

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 719**

51 Int. Cl.:

**A01C 1/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.04.2013 PCT/SE2013/050475**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.11.2014 WO14178762**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.04.2013 E 13883452 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2991468**

54 Título: **Método mejorado para imprimación de semillas**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.10.2018**

73 Titular/es:  
**ROBUST SEED TECHNOLOGY A&F  
AKTIEBOLAG (100.0%)  
Mastgränden 2  
224 74 Lund, SE**

72 Inventor/es:

**SHEN, TONGYUN**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 686 719 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**

Método mejorado para imprimación de semillas

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un método de imprimación de semillas, que incluye la inmersión de una semilla en una solución acuosa y su posterior incubación. Además, la invención se refiere a un dispositivo para incubar la semilla.

10

**Antecedentes**

La influencia de la calidad de la semilla en la producción final de los cultivos es bien conocida. La imprimación de semillas es una forma natural y ecológica de mejorar el rendimiento de las semillas. Es efectivo para semillas con baja y alta capacidad de germinación. En la imprimación de las semillas, las reacciones metabólicas básicas necesarias para que germine la semilla ocurren en condiciones de alta humedad, suficiente oxígeno y temperatura adecuada. El proceso de germinación típicamente se interrumpe secando la semilla imprimada antes de la emergencia radical, es decir, antes de que se complete el proceso de germinación. Después del secado, la semilla imprimada puede empacarse, almacenarse, distribuirse y plantarse de la misma manera que las semillas no tratadas.

15

Como se ha establecido, la imprimación de semillas tiene varias ventajas para la producción de cultivos y la siembra de bosques. La semilla imprimada normalmente produce una emergencia más rápida y uniforme en comparación con la semilla sin imprimación. Además, las semillas imprimadas germinaron mejor en un amplio rango de temperaturas, condiciones de campo adversas, tales como la salinidad y la disponibilidad limitada de agua, que las semillas sin imprimación. La imprimación también mostró un efecto sobre la dormancia de las semillas de descomposición en muchas especies vegetales. El aumento final de producción mediante la imprimación de las semillas puede conducir a mayores ganancias justificando el gasto adicional del tratamiento de imprimación en muchas especies. Por lo tanto, existe una necesidad de métodos de imprimación de semillas.

25

30

Los métodos de sensibilización de la técnica incluyen hidroimprimación, imprimación osmótica e imprimación de matriz. Entre estos métodos de imprimación, la hidroimprimación tiene la ventaja de que se ahorra tanto el costo de los productos químicos/matriz usados durante la imprimación como el trabajo para eliminar estos materiales después de la imprimación. Sin embargo, la hidroimprimación necesita una técnica más precisa tanto para producir buenos resultados como para evitar que las semillas germinen durante el tratamiento de imprimación.

35

Para evitar que las semillas germinen durante la imprimación, el agua suministrada a la semilla y el tiempo de incubación deben controlarse estrictamente.

40

El documento JP 7289021 divulga un proceso para unificar el período de inicio de germinación de una semilla y proporcionar una semilla revestida de alto rendimiento capaz de tener un rendimiento de germinación estabilizado y mejorado. En el proceso divulgado, la semilla se sumerge en agua para hacer que el contenido de agua de la semilla sea  $\geq 30\%$  en peso seco. La semilla preparada se retiene en un ambiente de fase de vapor que tiene una humedad relativa de  $\geq 50\%$  hasta justo antes de la germinación para proporcionar un método para unificar el período de inicio de germinación de la semilla.

45

El documento US 6.421.956 divulga un método y aparato para tratar semillas con un fluido, en particular agua, que implica el uso de un gas que contiene fluido, por lo que la semilla se pone en contacto con un gas que tiene un contenido fluido controlado y la semilla se mantiene en contacto con el gas durante un período definido, mientras que el contacto directo entre la semilla y el fluido en forma líquida queda sustancialmente excluido. Antes de exponerse a un gas que contenga fluido, la semilla puede humedecerse para disminuir la presión osmótica de la semilla.

50

En ambos métodos, si las semillas se saturaron al entrar en contacto con agua/fluido, el tiempo de incubación debe controlarse estrictamente para evitar la germinación de las semillas durante la imprimación. Si las imbibiciones fueron abortadas antes de que las semillas se saturaran, la limitación del agua, especialmente del embrión, que generalmente se encuentra dentro del endosperma o el pericarpio, limita el efecto de imprimación. Quitar las semillas demasiado pronto de las imbibiciones puede llevar a un rendimiento de germinación incluso peor que las semillas sin imprimación.

55

60

Además, los métodos de imprimación en la técnica se divulgan en el documento WO 94/05145, que se refiere a un proceso para proporcionar semillas pregerminadas que comprenden radicales emergidos tolerantes a la desecación, el documento WO 2009/002162, que se refiere a un método para eliminar los inhibidores de germinación de las semillas de planta, y el documento US 5.119.589, que se refiere a la imprimación de semillas mediante hidratación progresiva en un tambor giratorio.

65

Por lo tanto, existe una necesidad de un método de imprimación de semillas que supere las deficiencias de la técnica.

**Sumario**

5 En consecuencia, la presente invención busca mitigar, aliviar, eliminar o eludir una o más de las deficiencias identificadas anteriormente en la técnica y las desventajas individualmente o en cualquier combinación proporcionando un método de imprimación de semillas, en el que las semillas a imprimir se sumergen en una solución acuosa y se eliminan una vez que las semillas se hayan saturado con agua. El tiempo de inmersión es al menos igual al tiempo requerido para que la semilla entre en la fase II de germinación, pero más corto que el tiempo requerido para que la semilla entre en la fase III de germinación. Antes de incubar las semillas bajo una atmósfera de aire que tenga una humedad relativa de al menos 95%, pero menos de 100%, se reduce el contenido de agua de las semillas.

15 Al saturar las semillas con agua, las semillas están provistas de suficiente agua para que se inicien y procedan los procesos metabólicos. Para evitar que las semillas completen el proceso de germinación, se reduce el contenido de agua.

20 Otro aspecto de la invención se refiere a un dispositivo para incubar una semilla de acuerdo con la reivindicación 10 y de acuerdo con tal método. Tal dispositivo comprende un tambor de volteo giratorio sustancialmente horizontal con una tapa. La tapa se proporciona en sentido descendente con medios para suministrar agua a un flujo de aire fresco a través de la tapa y el tambor, y medios para eliminar las gotas de agua del flujo de aire/agua. Además, el tambor está provisto de una salida de gas. Tal dispositivo proporciona condiciones óptimas para que las semillas se sometan a los procesos de preparación antes de la germinación completa mediante el suministro de humedad alta y estable, suministren oxígeno suficiente y eliminen el gas desfavorable para cada semilla.

Otras características ventajosas de la invención se definen en las reivindicaciones dependientes. Además, las características ventajosas de la invención se elaboran en realizaciones divulgadas en el presente documento.

30 **Breve descripción del dibujo**

La única figura en el dibujo adjunto es un boceto de un dispositivo de volteo para realizar un paso de incubación en un método de acuerdo con la invención.

35 **Descripción detallada de las realizaciones preferidas**

La absorción de agua por una semilla seca madura durante el proceso de germinación es trifásica. Durante la fase inicial (fase I, imbibición), se produce una absorción rápida de agua hasta que se alcanza una fase de meseta (fase II, fase de retraso). Durante la fase de retraso esencialmente no se toma agua. Una vez que se ha completado la fase de retraso, se inicia la fase III (germinación, emergencia radical) y el agua una vez más es absorbida por la semilla. Una vez que las semillas están en contacto con el agua, se inician una serie de procesos metabólicos que preparan las semillas para la germinación, que se producen durante la fase de embebimiento y la fase de retraso (fase II). El órgano más activo durante todo el proceso de germinación es el embrión, por lo tanto, la absorción eficiente de agua del embrión es muy importante.

45 Para evitar la germinación en los procesos en la técnica (véanse los documentos JP 7289021 y US 6.421.956), en el que las semillas se sumergen en agua y posteriormente se incuban bajo una atmósfera que tiene una humedad relativa alta, es de importancia extrema controlar el tiempo de inmersión, la presión osmótica de la solución acuosa y el tiempo de incubación. Si alguno de estos parámetros se omite, existe el riesgo de que las semillas germinen durante el proceso de imprimación.

50 Al acortar el tiempo de inmersión, el contenido de humedad puede mantenerse a un nivel inferior al requerido para que la semilla entre en la fase II de la germinación. Además, ciertas semillas, tales como una semilla de una especie de endosperma, como tomate, pimienta, cebolla, ricino y trigo, semillas de una especie de gimnosperma, como pino silvestre, picea noruega y ginkgo biloba, o especies con pericarpio, como la remolacha azucarera, la zanahoria y varias especies de pasto, tienen un transporte retrasado del agua desde el endosperma hasta el embrión de las semillas, o desde el pericarpio hasta la semilla dentro del pericarpio. El acortamiento del tiempo de inmersión limitará la absorción de agua del embrión (en el caso de semillas de endosperma) o semillas (en el caso de semillas con pericarpio). Esto implica el riesgo de obstaculizar las reacciones metabólicas que tienen lugar durante la fase de germinación, ya que el órgano de semilla situado dentro de la semilla, como el embrión, no ha entrado completamente en la fase II. Si se usa un tiempo de inmersión demasiado corto, las semillas pueden incluso germinar más pobres que las semillas sin imprimación (ambas con mayor tiempo de germinación y menor capacidad de germinación).

65 En los procesos de imprimación de semillas en los que se permite que la semilla se sature con agua, es necesario un control estricto de la fase de incubación para evitar la germinación. Típicamente, la incubación se aborta mucho

antes de que la preparación metabólica para la germinación haya terminado. Por lo tanto, no se obtiene la imprimación completa.

5 El presente inventor ha descubierto que el riesgo de germinación durante la imprimación puede minimizarse reduciendo el contenido de humedad de las semillas una vez embebidas y saturadas con agua, por lo que tanto el embrión como el endosperma rodeado tienen suficiente agua para comenzar el proceso de preparación para la germinación. Sin embargo, la germinación completa se previene mediante la reducción del contenido de humedad de la semilla.

10 Durante la reducción de humedad después de la imbibición completada, la mayor parte de la pérdida de humedad ocurre en el órgano superficial de las semillas, como endosperma (en el caso de semillas endospermicas y semillas de gimnospermas) y pericarpio (en el caso de semillas rodeadas con parte de fruta). Mientras está en el embrión, que es el órgano más activo e importante de la semilla, el contenido de humedad seguirá siendo suficiente para un proceso metabólico completo un tiempo más prolongado después de la reducción de la humedad ya que el transporte de agua entre los órganos de la semilla lleva tiempo.

15 Una ventaja de tal reducción de humedad posterior a la imbibición es que el proceso de germinación metabólica puede continuar casi hasta su finalización, pero la terminación de la germinación, es decir, la penetración de radicales a través de la superficie de la semilla, se inhibe debido a la superficie dura más seca de las semillas. Saturar la semilla con agua proporciona a la semilla agua suficiente para comenzar el proceso de preparación para la germinación, mientras que la germinación completa se previene reduciendo el contenido de humedad de la semilla.

20 De acuerdo con la invención, se proporciona un método de imprimación de semillas, en el que se permite que la semilla se sature con agua durante el paso de inmersión y no requiera un control estricto del tiempo de incubación posterior. En tal método, el contenido de agua de la semilla se reduce después del paso de inmersión. Al reducir el contenido de agua, la fase III de la germinación no se iniciará aunque aumente el tiempo de incubación.

25 En dicho método, primero se proporciona una semilla a imprimir. Típicamente, la semilla está seca o al menos esencialmente seca. La semilla se sumerge en una solución acuosa y se elimina una vez que se ha saturado con agua. Se descubrió que sumergir las semillas en una solución acuosa era una forma efectiva de saturar rápidamente las semillas con agua. Además, la inmersión implica que todas las semillas que se sumergen tienen acceso ilimitado al agua y, por lo tanto, pueden absorber agua de forma efectiva.

30 Hormonas estimulantes, como giberelinas, BAP, nutrientes de las plantas, como Microplan, y/o sales, tales como  $K_2NO_3$ ,  $CaCl_2$ ,  $NaCl$ , pueden estar presentes en la solución acuosa. Tales aditivos pueden contribuir a romper la dormancia de las semillas y producir plántulas resistentes y tolerantes al estrés.

35 La inmersión de las semillas en agua con la consiguiente reducción de la humedad puede eliminar eficazmente los inhibidores del crecimiento/germinación presentes en el pericarpio, como la remolacha azucarera, como la zanahoria.

40 El tiempo de inmersión debe ser al menos igual al tiempo requerido para que la semilla entre en la fase II de germinación, pero menor que el tiempo requerido para que la semilla entre en la fase III de germinación.

45 El lapso de tiempo para el paso de inmersión para una semilla determinada puede determinarse experimentalmente, por ejemplo, mediante la inmersión de semillas secas de una especie de interés y posteriormente determinando el contenido de humedad de las semillas, de acuerdo con la regla ISTA. Una vez que las semillas entran en contacto con el agua, las semillas comienzan a absorber agua hasta que se hayan saturado. Por lo tanto, se puede determinar el período de tiempo para saturar la semilla, que corresponde al límite inferior para el paso de inmersión. El límite superior de tiempo puede determinarse incubando semillas saturadas hasta que tenga lugar la germinación. Una vez que surge un radical, se considera que ha tenido lugar la germinación. La diferencia entre el límite inferior y superior corresponde al tiempo necesario para que germine una semilla, una vez saturada con agua.

50 La solución acuosa típicamente se airea durante el paso de inmersión. Excepto el agua, el oxígeno también es esencial para que las semillas completen la germinación. Al igual que la absorción de agua, la absorción de oxígeno también tiene tres fases: la fase aguda de absorción de oxígeno (fase I) es simultánea al aumento de la hidratación/imbibición. Durante esta fase, el oxígeno se atribuye a la activación de las enzimas de la respiración; durante la fase de retraso (fase II), la absorción de oxígeno es más lenta que la fase I, pero aumenta durante toda la fase en relación con la respiración de las nuevas mitocondrias sintetizadas; un segundo consumo agudo de oxígeno (fase III) simultáneamente con la emergencia radical.

55 La escasez de suministro de oxígeno durante el período de germinación puede conducir a una menor producción de energía, lo que limitará el proceso metabólico durante la germinación. La grave deficiencia de oxígeno puede conducir a la fermentación, lo que inhibirá la germinación de la semilla. Además, la acumulación de  $CO_2$  durante el

proceso de germinación también puede limitar, o inhibir seriamente la respiración de las semillas, y por lo tanto, limitar el resultado de imprimación.

5 Para satisfacer la demanda de oxígeno durante las imbibiciones, el presente método, de acuerdo con una realización, usó una solución acuosa aireada en el paso de inmersión para optimizar el efecto de imprimación.

10 Después del paso de inmersión, el contenido de agua se reduce en 1 a 10% en peso, preferiblemente en 2 a 8% en peso. El contenido de agua puede reducirse en aproximadamente 5% en peso. Se puede usar secado con aire que tenga una humedad relativa baja, tal como menos del 40%. Además, el vacío o la centrifugación a baja velocidad en una RCF (fuerza centrífuga relativa) de no más de 500, o una combinación de los mismos también se pueden usar para reducir el contenido de agua. El secado puede realizarse a temperatura ligeramente elevada, como a una temperatura entre 25 y 35 °C.

15 Cabe señalar que, para las semillas de endosperma y las semillas de gimnosperma, el embrión está protegido/rodeado por el endosperma. Para las especies de perisperma, como la remolacha azucarera, el embrión está protegido por el pericarpio, que es una parte muerta que cubre/protege el interior de la semilla. Este tipo de semillas son, por lo tanto, más tolerantes al estrés físico. Además, el tiempo de inmersión es típicamente relativamente corto. En consecuencia, los procesos biológicos no han progresado mucho una vez que se aborta la inmersión. Por lo tanto, las medidas suaves de reducción de la humedad aplicadas no mostraron ningún efecto negativo en la germinación posterior de semillas de endosperma y semillas con pericarpio.

20 Una vez que se ha reducido el contenido de agua de la semilla saturada, la semilla se incuba para la preparación metabólica para la germinación completa. Las semillas se incuban bajo una atmósfera de aire que tiene una humedad relativa de al menos 95% pero menos de 100%. Durante la incubación, la atmósfera del aire se reemplaza de manera continua o discontinua. El aire tiene un contenido de oxígeno de 15 a 25% en volumen, preferiblemente aproximadamente 21% en volumen. Para que la preparación metabólica para la germinación sea lo más larga posible, el tiempo de incubación se puede seleccionar para que sea igual o mayor que el tiempo necesario para que germine una semilla saturada con agua. El tiempo necesario para que germine una semilla saturada de agua puede determinarse como se describe anteriormente.

30 Como se mencionó anteriormente, excepto el agua, el oxígeno también es esencial para que las semillas completen la germinación. Los niveles más bajos de oxígeno o la falta de suministro de oxígeno durante el período de germinación pueden conducir a una menor producción de energía a partir de la respiración, lo que limitará el proceso metabólico. La grave deficiencia de oxígeno puede conducir a la fermentación, lo que inhibirá la germinación de la semilla. Por lo tanto, las semillas se incuban en una atmósfera de aire, a través de la cual se proporciona a las semillas oxígeno para el proceso de respiración.

35 Con el fin de proporcionar condiciones esencialmente iguales para cada semilla en el paso de incubación, si varias semillas se van a imprimir simultáneamente, como suele ser el caso, la semilla puede ser volteada durante el paso de incubación. Tal volteo puede realizarse en un tambor giratorio provisto de deflectores. Una realización se refiere a un tambor giratorio provisto de deflectores para incubar semillas de acuerdo con el presente método.

En la figura única del dibujo adjunto se muestra un dispositivo de volteo para realizar el paso de incubación.

45 Las semillas que se van a incubar se colocan en un tambor 1 de volteo sustancialmente horizontal, preferiblemente provisto de uno o más deflectores 2 o similares para agitar las semillas durante la rotación del tambor 1. El tambor 1 está provisto de salidas 3 de gas con un tamaño que impide la salida de semillas del tambor. El tambor 1 también puede estar inclinado, el eje de rotación se desvía menos de 30°, tal como menos de 20° o menos de 10°, desde el plano horizontal.

50 El tambor 1 está provisto de una tapa 4 de cierre, que también contiene medios para suministrar aire y humedad al tambor. La tapa 4 puede estar conectada de forma roscada o de otro modo al tambor 1 de forma estanca. Se proporciona una entrada 5 para aire fresco en la tapa 4. Esta entrada puede estar conectada a un soplador de aire fresco, por lo tanto (no mostrado), que tiene medios para controlar la presión del gas.

55 Como aparecerá, el tambor 1 está dispuesto para ser girado, lo que significa que debe permitirse la rotación relativa entre el tambor 1 y la tapa 4 o, preferiblemente, entre la tapa 4 y la entrada 5 de una manera bien conocida por cualquier persona experta en la técnica. En el último caso, la entrada 5 está preferiblemente dispuesta centralmente en la superficie de extremo de la tapa 4, como se muestra en la figura.

60 Los medios para suministrar agua, tal como uno o más recipientes 6 de agua, están dispuestos dentro de la entrada 5 en la tapa 4 junto con un filtro 7 de esponja, de modo que el agua se sumerge en el filtro de esponja y el aire fresco es obligado a pasar a través del filtro 7 de esponja con agua saturada y absorber agua. Los recipientes 6 de agua pueden reponerse ocasionalmente o conectarse a una fuente de agua externa. Alternativamente, el filtro 7 de esponja puede mantenerse saturado con agua de otra manera.

65

La corriente de aire que entra al tambor 1 a través del filtro 7 saturado de agua solo tendrá un contenido de humedad apropiado, es decir, una humedad relativa de al menos 95% pero menos de 100%, y no deberá contener ninguna gota de agua. Por esta razón, los medios para eliminar las gotas de agua del flujo de aire/agua, por ejemplo en forma de una membrana semipermeable 8 de, por ejemplo, GoreTex®, están dispuestos en la tapa 4 aguas abajo del filtro 7. Una red de nylon o similar 9 puede estar dispuesta aguas abajo de la membrana semipermeable 8 para evitar el contacto directo entre las semillas y la membrana semipermeable para mantener la permeabilidad de la membrana semipermeable.

El tambor 1 preferiblemente se debe girar durante el proceso de incubación. Esto puede conseguirse por medio de un soporte 10, que se representa en la parte inferior de la figura y sobre el cual se colocará el tambor 1 con la tapa 4, como se indica mediante flechas verticales.

El soporte 10 tiene varillas 11 de accionamiento articuladas giratoriamente, una o ambas que pueden girarse por medio de un motor eléctrico 12 o similar. La velocidad de rotación es preferiblemente baja, digamos 1-2 rpm. El tambor 1 puede estar provisto de bandas 13 de fricción para su acoplamiento con las varillas 11 de accionamiento, que también pueden tener un revestimiento de fricción o similar.

La incubación en el tambor se controla mediante un indicador de presión de aire (no mostrado) de tal forma que se alcanza la humedad relativa deseada y el contenido de oxígeno.

Durante la fase de absorción de agua y la fase de retraso, durante la cual tienen lugar varios procesos metabólicos, la semilla consume oxígeno. Además, se emiten varias sustancias gaseosas. Por lo tanto, puede ser ventajoso continuamente, o discontinuamente, reemplazar la atmósfera de aire durante el paso de incubación. El dispositivo de volteo divulgado en el presente documento tiene medios para reemplazar continuamente la atmósfera de aire durante el paso de incubación.

Además, el oxígeno está siendo consumido por la semilla también durante los procesos metabólicos iniciados durante la primera fase de germinación (fase I). Por lo tanto, puede ser ventajoso airear la solución acuosa durante el paso de inmersión. Además, la aireación puede contribuir a facilitar la difusión de diversos componentes durante el paso de inmersión y a una absorción más uniforme del agua por las semillas.

Después del paso de incubación, se puede sembrar la semilla imprimada. Más comúnmente, sin embargo, el contenido de agua de la semilla imprimada se reducirá después del paso de incubación, para permitir el almacenamiento y el transporte de la semilla imprimada. Las semillas pueden estar deshidratadas, es decir, el contenido de agua reducido, secando las semillas con aire. La humedad relativa del aire es baja, como  $\leq 40\%$ , como alrededor del 25%. Además, el secado puede realizarse a temperatura ligeramente elevada, tal como a una temperatura entre 25 y 35 °C. El contenido de agua de las semillas se reduce preferiblemente al mismo nivel que antes de la inmersión.

Se pueden imprimir varios tipos de semillas usando el método de imprimación divulgado en el presente documento. El método es especialmente adecuado para imprimir semillas de una especie de endosperma, como tabaco, tomate, pimiento, ricino, cebolla, trigo; una especie de gimnosperma, como pino, abeto, ginkgo biloba; y una semilla de perisperma con/sin pericarpio, como la remolacha azucarera. La semilla que se obtiene por el método divulgado en el presente documento tendrá un tiempo medio de germinación reducido, una mayor capacidad de germinación y/o una mejor emergencia del suelo exterior y rendimiento en el campo.

Sin una elaboración adicional, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción anterior, utilizar la presente invención en su máxima extensión. Las realizaciones específicas preferidas descritas en el presente documento, por lo tanto, deben interpretarse como meramente ilustrativas y no limitativas del resto de la descripción de ninguna manera. Además, aunque la presente invención se ha descrito anteriormente con referencia a realizaciones específicas, no se pretende que esté limitada a la forma específica expuesta en el presente documento. Más bien, la invención está limitada solo por las reivindicaciones adjuntas y, otras realizaciones que las específicas anteriores son igualmente posibles dentro del alcance de estas reivindicaciones adjuntas, por ejemplo, diferentes de las descritas anteriormente.

En las reivindicaciones, el término "comprende/que comprende" no excluye la presencia de otros elementos o pasos. Adicionalmente, aunque las características individuales pueden incluirse en diferentes reivindicaciones, estas pueden posiblemente combinarse ventajosamente, y la inclusión en diferentes reivindicaciones no implica que una combinación de características no sea factible y/o ventajosa.

Además, las referencias singulares no excluyen una pluralidad. Los términos "un", "una", "primero", "segundo", etc. no excluyen una pluralidad.

**Experimental**

Los siguientes ejemplos son meros ejemplos y no deben interpretarse de ninguna manera para limitar el alcance de la invención. Más bien, la invención está limitada solo por las reivindicaciones adjuntas.

Determinación del tiempo de inmersión

5 El tiempo de inmersión se determinó mediante determinación del contenido de humedad de acuerdo con la norma ISTA (International Seed Test Association (asociación internacional de prueba de semillas), determinación del contenido de humedad en las normas internacionales para pruebas de semillas) (en un intervalo determinado hasta que el contenido de humedad de las semillas no aumentó aún más). Para el pasto azul de Kentucky, el contenido de  
10 humedad de las semillas no aumentó más después de 135 minutos. Por lo tanto, se determina que el tiempo de inmersión es de 135 minutos. Después de la inmersión, también se puede determinar el contenido de humedad de la semilla, como para el pasto azul de Kentucky al 50%.

Determinación del tiempo de incubación

15 El tiempo necesario para que la semilla germine, una vez saturada con agua, se determinó incubando la semilla sin primero reducir su contenido de agua. Para el pasto azul de Kentucky, se determinó que el tiempo necesario para que germine la semilla, una vez que se haya saturado con agua, es de 84 horas.

20 Inmersión

Las semillas (páprika 20g, trigo 500g, pino silvestre 100g, pasto azul de Kentucky 400g) se sumergieron en una cubeta con agitación discontinua manual en agua (5 veces la cantidad de semillas p/p) aireadas con burbujas de aire fresco para un predeterminado tiempo de inmersión (véase arriba), como 135 minutos para el pasto azul de  
25 Kentucky

Reducción de agua intermedia

30 La humedad de las semillas se redujo mediante centrifugación durante 6 minutos a RCF = 500, y el secado en condiciones ambientales de RH del 35% hasta el contenido de humedad de las semillas es 5% inferior al contenido de humedad de las semillas completamente saturadas. Tal como al 45% para el pasto azul de Kentucky.

Incubación

35 Después de la reducción de humedad, las semillas se colocaron en un dispositivo de volteo (véase el dibujo adjunto) y se incubaron bajo atmósfera de aire con una humedad relativa del 95% durante un tiempo de incubación determinado (véase arriba), como 84 horas para el pasto azul de Kentucky.

Secado

40 Después de la incubación, las semillas se secaron a temperatura ambiente con 30% de HR a 30 °C hasta que el contenido de humedad de las semillas se redujo a la misma humedad que antes de la inmersión, como 8,9%, para el pasto azul de Kentucky.

45 Imprimación de semillas

50 La imprimación se realizó de acuerdo con el método descrito anteriormente para las 4 especies (páprika, trigo, pino silvestre y pasto azul de Kentucky). El tiempo de incubación, el contenido de humedad de incubación (MC) de las semillas, el contenido de humedad de la semilla seca (MC) y el tiempo de inmersión se determinaron de acuerdo con los métodos descritos anteriormente y resumidos en la tabla 1.

Tabla 1. Datos de tratamiento de imprimación

Categoría	Especie	MC* de semilla seca (%)	Tiempo de inmersión (min)	MC* de incubación (%)	Tiempo de incubación (hora)
Vegetal	Pimentón	11,7	90	50	75
Cosecha	Trigo	14	240	30	24
Bosque	Pino silvestre	6,5	250	30	60
Pasto	Pasto azul de Kentucky	8,9	135	50	84

\*MC = contenido de humedad

55 Resultados - Rendimiento de imprimación

## ES 2 686 719 T3

El efecto de imprimación sobre la disminución del tiempo medio de germinación (MGT), el aumento de la capacidad de germinación (GC), así como el tiempo de emergencia de la plántula, la longitud de la plántula y el peso fresco de la plántula para las diversas especies de semillas se presentan en la tabla 2. El tamaño de la plántula (longitud de la plántula y peso fresco de la plántula) proporcionado en la tabla 2 fue el peso de varios números de plántulas y la longitud de las plántulas registradas después de varios períodos de tiempo como se indica a continuación:

- 5 - pimentón, longitud día 16, peso 30 plántulas;
- 10 - trigo, longitud día 8, peso, 10 plántulas;
- pino silvestre, longitud día 15, peso 30 plántulas; y
- pasto azul de Kentucky, longitud día 15, peso 40 plántulas.
- 15 Como puede verse en la tabla 2, el método de imprimación actual disminuyó significativamente el MGT y mejoró la capacidad de germinación (excepto para el trigo, que la GC mantuvo igual que las semillas sin imprimación). La imprimación actual también mejoró significativamente el rendimiento de emergencia al aire libre, como el corto plazo de emergencia y el aumento del tamaño de las plántulas.
- 20 Tabla 2. Efecto de imprimación sobre el tiempo de germinación, la capacidad de germinación y la longitud de la plántula y el peso de la plántula

Categoría	Especies	Tratamiento	Germinación de laboratorio				Emergencia de suelo			Peso fresco (g)
			MGT (h)	Disminución MGT (%)	GC% imprimada	Aumento GC (%)	Tiempo de conteo primero (día)	Control de tiempo de conteo primero GC(%)	Longitud de la plántula (mm)	
Vegetal	Pimentón	Imprimado	104,7±3,8	36,1	94±1,4	8	11,5	86,7±14	55	1,08
		Control	164±1,9		86±1,4		14,5	26,5±9,2	20	0,38
Cosechas	Trigo	Imprimado	64,6±0,3	18,9	86±2,8	0	4,1	72,5±17	77	1,51
		Control	87,7±0,1		86±0		4,1	25±0	50	1,41
Silvicultura	Pino silvestre	Imprimado	89,9±0,6	16,5	99±0,7	4	8,8	43,4±4,7	56	1,12
		Control	107,7±1,8		95±2,1		9,8	4,9±2,3	45	0,93
Pasto	Pasto azul de Kentucky	Imprimado	137,5±8,6	41,9	92,7±2,1	5,4	7	66,7±12	52,5	0,61
		Control	236,8±8,1		87,3±2,3		11	5,8±5,8	12,5	0,38

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un método de imprimación de semillas que comprende los pasos de:
- 5 - proporcionar una semilla seca para ser imprimada;
- sumergir dicha semilla en una solución acuosa;
- 10 - eliminar la semilla de la solución acuosa una vez que la semilla ha sido saturada con agua, en el que el tiempo de inmersión al menos es igual al tiempo requerido para que la semilla entre en la fase II de germinación, pero más corto que el tiempo requerido para que la semilla entre en la fase III de germinación;
- reducir el contenido de agua de la semilla en 1 a 10% en peso; e
- 15 - incubar la semilla en una atmósfera de aire con una humedad relativa de al menos el 95%, pero menos de 100%.
- 2.- El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha semilla es una semilla de una especie de endosperma, de una especie de gimnosperma, de una especie de perisperma o una semilla con un pericarpio.
- 20 3.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el tiempo de inmersión es igual al tiempo requerido para que la semilla entre en la fase II de germinación.
- 4.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la solución acuosa se airea, y opcionalmente se agita de forma continua o discontinua, durante el paso de inmersión.
- 25 5.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el contenido de agua se reduce en 2 a 8% en peso, en el paso de reducir el contenido de agua de la semilla saturada con agua.
- 30 6.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la semilla se incuba durante un período de tiempo igual o mayor que el tiempo necesario para que germine una semilla, una vez saturada con agua.
- 7.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la semilla está siendo volteada durante el paso de incubación.
- 35 8.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicha atmósfera se reemplaza continua o discontinuamente durante el paso de incubación.
- 9.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además el paso de reducir el contenido de agua de la semilla después del paso de incubar la semilla.
- 40 10.- Un dispositivo para incubar una semilla de acuerdo con el método de acuerdo con la reivindicación 1 en una atmósfera de aire con un contenido de oxígeno de preferiblemente 21% y una humedad relativa de al menos 95%, pero menos de 100%, comprendiendo el dispositivo un tambor (1) de volteo giratorio sustancialmente horizontal, o inclinado, con una tapa (4), en el que el tambor (1) está provista de salida (3) de gas, en el que el eje de rotación del tambor se desvía menos de 30° del plano horizontal, caracterizado porque la tapa (4) es provista en orden descendente con medios (6, 7) para suministrar agua a un flujo de aire fresco a través de la tapa (4) y el tambor (1), y medios (8) para eliminar gotas de agua del flujo de aire/agua.
- 45 11.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la tapa (4) está provista de una entrada (5) de aire fresco, un filtro (7) de esponja saturado de agua y una membrana semipermeable (8) para eliminar las gotas de agua del flujo de aire/agua.
- 50 12.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el tambor (1) es girado por medio (11) de varillas de accionamiento, accionadas por un motor (12).
- 55

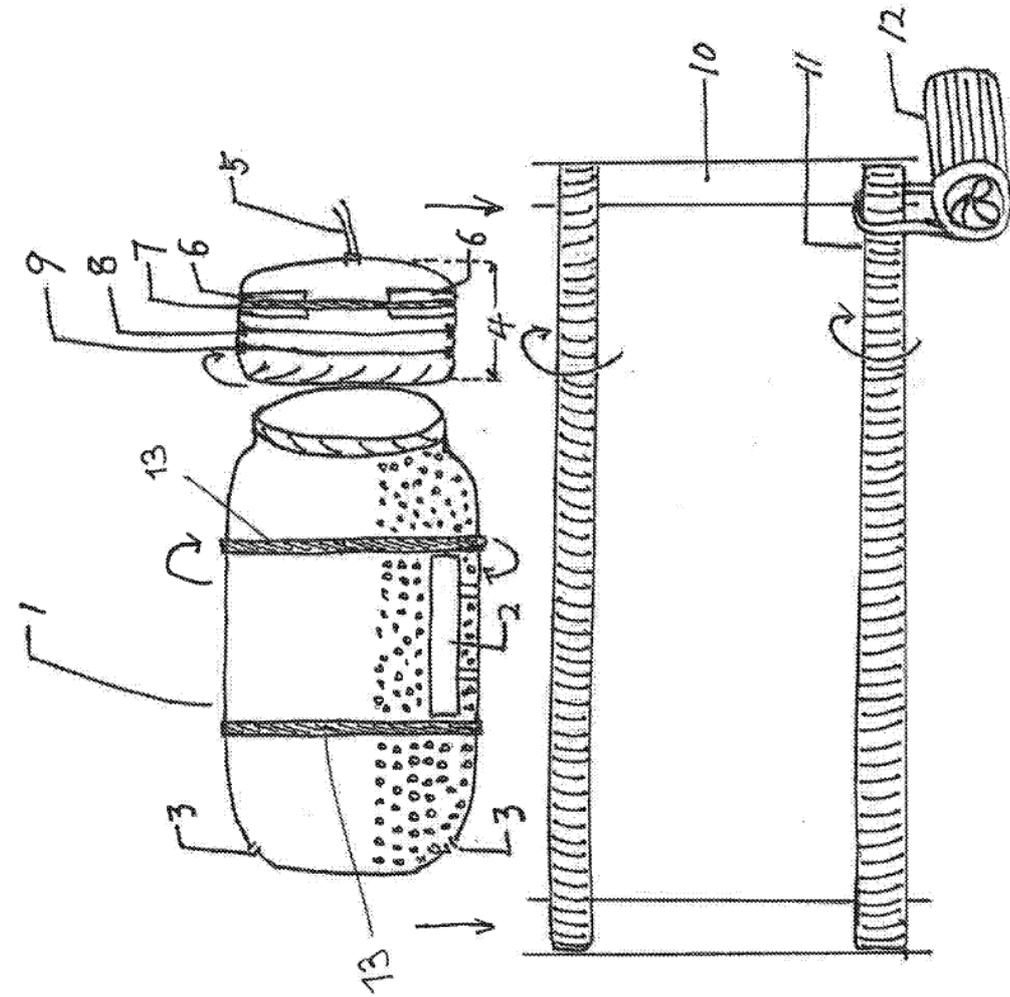


FIG. 1