillas de plantas, en el que las semillas de plantas y las plántulas se encuentran en un medio denso como sustrato de germinación, en particular papel de filtro (910) o tierra, en base a características anatómicas referidas al momento (x, y), en donde estas características anatómicas referidas al momento (x, y) se determinan en una secuencia escalonada en el tiempo durante el transcurso de germinación, en cada caso mediante la realización de las etapas a) a c):
- 5 a) examen de las semillas de plantas y de las plántulas utilizando al menos un proceso tomográfico computarizado formador de imágenes y obtención de datos de examen (400) tridimensionales, referidos al momento,
- 10 b) segmentación de los datos de examen (400) referidos al momento, segmentándose las semillas de plantas y/o plántulas representadas en cada caso del sustrato de germinación, y asociación de los segmentos (516 - 519) obtenidos a unidades anatómicas de las semillas de plantas y/o plántulas, y
- 15 c) determinación de las características anatómicas referidas al momento (x, y) en forma de un volumen, una superficie y/o una dimensión de las unidades anatómicas de las semillas de plantas y plántulas a partir de los segmentos (516 - 519) asociados, determinándose las características anatómicas de al menos una de las unidades anatómicas radícula, hipocótilo y cotiledones de las plántulas.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que se examinan semillas de plantas en estado seco, semillas de plantas humedecidas y plántulas en diferentes momentos de examen.
- 20 3. Procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, en el que se determinan características anatómicas referidas al momento de al menos el pericarpio duro, el pericarpio blando, el embrión y/o el endospermo de las semillas de plantas.
4. Procedimiento según una de las reivindicaciones precedentes, en el que como propiedades de germinación se evalúan una capacidad de germinación y/o una calidad de germinación de las semillas de plantas.
- 25 5. Procedimiento según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la evaluación de las propiedades de germinación contiene la determinación de las características anatómicas referidas al momento a lo largo de un espacio de tiempo predeterminado.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la evaluación de las propiedades de germinación contiene la comparación de las características anatómicas referidas al momento con valores comparativos y/o umbrales y/o la evaluación estadística de las características anatómicas referidas al momento.
- 30 7. Procedimiento según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la evaluación de las propiedades de germinación contiene la correlación de características anatómicas referidas al momento de plántulas con características anatómicas referidas al momento de semillas de plantas.
8. Procedimiento según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la evaluación de las propiedades de germinación tiene lugar bajo simulación de factores de estrés.
- 35 9. Procedimiento según una de las reivindicaciones precedentes, en el que las semillas de plantas o las plántulas se recogen de un dispositivo de germinación en un recipiente de germinación cerrado antes del examen y/o después se transfieren de nuevo a un dispositivo de germinación.



**Fig. 1**

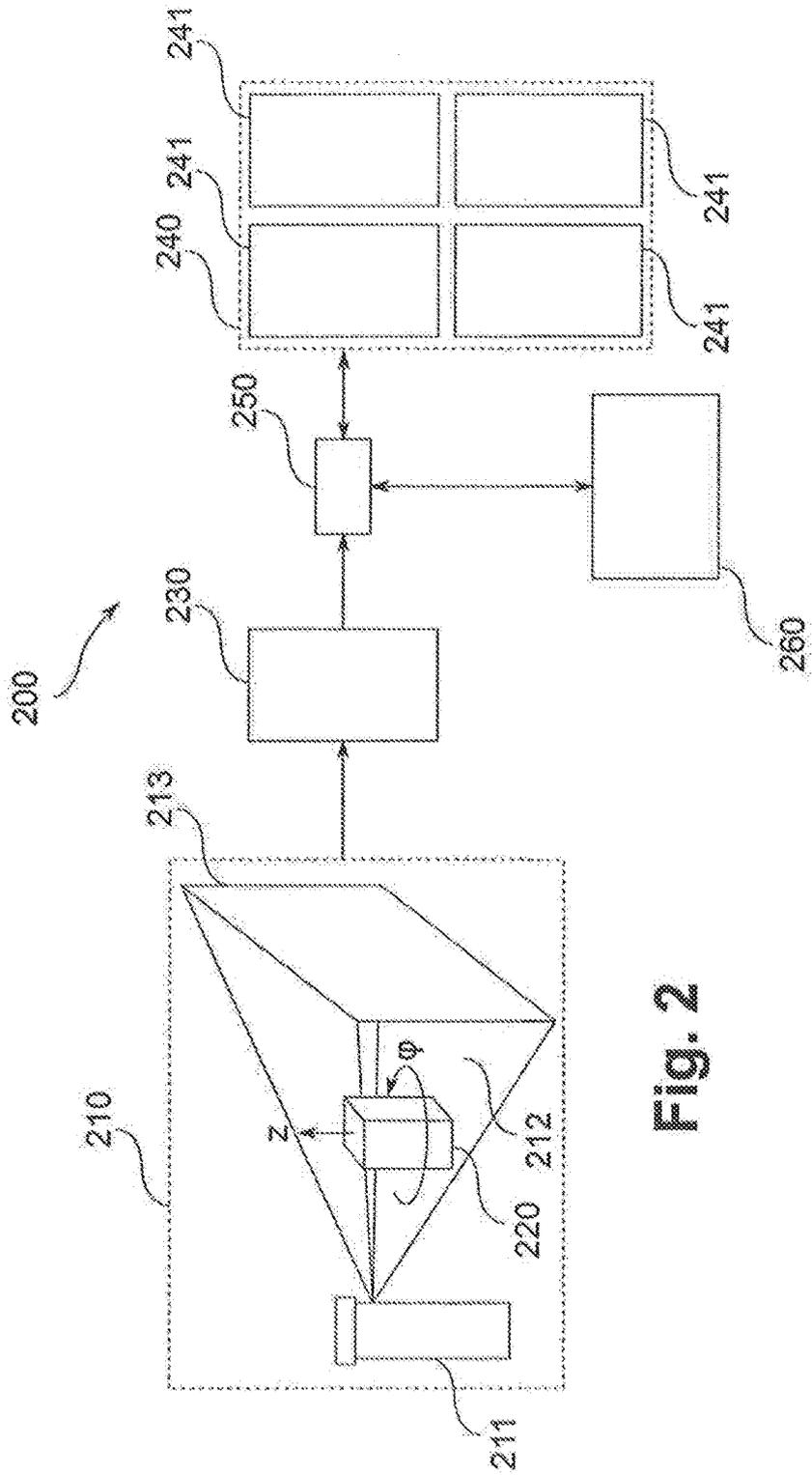
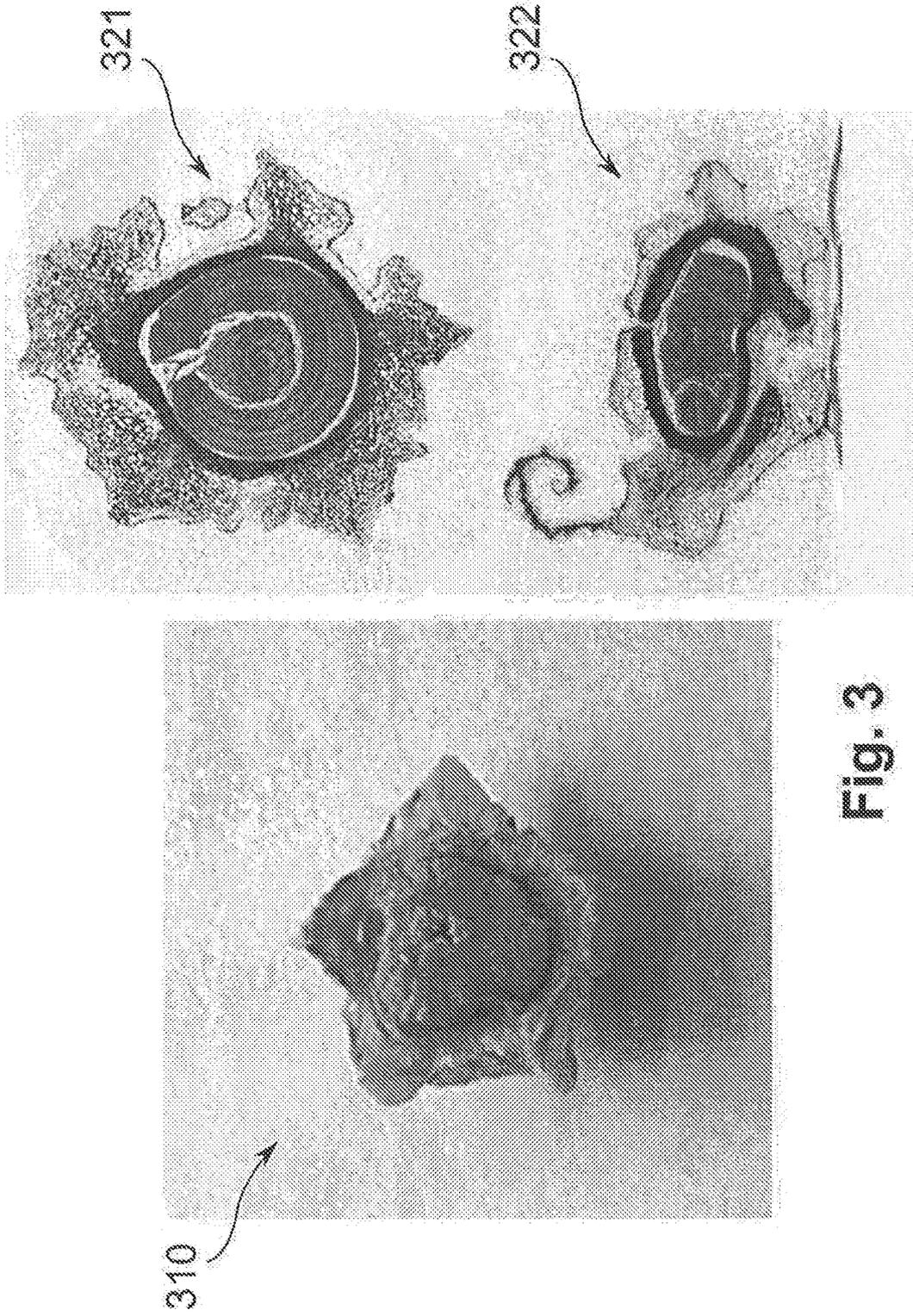
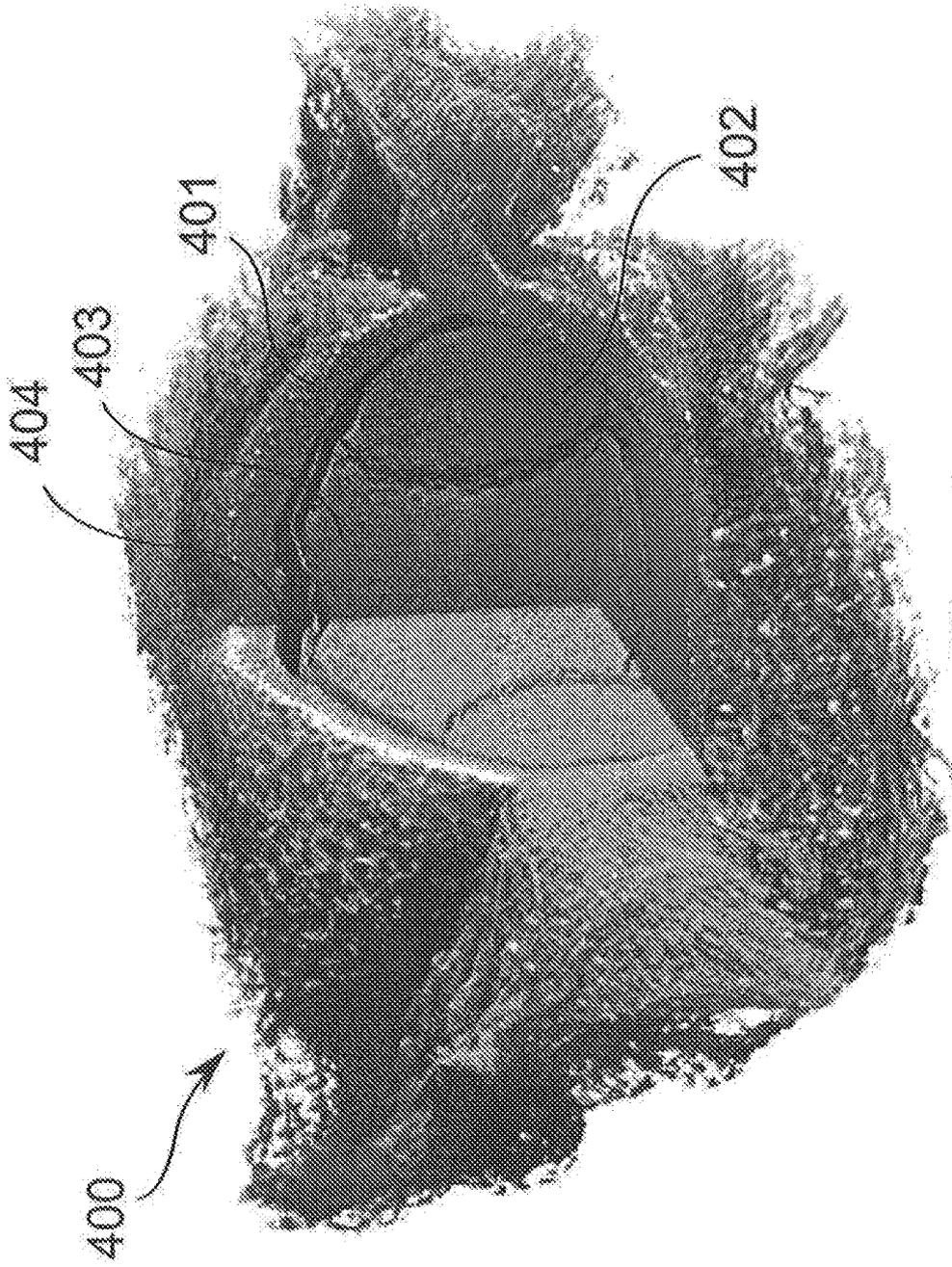


Fig. 2





**Fig. 4**

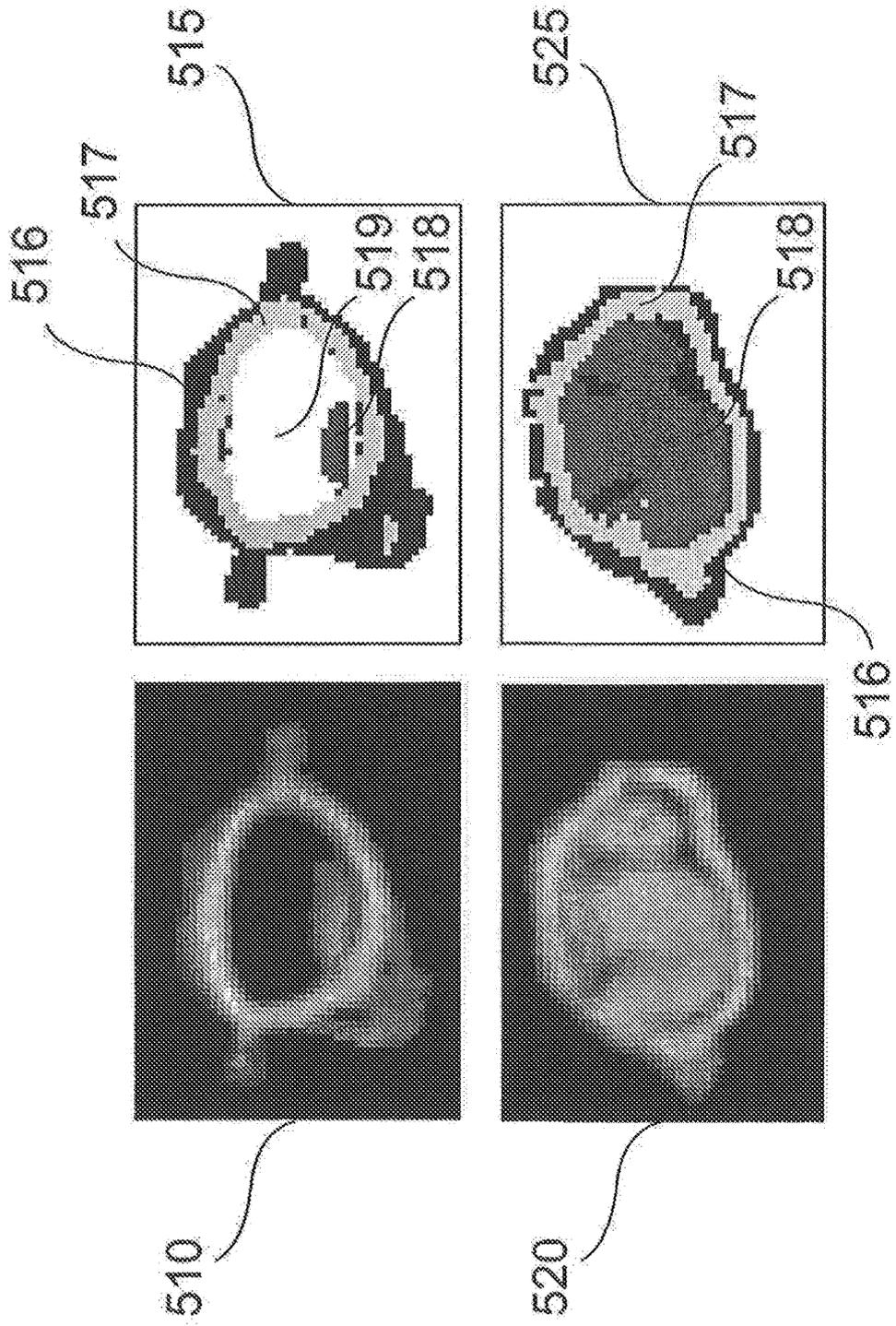


Fig. 5

Nº	X	Y	Z	V (mm³)	x (mm²)	y (mm²)
1	202	73	69	15,41	7,23	3,44
2	277	105	69	14,91	6,88	3,37
3	353	128	69	12,21	4,70	3,20
4	133	158	69	15,12	6,51	3,48
5	212	154	69	15,22	7,31	3,32
6	281	185	69	10,68	4,48	2,57
7	357	207	69	10,97	4,25	2,73
8	438	198	69	14,54	6,41	3,59
9	111	236	69	15,43	6,93	3,62
10	191	230	69	10,71	5,25	2,46
11	326	276	69	13,27	6,56	2,59
12	406	271	69	12,29	5,25	3,00
13	77	309	69	14,13	6,57	3,40
14	158	300	69	14,71	8,11	3,23
15	235	320	69	13,27	5,93	3,35
16	304	352	69	13,22	5,39	3,17
17	384	349	69	13,14	5,99	2,93
18	163	379	69	12,03	5,71	3,01
19	239	401	69	13,35	8,19	2,31
20	314	433	69	16,50	8,59	3,56
21	202	74	142	14,94	4,92	3,95
22	276	106	142	13,42	5,16	3,93
23	352	129	142	14,84	6,42	3,63
24	131	159	142	15,72	6,57	4,17
25	211	155	142	11,71	4,50	3,41
26	280	186	142	15,19	4,98	4,47
27	357	207	142	13,36	5,94	3,45
28	437	199	142	14,82	6,04	3,96
29	110	237	142	13,70	5,16	3,84
30	191	230	142	11,73	4,60	3,25
31	325	277	142	17,12	6,83	4,34
32	405	271	142	15,77	6,76	4,14
33	77	310	142	17,48	7,18	4,23
34	157	300	142	14,00	5,82	3,78
35	234	321	142	17,28	5,82	4,62
36	303	353	142	13,71	5,79	3,33
37	383	349	142	15,28	4,93	4,13
38	163	379	142	14,93	6,19	3,72
39	238	402	142	13,87	5,60	3,65
40	313	433	142	16,03	7,04	4,31
41	200	75	217	18,37	7,47	4,43
42	275	108	217	13,94	4,82	3,76
43	350	130	217	13,45	6,13	3,50
44	130	160	217	16,75	6,86	3,85
45	209	156	217	15,73	8,02	3,82
46	279	186	217	20,45	8,95	4,73
47	354	208	217	15,17	6,47	3,73
48	436	200	217	17,40	8,20	4,13
49	108	237	217	15,84	7,16	3,83
50	189	232	217	15,66	7,56	3,73

Fig. 6

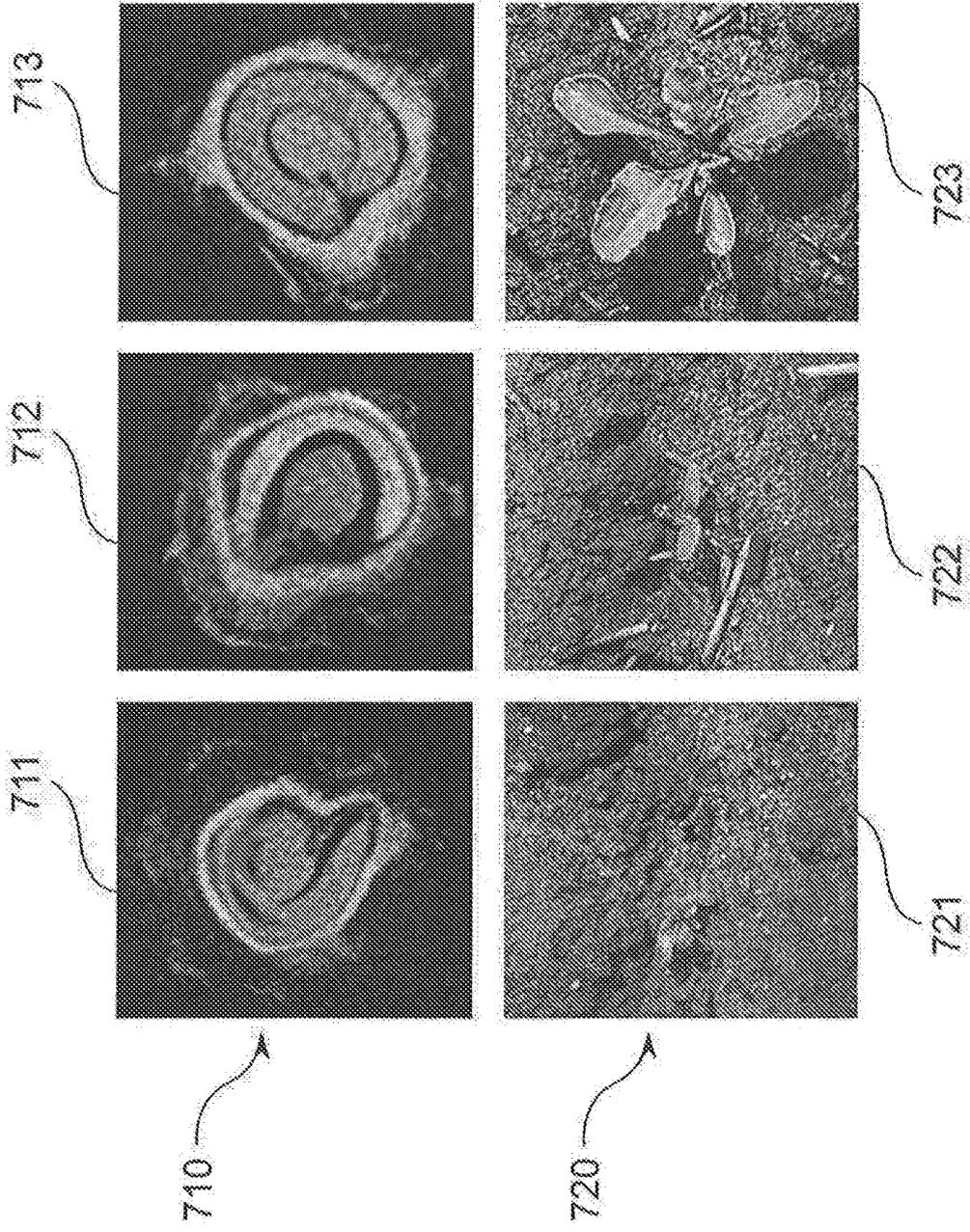


Fig. 7

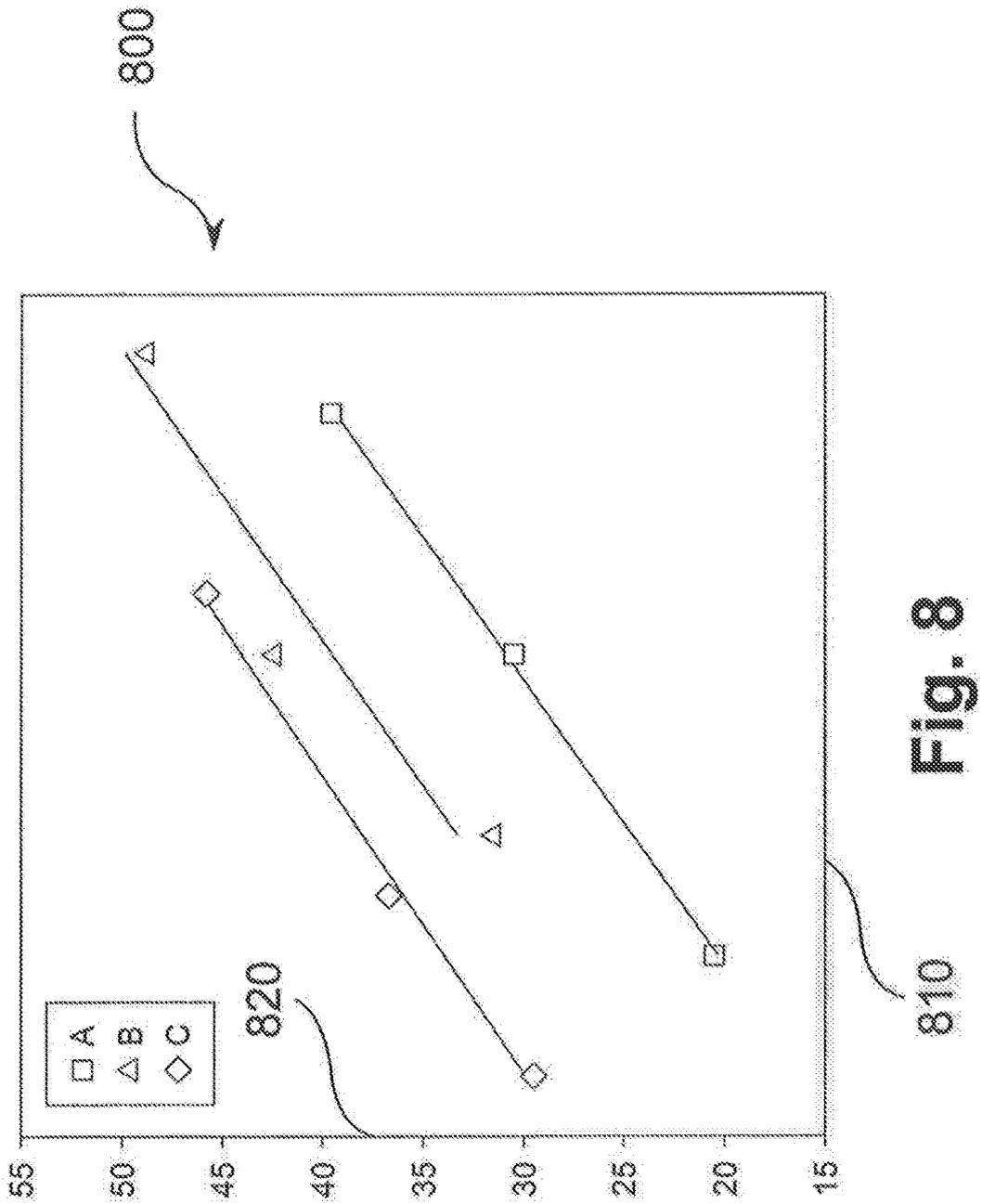
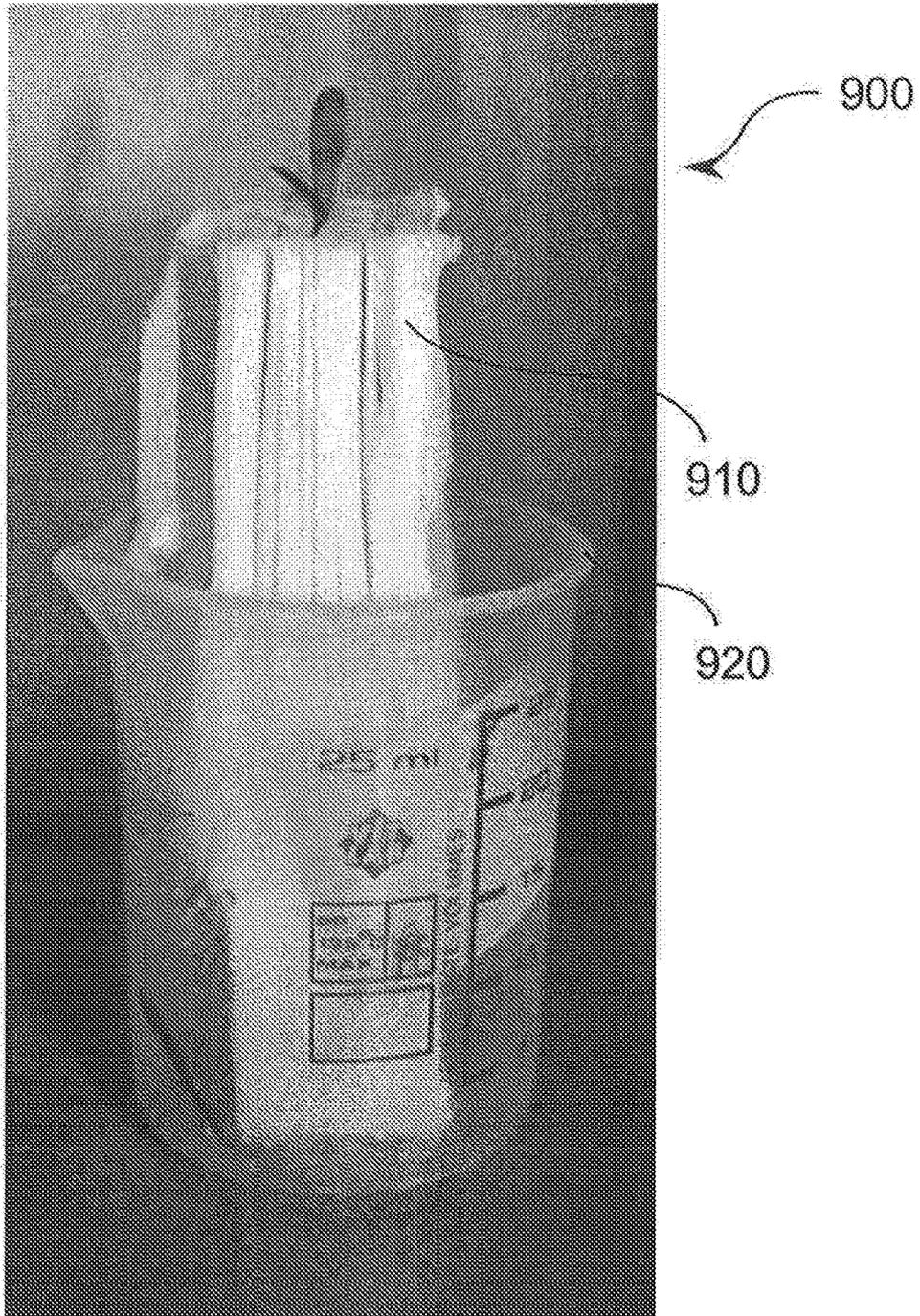
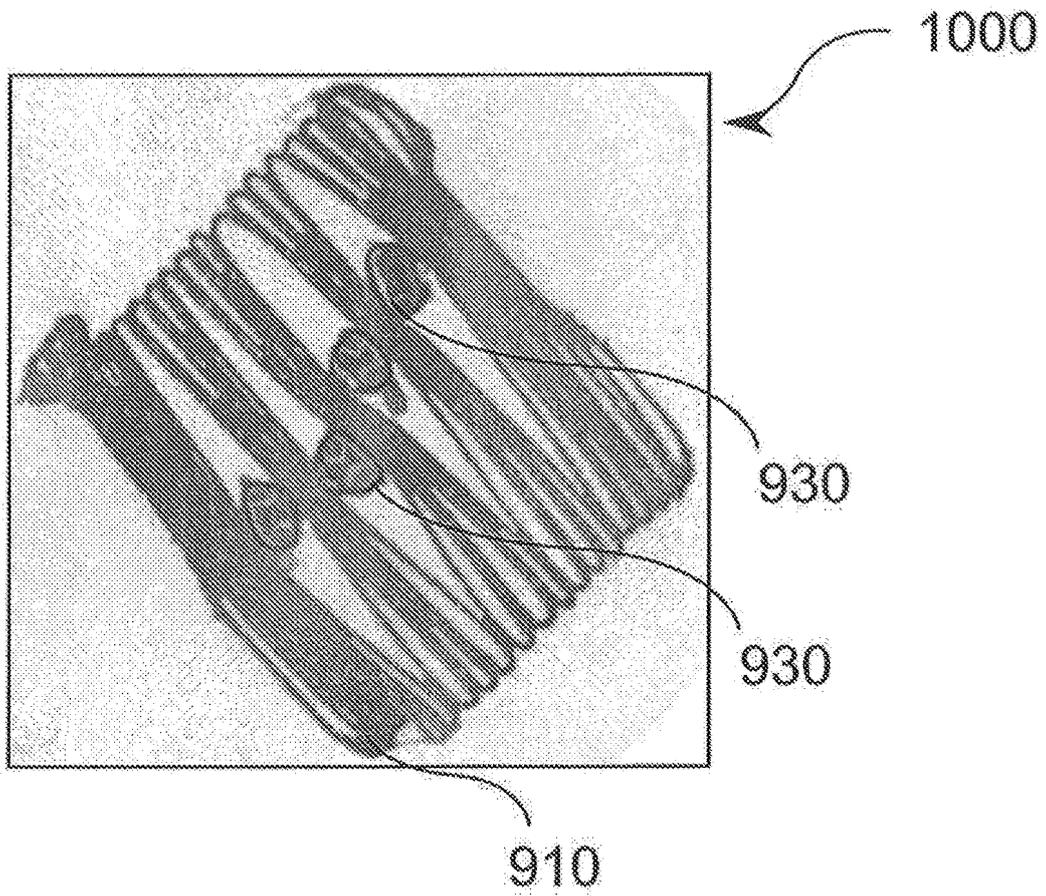


Fig. 8



**Fig. 9**



**Fig. 10**

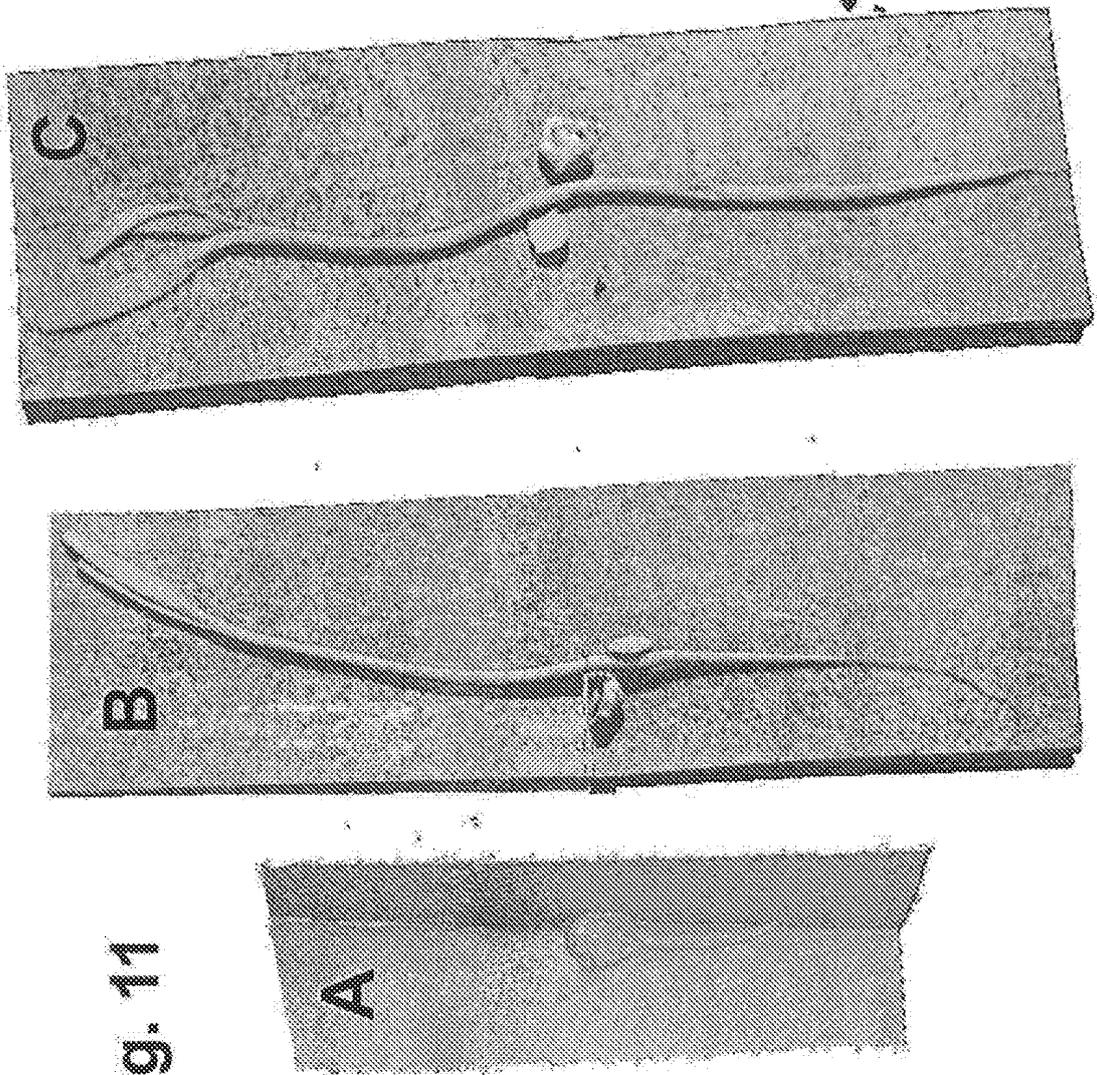


Fig. 11

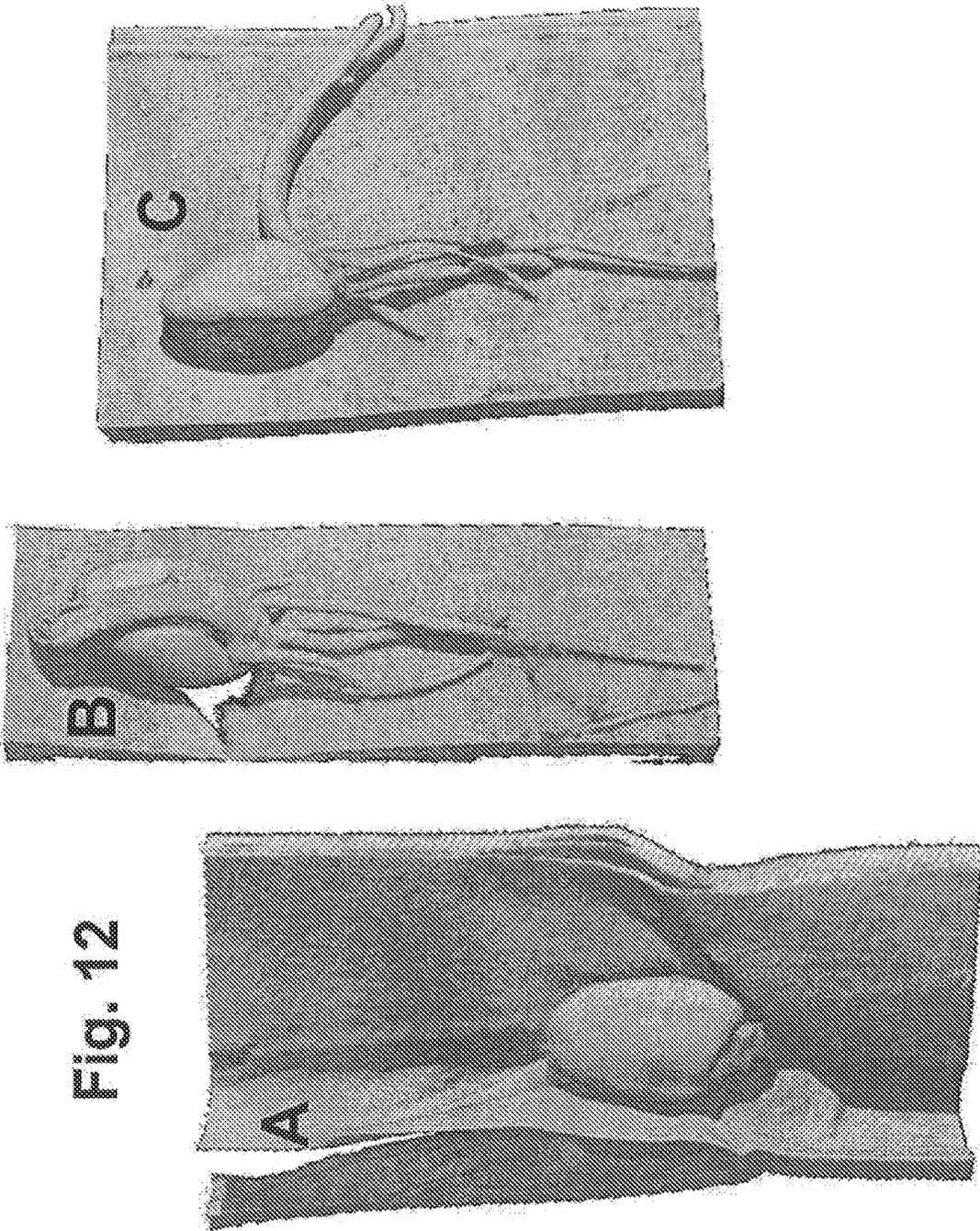
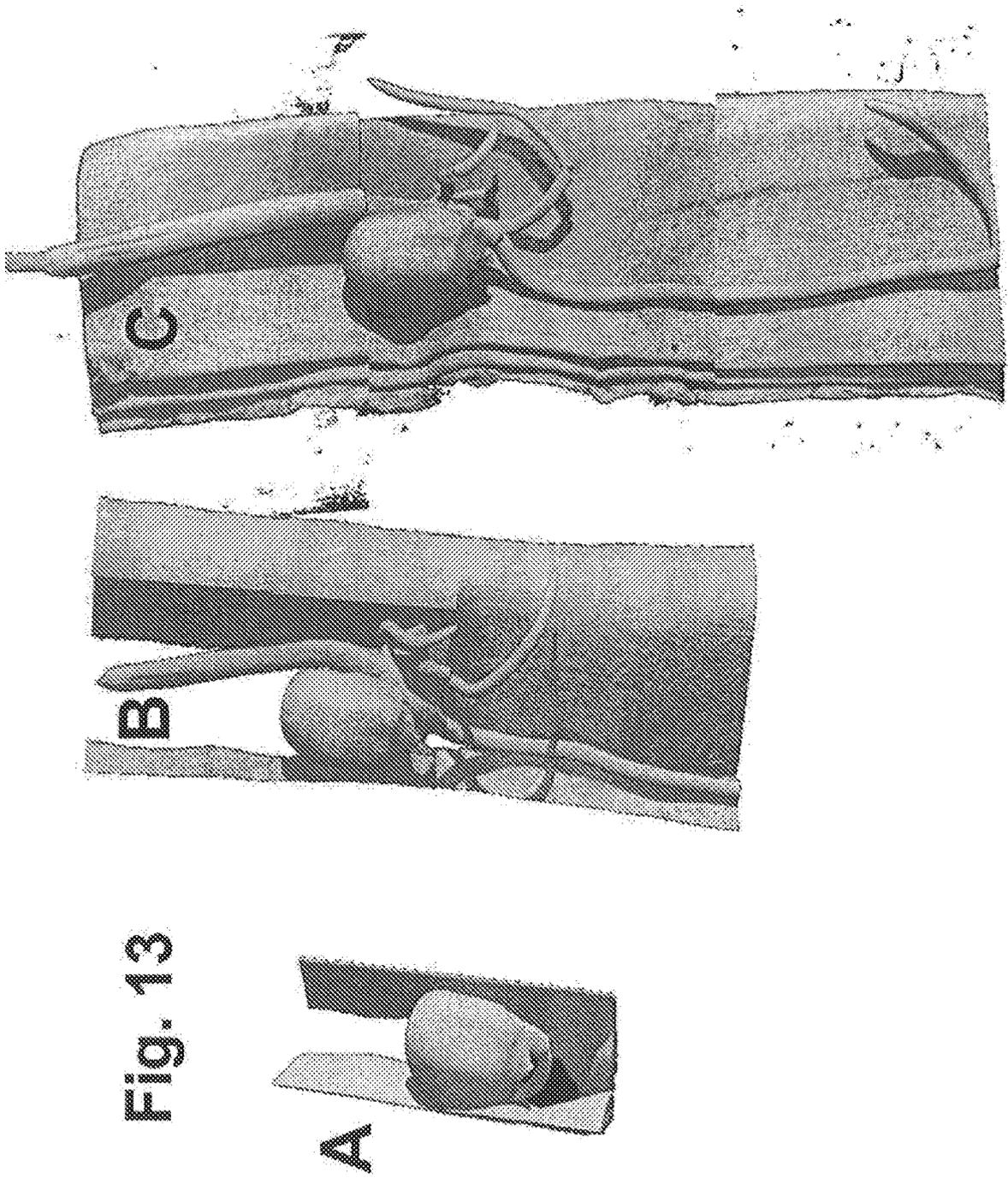
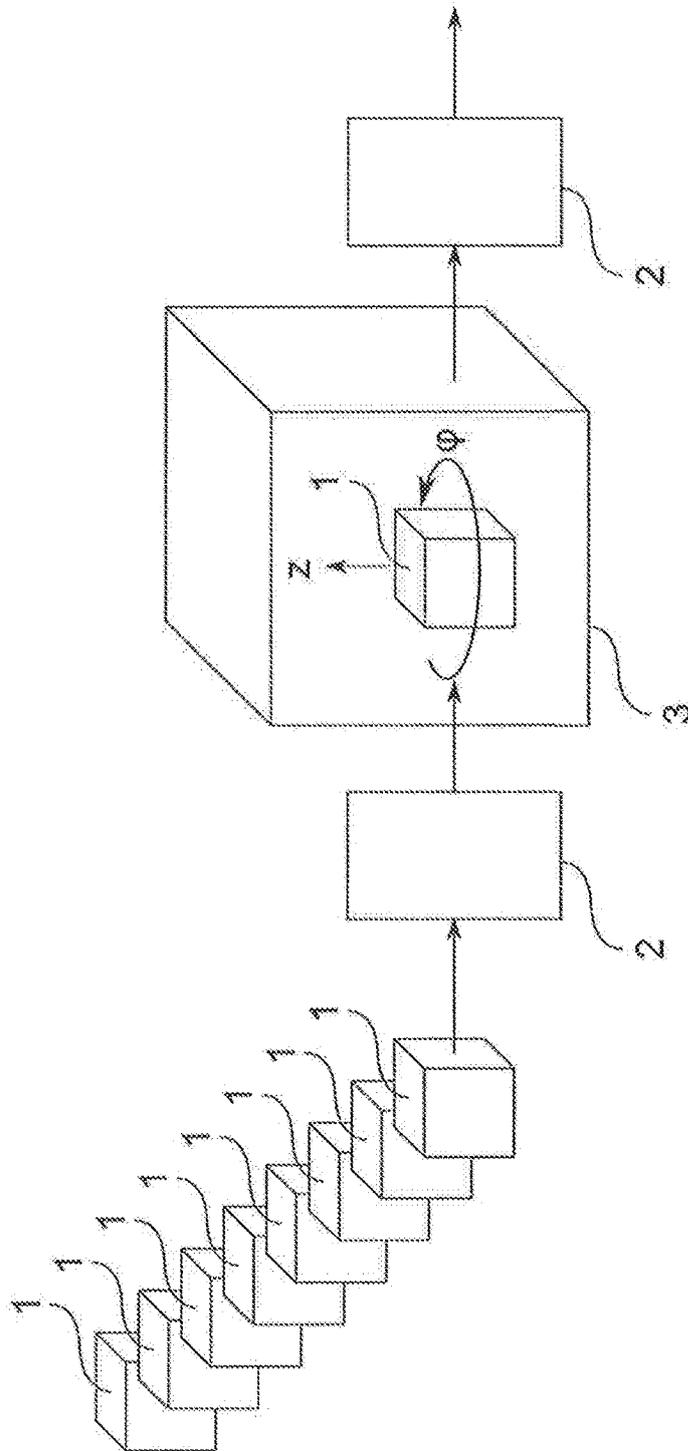


Fig. 12



**Fig. 13**



**Fig. 14**