

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 278**

51 Int. Cl.:

A01C 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2015 PCT/NL2015/050109**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.08.2015 WO15126250**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2015 E 15708902 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 3107366**

54 Título: **Pregerminado de semillas**

30 Prioridad:

21.02.2014 EP 14156139

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

15.04.2021

73 Titular/es:

**THERMOSEED GLOBAL AB (100.0%)
Fågelbackvägen 3
756 51 Uppsala, SE**

72 Inventor/es:

**BREUKINK, JANWILLEM;
BRUGGINK, HINDERIKUS;
FORSBERG, GUSTAF ROBERT;
MIZUGUCHI, TOMOKO;
ARWIDSSON, SVEN OLA y
ANDERSSON, SVEN GUNNAR**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 819 278 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

Pregerminado de semillas

La invención se refiere a un método para preparar semillas pregerminadas, un método para mejorar la tasa de germinación de semillas y a un uso de una composición gaseosa.

- 5 La semilla se puede pregerminar para obtener una germinación más rápida y más uniforme, lo que puede dar como resultado un soporte de cultivo más fuerte. El pregerminado también se puede usar para ampliar el intervalo de temperatura en el que la semilla germinará y se puede usar también para romper ciertos tipos de latencia, tales como fotolatenencia y termolatenencia. Los métodos de pregerminado de semillas usados con más frecuencia incluyen pregerminado osmótico, pregerminado hídrico, pregerminado en matriz sólida y pregerminado en tambor.
- 10 El pregerminado osmótico implica sumergir la semilla en una solución de un material osmótico, por ejemplo polietilenglicol. Una desventaja de este método es la necesidad de eliminar los materiales osmóticos usados. El pregerminado con matriz sólida implica la incubación de semillas en presencia de una matriz sólida insoluble con una cantidad limitada de agua y tiene desventajas similares al pregerminado osmótico.
- 15 El pregerminado hídrico implica remojar la semilla en agua antes de la siembra. Típicamente, la semilla se remoja durante varios días a una temperatura inferior a 30 °C, normalmente 15-20 °C. Un ejemplo de pregerminado hídrico de semillas se describe en Rouhi et al., *Annals of Biological Research* 2012, 3 (5), 2479-2485. Las semillas se sumergieron en agua destilada a 15 °C y 25 °C durante 12, 24, 36 y 48 horas en condiciones de oscuridad. El pregerminado en tambor implica la hidratación de las semillas en un tambor que gira lentamente sobre su eje longitudinal horizontal. Se añade agua al tambor de forma suficientemente lenta como para permitir que las semillas la absorban por completo, de modo que se hidratan sin parecer húmedas.
- 20 Akman, *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2009, 8 (2), 358-361, menciona que las altas temperaturas, como se usan en algunos tratamientos con calor seco de semillas para controlar patógenos externos e internos transmitidos por semillas, pueden reducir la viabilidad de las semillas y el vigor de las plántulas. Akman menciona que un tratamiento con calor seco a 40 °C durante 72 horas daba como resultado una menor germinación de semillas y menor vigor de las plántulas en el arroz. También se observó un deterioro de la germinación de las semillas con un tratamiento con calor seco a 60 °C durante 24 horas.
- 25 Waheed et al. (*J. Mater. Environ. Sci.* 2012, 3 (3), 551-560) mencionan que el tratamiento de arroz con calor seco a 50 °C durante 7 y 14 días dio un aumento en la germinación. Una desventaja del tratamiento es la larga duración.
- 30 En general se evita la exposición de la semilla a altas temperaturas y alta humedad relativa porque la expectativa convencional es generalmente que esto reduciría rápidamente la germinación y el vigor de las plántulas (véase, p. ej., Cantliffe, *HortTechnology* 1998, 8 (4), 499-503).
- El documento WO-A-97/38734 describe un procedimiento de tratamiento con calor para desinfectar semillas de patógenos y otros hongos y bacterias indeseables.
- 35 El documento WO-A-99/33331 describe un método para tratar semillas con un fluido, en particular agua. La semilla se puede tratar durante un período de 4-24 horas. En una realización preferida, se usa una humedad relativa de al menos 98%. La temperatura del gas puede estar entre 2 y 40 °C. Según este documento, a temperaturas más altas se pueden producir problemas ya que no todos los tipos de semillas pueden ser resistentes a temperaturas más altas. Una desventaja es que este método requiere un tiempo de tratamiento prolongado.
- 40 Una desventaja de los métodos de pregerminado de semillas conocidos es el tiempo relativamente largo requerido para el tratamiento, que aumenta los costes y hace que los métodos sean económicamente poco atractivos para aplicaciones a gran escala, en particular para cultivos grandes tales como arroz y trigo.
- El objetivo de la invención es proporcionar un método de pregerminado de semillas que sea rápido, eficaz, energéticamente eficiente y técnica y económicamente adecuado para la aplicación a gran escala.
- 45 Se ha encontrado que este objetivo se alcanza al menos en parte mediante un método de pregerminado de semillas que comprende exponer las semillas a una atmósfera de tratamiento que tiene una temperatura y humedad relativa particulares.
- Por tanto, en un primer aspecto, la invención se refiere a un método para preparar semilla pregerminada, que comprende sucesivamente: proporcionar una semilla capaz de germinar, exponer dicha semilla a una atmósfera de tratamiento durante un tiempo de exposición de al menos 1 segundo, en donde la atmósfera de tratamiento tiene una
- 50 humedad relativa de 50% o más y una temperatura de 50 °C a 100 °C, y en donde el tiempo de exposición tiene una duración de 30 minutos o menos, y enfriar y opcionalmente secar dicha semilla.
- El método de la invención permite ventajosamente pregerminar la semilla en un procedimiento rápido que es adecuado para aplicar a gran escala. Otra ventaja que se puede obtener es prevenir o mitigar las semillas duras. Las semillas

duras son semillas que les impide germinar una cubierta de la semilla impermeable al agua que puede inhibir la germinación de la semilla de algunas especies. Una ventaja adicional del método es que permite una duración corta del tratamiento y niveles de hidratación limitados.

5 El término "semilla" como se usa en la presente memoria se refiere al óvulo maduro de gimnospermas y angiospermas, que contiene un embrión rodeado por una envuelta protectora, la cubierta de la semilla (testa). Algunas semillas comprenden una cubierta de pericarpio o fruta alrededor de la cubierta de la semilla. En particular, cuando esta capa está muy adherida a la semilla, en algunos casos se denomina una cariósida (grano de cereal) o un aquenio. Se pueden aplicar capas adicionales a la semilla, tales como un recubrimiento de película, y por incrustación o granulación.

10 La expresión "método para preparar semilla pregerminada" incluye métodos que logran uno o más de mejora de la tasa de germinación de las semillas, mejora de la sincronía de germinación de las semillas, un intervalo de temperatura más amplio para la germinación y liberación de latencia. Los métodos de pregerminado de semillas normalmente excluyen el alargamiento por el eje embrionario, en particular la emergencia de la radícula. La emergencia del eje embrionario (normalmente la radícula) se puede usar para reconocer que se ha producido la germinación de una
15 semilla.

Aunque el pregerminado de la semilla a veces se ha definido en la técnica como que implica el control del nivel de hidratación dentro de las semillas de manera que se pueda producir la actividad metabólica necesaria para la germinación, el método de pregerminado de semillas de la invención no está restringido a ningún mecanismo particular a modo de teoría. Más bien, el método de pregerminado de semillas se caracteriza por la exposición a una atmósfera
20 de tratamiento que tiene una temperatura y humedad relativa particulares y por los efectos sobre la germinación de la semilla.

El término "germinación", como se usa en la presente memoria, se refiere al proceso en el que el eje embrionario emerge de las estructuras que lo rodean. Normalmente, esto corresponde a una radícula que emerge de la testa y/o el pericarpio.

25 La expresión "tasa de germinación", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la fracción de semillas, p. ej., de un lote de semillas en particular, que germina durante un período dado, por ejemplo, un período de la mitad del período necesario para que se complete la germinación. Las mediciones de la tasa de germinación y otros parámetros descriptivos de los procesos de germinación se describen en Ranal y De Santana, *Revista Brasil. Bot.* 2006, 29 (1), 1-11.

30 La expresión "sincronía de germinación", como se usa en la presente memoria, pretende referirse al recíproco de la varianza del tiempo de germinación de la semilla en una muestra dada. Los valores altos de sincronía de la germinación indican un tiempo de germinación más concentrado.

La expresión "evolución temporal de la germinación", como se usa en la presente memoria, pretende referirse al desarrollo de la fracción de semillas germinadas en función del tiempo después de la siembra.

35 La expresión "atmósfera de tratamiento", como se usa en la presente memoria, pretende referirse a la fase gaseosa que tiene una temperatura y humedad relativa particulares a las que se expone la semilla.

La expresión "humedad relativa", como se usa en la presente memoria, pretende referirse a la relación de la presión parcial del vapor de agua en la fase gaseosa a la presión de vapor saturado del agua a la temperatura de la atmósfera de tratamiento.

40 La expresión "tiempo de exposición", como se usa en la presente memoria, se refiere a la duración de la exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento.

45 El método comprende proporcionar una semilla que es capaz de germinar. Las semillas adecuadas incluyen semillas no germinadas, preferiblemente no pregerminadas. Opcionalmente, la semilla puede estar desprovista de cáscara (semilla descascarillada o semilla descascarada). En un aspecto opcional no limitante de la invención, la semilla se proporciona como semilla esencialmente exenta de patógenos.

Preferiblemente, las semillas se proporcionan a una temperatura de -10 °C a +30 °C, más preferiblemente de 0 °C a 25 °C, directamente antes de la exposición a la atmósfera de tratamiento.

Preferiblemente, las semillas se proporcionan de manera que la exposición posterior a la atmósfera de tratamiento sea homogénea.

50 Preferiblemente, el método comprende una primer etapa para determinar que las semillas necesitan pregerminado. Preferiblemente, el método comprende seleccionar un lote de semillas que necesita pregerminado de las semillas y proporcionar dicho lote de semillas seleccionado.

El método comprende exponer la semilla a una atmósfera de tratamiento durante un tiempo de exposición particular, en donde la atmósfera de tratamiento tiene una humedad relativa y temperatura particulares.

5 Preferiblemente, la atmósfera de tratamiento tiene una humedad relativa de 70% o más, incluso más preferiblemente de 80% o más, o 90% o más. Preferiblemente, la atmósfera de tratamiento tiene una humedad relativa de 100% o menos. El uso de una atmósfera de tratamiento con dicha humedad relativa permite ventajosamente reducir la cantidad de evaporación de la semilla durante el procesamiento. En algunos aspectos, mejora cierta absorción de agua controlada que puede tener lugar directamente del vapor o de una capa fina de agua condensada sobre la superficie de la semilla.

10 La atmósfera de tratamiento puede estar saturada o sobresaturada con vapor de agua. Opcionalmente, la atmósfera de tratamiento puede comprender vapor sobrecalentado. La atmósfera de tratamiento comprende preferiblemente una mezcla de aire y vapor de agua. La atmósfera de tratamiento se puede preparar, por ejemplo, mezclando aire y vapor. La atmósfera de tratamiento se proporciona típicamente en forma de una fase gaseosa estacionaria o fluida, preferiblemente una corriente de gas, que comprende, por ejemplo, aire y vapor de agua.

15 Típicamente, la atmósfera de tratamiento alcanza una humedad relativa de 100%, al menos en partes del lecho de semillas. El método generalmente comprende transferir calor del vapor contenido en la atmósfera de tratamiento a la semilla. El método comprende opcionalmente la condensación de vapor de agua de la atmósfera de tratamiento sobre la semilla, al menos temporalmente. Esto puede contribuir ventajosamente a la transferencia de calor eficiente a la semilla. La condensación puede dar como resultado la formación de una película líquida fina de agua sobre la semilla. La película se puede, por ejemplo, absorber en la superficie de la semilla de forma controlada. El método comprende
20 opcionalmente evaporar dicha película líquida fina de agua durante la fase de enfriamiento y opcionalmente secar. El método también puede comprender opcionalmente la transferencia directa de calor y humedad del aire a la semilla, sin condensación de agua.

La atmósfera de tratamiento tiene una temperatura de 50-100 °C, preferiblemente 55-80 °C. Opcionalmente, la atmósfera de tratamiento tiene una temperatura de más de 55 °C o más de 80 °C. También es posible una temperatura de más de 100 °C, cada uno de estos intervalos de temperatura por ejemplo en combinación con presiones mayores que 1 bar, por ejemplo 1,1 bar o más, 1,5 bar o más, 2 bar o más, 3 bar o más, 5 bar o más, normalmente menos de
25 10 bar.

Preferiblemente, la temperatura y/o la temperatura del punto de rocío de la atmósfera de tratamiento se mantienen sustancialmente constantes, tal como dentro de un intervalo de +/- 5 °C o menos, más preferiblemente +/- 2 °C o menos, incluso más preferiblemente +/- 0,5 °C o menos, para dicho tiempo de exposición, es decir para un período con una duración de al menos 1 segundo, al menos 10 segundos, al menos 30 segundos, al menos 60 segundos o uno de los otros valores especificados como tiempo de exposición preferido, en un intervalo con una anchura total de preferiblemente 10 °C o menos, más preferiblemente 4 °C o menos, incluso más preferiblemente 1 °C o menos.

30 Por consiguiente, la atmósfera de tratamiento se puede describir preferiblemente como "caliente y húmeda". Por otro lado, preferiblemente se evita la exposición a una atmósfera de tratamiento "caliente y seca". Por ejemplo, preferiblemente se evita una exposición de la semilla de más de 5 segundos a una atmósfera caliente y seca de más de 40 °C y menos de 45% de humedad relativa. De la misma manera, se evita preferiblemente una exposición de la semilla de más de 10 segundos a una atmósfera caliente y seca de más de 50 °C y menos del 60% de humedad relativa.

40 El tiempo de exposición tiene una duración de 30 minutos o menos. Preferiblemente, el tiempo de exposición es 20 minutos o menos, más preferiblemente 10 minutos o menos, tal como de 10 segundos a 10 minutos, o 30-300 segundos, o 60-300 segundos, o 90-180 segundos, en combinación con una temperatura de 50-100 °C, preferiblemente 55-80 °C. Preferiblemente, la semilla se expone continuamente a una atmósfera de tratamiento durante dicho período. Un método preferido adicional comprende una exposición pulsada a la atmósfera de
45 tratamiento, que comprende dos o más, tal como tres, cuatro, cinco, diez o más exposiciones a dicha atmósfera de tratamiento, por ejemplo, cada una de 1 a 60 segundos, intercaladas con exposiciones a atmósferas más frías, por ejemplo de 1-60 segundos. Dicha exposición pulsada se puede llevar a cabo, por ejemplo, alternando enfriamiento y calentamiento.

50 Preferiblemente, la atmósfera de tratamiento comprende una corriente de gas, que tiene un caudal de 0-5 m/s justo antes y/o después de la capa de semillas, de forma más óptima 0,5-3 m/s, típicamente 1-2,5 m/s.

El procedimiento puede ser un procedimiento o continuo o un procedimiento discontinuo. En un procedimiento discontinuo, la semilla se proporciona preferiblemente en una cámara de procesamiento y la exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento comprende preferiblemente introducir una atmósfera de tratamiento en la cámara de procesamiento en donde está presente la semilla. La cámara de tratamiento discontinuo preferiblemente es un
55 recipiente cerrado con inyección de aire húmedo o vapor antes, después o simultáneamente con la introducción de las semillas. Otra cámara preferida es un recipiente abierto donde el gas de tratamiento fluye a través del recipiente desde una entrada a una salida. El recipiente está equipado preferiblemente con un dispositivo o disposición para mezclar que puede remover las semillas y el gas para una mayor uniformidad. Preferiblemente, la exposición tiene

lugar durante la fluidización de las semillas, por lo tanto en un lecho fluidizado. Otro lecho de semillas preferidos es un lecho fijo de capa fina.

5 En un procedimiento continuo, la exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento se lleva a cabo preferiblemente moviendo la semilla sobre un lecho de semillas a través de una cámara de procesamiento que comprende la atmósfera de tratamiento. El movimiento de las semillas se puede llevar a cabo, por ejemplo, por transporte neumático, por transporte por gravedad, por fluidización o por transporte mecánico (por ejemplo, un tornillo sinfín, un transportador de sacudidas/vibratorio, un transportador de cadena, un transportador de cinta o un tambor giratorio o un elevador) o una combinación de estos. La duración de la exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento típicamente es igual al tiempo de permanencia de la semilla en la cámara de procesamiento y se puede controlar, por ejemplo, a través de la velocidad de un lecho de semillas en movimiento, tal como un transportador de cadena a través de la cámara de procesamiento.

10 Típicamente, la semilla se expone uniformemente a la atmósfera de tratamiento. Preferiblemente, la superficie de la semilla se expone uniformemente de modo que generalmente todas las partes de la superficie de una semilla se exponen a la atmósfera de tratamiento durante sustancialmente el mismo tiempo. En un procedimiento continuo, la semilla se expone preferiblemente a la atmósfera de tratamiento mientras la semilla está sobre o en un lecho continuo fluidizado vibratorio. La velocidad de transporte típicamente se controla mediante un transportador de cadena integrado. Además, las semillas se pueden proporcionar como una capa sobre un lecho de semillas en movimiento, en donde se puede soplar una corriente de gas de tratamiento como atmósfera de tratamiento desde abajo a través del lecho de semillas en movimiento a una cámara de procesamiento.

15 Para aumentar la eficiencia energética, preferiblemente el método se lleva a cabo en un sistema que está cerrado con respecto a una corriente de gas, preferiblemente recirculando la atmósfera de tratamiento en un circuito cerrado. Además, la corriente de gas usada para enfriar y/o secar se puede recircular para recuperar parte de la energía de calentamiento, potencialmente combinada con una trampa de humedad del aire para reducir la humedad del aire. Preferiblemente, la energía de calentamiento también se puede recuperar por intercambio de calor entre los gases de entrada y de escape.

20 Preferiblemente, la atmósfera de tratamiento tiene una temperatura de 50-100 °C y una humedad relativa de 80% o más, y el tiempo de exposición es de 1 segundo a 10 minutos, preferiblemente 5-300 segundos.

25 Para cereales, muchas semillas de hortalizas, arroz y otros cultivos, la atmósfera de tratamiento preferiblemente tiene una temperatura de 50-95 °C, más preferiblemente 55-80 °C, más preferiblemente en combinación con una humedad relativa de 70-100%, más preferiblemente 80-100%, incluso más preferiblemente 90-100%; lo más preferiblemente en combinación con un tiempo de exposición de 30-600 segundos, más preferiblemente 60-300 segundos. Se usa un tiempo de exposición de aproximadamente 2 minutos (60-180 segundos), tal como para cereales y semillas de hortalizas, preferiblemente en combinación con una atmósfera de tratamiento a 55-80 °C.

30 Para la semilla de alfalfa y otras especies más tolerantes al calor, la temperatura está preferiblemente en el intervalo de 60-90 °C, preferiblemente en combinación con la misma humedad relativa y tiempos de exposición preferidos.

35 Sin querer estar limitados por ninguna teoría, los buenos resultados obtenidos con estos tratamientos se pueden producir al menos en parte por el ablandamiento de las semillas duras.

40 Preferiblemente, la semilla tiene una temperatura del núcleo de 20-50 °C durante al menos parte del tiempo de exposición, preferiblemente al final del tiempo de exposición. Preferiblemente, la temperatura en el núcleo de las semillas se mantiene por debajo de 90 °C durante todo el procedimiento de pregerminado, más preferiblemente por debajo de 70 °C o por debajo de 50 °C. Esto proporciona la ventaja de que no se daña la germinación.

45 Preferiblemente, el contenido de agua de la semilla cambia, preferiblemente aumenta, durante el tiempo de exposición en menos de 10% en peso basado en el peso de la semilla antes de la exposición, más preferiblemente en 1-5% en peso. Opcionalmente, el contenido de agua no cambia. Este cambio limitado del contenido de agua proporciona ventajosamente mejores propiedades de germinación.

El método comprende típicamente una fase de enfriamiento y opcionalmente de secado, en donde la semilla se enfría y se seca después de la exposición a la atmósfera de tratamiento.

50 Esta fase de enfriamiento y secado opcional típicamente comprende exponer la semilla a una atmósfera de enfriamiento y secado. La atmósfera de enfriamiento y la atmósfera de secado pueden ser iguales o diferentes. El secado y enfriamiento se pueden llevar a cabo sucesiva o parcial o completamente simultáneamente entre sí. Preferiblemente, la fase comprende una primera etapa de enfriamiento y secado combinados y después una etapa de enfriamiento final. Típicamente, la etapa de enfriamiento y secado combinados comprende la exposición de la semilla a una atmósfera de secado, típicamente con una humedad relativa de 50% o menos, más preferiblemente de 20% o menos, y una temperatura por debajo de la temperatura de tratamiento, pero más alta que la ambiente, típicamente 30-45 °C. La atmósfera de secado típicamente es aire. La etapa de enfriamiento final típicamente comprende la exposición de la semilla a una atmósfera con una temperatura de 30 °C o menos, preferiblemente no más de 5 °C por encima de la temperatura ambiente, o alrededor de la temperatura ambiente, pero más preferiblemente más baja, por

ejemplo 10 °C más baja. que la temperatura ambiente. La etapa de enfriamiento comprende preferiblemente la exposición de la semilla al aire ambiente o aire enfriado típicamente a 10-25 °C. Dicha etapa de enfriamiento final también se puede aplicar sin una etapa combinada de enfriamiento/secado. La semilla se enfría típicamente a temperatura ambiente, o a menos de 5 °C por encima de la temperatura ambiente, o hasta la temperatura de almacenamiento. La fase de enfriamiento se lleva a cabo preferiblemente directamente después de la exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento. Preferiblemente, el enfriamiento se lleva a cabo al menos parcialmente con una velocidad de enfriamiento de 5 °C/min o más, tal como 10 °C/min o más; por ejemplo en una etapa de enfriamiento inicial de enfriamiento de 5-20 °C en 1 minuto o menos.

Preferiblemente, la fase de enfriamiento comprende exponer la semilla a una atmósfera que tiene una temperatura de 45 °C o menos cuando la atmósfera de tratamiento tiene una temperatura de 50 °C o más. Opcionalmente, el final de la exposición a la atmósfera de tratamiento está determinado por el inicio de una exposición de la semilla a una atmósfera diferente que tiene una temperatura de hasta 45 °C y/o una humedad relativa de 45% o menos. En el caso de un tratamiento discontinuo, el enfriamiento tiene lugar opcionalmente en la misma cámara en la que tiene lugar el tratamiento, o en dos o más cámaras diferentes. Opcionalmente, al menos las últimas partes de la fase de secado y enfriamiento tienen lugar en un silo, tolva o un secador o refrigerador externo.

Típicamente, el método comprende una etapa adicional de retirar las semillas enfriadas y opcionalmente secadas de la cámara de procesamiento o de una cámara de enfriamiento y/o secado. El método comprende además opcionalmente envasar la semilla, típicamente en un envase que es convencional para semillas pregerminadas. El método puede comprender además almacenar la semilla tratada. Se prefieren las condiciones de almacenamiento para la semilla pregerminada para almacenar la semilla tratada. Por ejemplo, la semilla tratada se puede almacenar a 2-10 °C, más preferiblemente a aproximadamente 5 °C. Esto proporciona una vida en anaquel mejor en comparación con el almacenamiento a temperaturas más altas. Las semillas también se pueden almacenar con las mismas condiciones de almacenamiento que las semillas convencionales no pregerminadas, por ejemplo, a temperatura ambiente. Esto proporciona menores costes de almacenamiento. Preferiblemente, la semilla se almacena y se lleva a cabo una prueba de germinación de modo regular en la semilla almacenada, por ejemplo, 6 meses después del tratamiento y luego cada tres meses. La semilla además se puede sembrar y germinar, beneficiándose así del efecto de pregerminado.

La semilla puede ser cualquier tipo de cultivo. La semilla puede ser del orden *Monocotyledoneae* o del orden *Dicotyledoneae*. Los ejemplos preferidos del orden *Monocotyledoneae* son semilla de arroz y trigo, *Triticum aestivum*. Más preferiblemente, la semilla es una semilla de arroz seleccionada del grupo que consiste en *Oryza sativa japonica*, *Oryza glaberrima javanica*, *Oryza sativa indica*, *Zizania palustris* e híbridos de las mismas.

Las semillas adecuadas incluyen además semillas de soja, algodón, cereales, cacahuete, maíz, trigo, cebada, avena, centeno, triticale, mostaza, girasol, remolacha azucarera, cártamo, mijo, achicoria, lino, colza, trigo sarraceno, tabaco, semilla de cáñamo, alfalfa, pasto pará, trébol, sorgo, garbanzo, judías, guisantes y algarroba.

Las semillas adecuadas incluyen semillas de hortalizas, semillas de hierbas, semillas de flores silvestres, semillas de plantas ornamentales y semillas de pastos y semillas de árboles y arbustos. Ejemplos de semillas de hortalizas incluyen espárragos, cebolletas, apio, puerro, ajo, remolacha, espinaca, acelga, col rizada, coliflor, brócoli germinado, col de Milán, col blanca, col lombarda, colinabo, col china, nabo, endibia, achicoria, sandía, melón, pepino, pepinillo, calabacín, perejil, hinojo, guisante, judías, rábano, salsifí negro, berenjena, maíz dulce, maíz para palomitas, zanahoria, cebolla, tomate, pimiento, lechuga, judías verdes, cucurbitáceas, chalote, brócoli y coles de Bruselas.

Las semillas opcionalmente se granulan o recubren, por ejemplo en el caso de remolacha azucarera y raíz de achicoria. Dicho recubrimiento por ejemplo puede proteger las semillas de daños o puede reducir el polvo o puede mejorar la plantabilidad aumentando las características de flujo. Ventajosamente, el recubrimiento puede comprender uno o más ingredientes activos, por ejemplo agentes fungicidas, agentes bactericidas, agentes insecticidas, agentes nematocidas, agentes moluscidas, biocidas, desinfectantes, microorganismos, raticidas, agentes para malas hierbas (herbicidas), agentes atractores, agentes repelentes, reguladores del crecimiento de las plantas, nutrientes (tales como nitrato de potasio, sulfato de magnesio, quelato de hierro), fitohormonas, minerales, extractos de plantas, acaricidas o mitocidas, molusquicidas, estimulantes de la germinación, feromonas, preparaciones biológicas, quitosano, preparaciones basadas en quitina, etc. El recubrimiento puede implicar un recubrimiento de película o granulación. Opcionalmente, la semilla comprende una composición de recubrimiento como se describe en el documento WO-A-2011/028115, cuyo contenido se incorpora aquí completamente por referencia.

El método para preparar semillas pregerminadas según la invención se puede combinar con métodos de pregerminado convencionales, por ejemplo pregerminado osmótico, pregerminado hídrico, pregerminado en matriz sólida y pregerminado en tambor. Éstos se pueden llevar a cabo, por ejemplo, antes del método de la invención. Preferiblemente, sin embargo, estos métodos de pregerminado convencionales se pueden llevar a cabo después del método de la invención.

El método comprende preferiblemente una etapa de llevar a cabo una prueba previa y una etapa de optimización de los parámetros de exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento.

5 La etapa de prueba previa comprende preferiblemente tomar una muestra representativa de un lote de semillas y medir una o más propiedades de la semilla de la muestra representativa o submuestras representativas de la misma. Las propiedades adecuadas incluyen el tamaño, volumen, contenido de humedad y masa de la semilla. Como parte de la prueba previa, se puede medir la evolución temporal de la germinación de semillas sin tratar. La etapa de prueba
10 previa también puede comprender determinar una evolución temporal probable de la germinación en caso de que el lote de semillas se sembrara como semillas no pregerminadas, basándose en evoluciones temporales de germinación conocidas de semillas no pregerminadas con propiedades similares a las determinadas para la muestra. La etapa de prueba previa puede comprender además determinar una evolución temporal probable de la germinación en caso de que la semilla se expusiera a la atmósfera de tratamiento en ciertas condiciones, basándose en evoluciones temporales de germinación conocidas de semillas con propiedades similares a las determinadas para la muestra y expuestas a la atmósfera de tratamiento en esas condiciones.

15 La etapa de optimización puede comprender determinar una diferencia entre una evolución temporal de germinación prevista obtenida en la etapa de prueba previa y una evolución temporal de germinación deseada y ajustar uno o más parámetros de la exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento basándose en esta diferencia. La etapa de optimización comprende preferiblemente ajustar uno o más parámetros de dicha exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento basándose en una o más relaciones preestablecidas entre dichos parámetros y un cambio deseado en una evolución temporal de la germinación. Los parámetros adecuados incluyen la temperatura, la humedad relativa y el caudal de la atmósfera de tratamiento y el tiempo de exposición, así como los parámetros de secado y enfriamiento.

20 Generalmente, los parámetros se optimizan para obtener una evolución temporal de germinación deseada de dicha semilla, en particular para obtener una tasa de germinación y/o sincronía de germinación deseadas.

El procedimiento comprende preferiblemente proporcionar una evolución temporal de germinación deseada, determinar la evolución temporal de germinación real de una o más muestras pregerminadas o no pregerminadas de dicho lote de semillas, determinar las diferencias entre dicha evolución temporal de germinación deseada y real y
25 cambiar uno o más parámetros de la exposición de la semilla a la atmósfera de tratamiento.

Por ejemplo, la etapa de prueba previa puede comprender medir el tamaño medio de las semillas de la muestra y la etapa de optimización puede comprender, en el caso de una muestra de semillas con un tamaño relativamente grande, aumentar la duración de la exposición, basado en una relación preestablecida que indica que las semillas más grandes requieren una exposición más prolongada con el fin de ser suficientemente pregerminadas. Preferiblemente, el método
30 comprende una prueba previa en la que muestras representativas se someten a las etapas del método de la invención, y uno o más parámetros seleccionados de temperatura, humedad y caudal de la atmósfera de tratamiento y el tiempo de exposición se varían entre submuestras representativas de un lote de semillas. Se prueba el rendimiento de las semillas, incluyendo la germinación y/o el vigor de las submuestras tratadas. El método comprende entonces determinar los parámetros del procedimiento óptimos para el tratamiento del volumen del lote de semillas.

35 Por tanto, un método preferido comprende:

- tomar una muestra representativa de un lote de semillas,
- dividir dicha muestra en submuestras representativas,
- exponer dichas submuestras a al menos una atmósfera de tratamiento, en donde uno o más parámetros seleccionados del tiempo de exposición y la temperatura, humedad relativa y caudal de la atmósfera de
40 tratamiento se varían entre las submuestras,
- determinar el tiempo de germinación y el vigor de la semilla de las submuestras tratadas y opcionalmente una submuestra de control no tratada,
- determinar los valores óptimos para dichos parámetros basándose en dicho tiempo de germinación y vigor de la semilla determinados,

45 y después pregerminar un volumen de dicho lote de semillas:

- proporcionando dicho volumen de dicho lote de semillas,
- exponiendo dicho volumen de dicho lote de semillas a una atmósfera de tratamiento con dichos parámetros optimizados determinados, preferiblemente dentro de los intervalos de temperatura, humedad y tiempo de exposición, y otros parámetros del procedimiento como se describe en la presente memoria,
- 50 - enfriando y opcionalmente secando dicho volumen de dicho lote de semillas, preferiblemente como se describe en la presente memoria.

La invención también se refiere a un método para mejorar la tasa de germinación de la semilla que comprende pregerminar la semilla de acuerdo con el método para preparar semilla pregerminada descrito en la presente memoria. Mejorar la tasa de germinación de la semilla típicamente comprende aumentar la tasa de germinación de la semilla.
55 Preferiblemente, mejorar la tasa de germinación de la semilla comprende mejorar la sincronía de germinación de la semilla, en particular aumentar la sincronía de germinación de la semilla. Preferiblemente, la mejora en la tasa de germinación es independiente de la carga de patógenos de las semillas, tal como se observa con semillas exentas de patógenos.

En otro aspecto más, la invención se refiere al uso de una composición gaseosa que comprende aire y vapor de agua en una cantidad de 50% o más de humedad relativa para pregerminar semillas a 50-100 °C, preferiblemente como atmósfera de tratamiento en un método de la invención. Por tanto, la composición gaseosa tiene una temperatura de 50-100 °C. Preferiblemente, la composición comprende vapor de agua al 60% de humedad relativa o más, más preferiblemente al 70% o más, incluso más preferiblemente al 80% o más, o al 90% o más. Preferiblemente, la composición gaseosa comprende vapor de agua a una humedad relativa de 100% o menos, por ejemplo de 95% o menos. El uso también puede ser el uso de dicha composición gaseosa como composición de pregerminado de semillas y/o el uso para obtener el efecto de pregerminado de semillas.

Preferiblemente, la composición gaseosa se usa en un método para pregerminar semillas que implica el tiempo de exposición preferido descrito, la temperatura y otros parámetros del procedimiento preferidos como se ha descrito.

La invención se ilustrará ahora con más detalle mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Las figuras 1-7 muestran los resultados experimentales del cambio en la emergencia de las plantas por el método de pregerminado de la invención, medidos como el número de plantas emergidas de macetas con suelo para macetas bajo estrés por frío (vigor de la plántula). El cambio en el número se muestra por cada 100 semillas sembradas. Los valores positivos indican un aumento en el número de plantas, como resultado del método de pregerminado de la invención. Se muestran los resultados para una serie de muestras; las muestras se clasifican en el eje horizontal en un número creciente de plantas. Las semillas usadas eran muestras de semillas de producción de cereales comunes, en las figuras 1, 3, 5 y 7 con niveles normales de patógenos transmitidos por semillas comunes, en particular *Fusarium* spp., *Septoria* spp. y *Microdochium* spp. (trigo) y *Fusarium* spp. y especies de *Helminthosporium* (como *Drechslera* spp. y *Bipolaris*) (avena y cebada).

La figura 1 muestra un aumento en el número de plantas para la avena como efecto del método de la invención (denominado en la figura efecto de pregerminado por calor y vapor). Para la mayoría de las muestras se obtuvo un incremento de más de 10% en el número de plantas. La figura 2 muestra los resultados para la avena para muestras con 5% máx. de infestación total de patógenos. La infestación total de patógenos se refiere a la suma total de los niveles de enfermedad de todos los hongos patógenos que infestan conocidos en las semillas en la muestra. Esto confirma que existe un fuerte efecto de pregerminado, que no es el resultado de ninguna potencial desinfección o supresión de patógenos. Para más de la mitad de las muestras, se obtuvo un aumento de aproximadamente 5% o más. La figura 3 muestra los resultados para el trigo de primavera. Para la mitad de las muestras, se obtuvo un aumento en el número de plantas de aproximadamente 15% o más. La figura 4 muestra los resultados para muestras de trigo de primavera con 5% máximo de infestación total de patógenos. Para más de la mitad de las muestras, se obtuvo un aumento de 6% o más. Esto demuestra que el método tiene un efecto positivo en la emergencia de la planta que supera cualquier potencial efecto causado por la desinfección. La figura 5 muestra los resultados experimentales para el trigo de invierno. Se obtuvo un aumento de aproximadamente 10% o más para más de la mitad de las muestras. La figura 6 muestra resultados experimentales para muestras de trigo de invierno con 5% máx. de infestación total de patógenos. También para este cultivo, estos resultados confirmaron un efecto del pregerminado independiente de cualquier efecto de desinfección. Finalmente, la figura 7 muestra el efecto de pregerminado para la cebada de primavera. Los resultados de las figuras 1-7 demuestran que el efecto de pregerminado no es causado por la potencial desinfestación de la semilla. El efecto de pregerminado del método de la invención produce una influencia mucho más fuerte en el desarrollo de la planta de lo que habría sido el resultado de cualquier desinfestación pura sola, indicando un fuerte efecto fisiológico.

La figura 8 muestra los resultados experimentales del pregerminado de judías (*Phaseolus vulgaris* L.) con el método de la invención. Con el pregerminado, se mejoró la absorción de agua, dando como resultado una disminución en el número de semillas duras y de germinación lenta y un aumento en el número de semillas germinadas cuatro días después de la siembra.

La tabla 1 muestra los resultados de la tasa de emergencia (6 y 7 días) y la emergencia final de la planta (10 días) para 10 cultivares diferentes de arroz. La semilla de arroz se remojó durante 3 días a 15 °C antes de la prueba de germinación real, que implicaba remojar durante 1 día a 32 °C, seguido de la siembra en 140 g de suelo base y 60 g de suelo de cobertura, seguido de 2 días a 32 °C, seguido de crecimiento a 20 °C, hasta los 10 días. Se dan los valores de emergencia. Se observa una tasa de emergencia mejorada los días 6 y 7 para la semilla de arroz pregerminada con el método de la invención. La emergencia final es, en promedio, la misma para la semilla de control y pregerminada, lo que indica que el aumento de la tasa de emergencia en los días 6 y 7 se debe a un efecto de pregerminado.

ES 2 819 278 T3

Tabla 1

Cultivar		Día		
		6	7	Final (10)
Muestra de cultivar 1	control	34	57	96
	pregerminado	77	85	99
Muestra de cultivar 2	control	29	55	98
	pregerminado	57	77	97
Muestra de cultivar 3	control	62	77	97
	pregerminado	82	88	95
Muestra de cultivar 4	control	49	87	97
	pregerminado	70	89	96
Muestra de cultivar 5	control	56	69	97
	pregerminado	69	77	96
Muestra de cultivar 6	control	53	66	98
	pregerminado	66	76	99
Muestra de cultivar 7	control	27	59	99
	pregerminado	51	83	99
Muestra de cultivar 8	control	56	83	98
	pregerminado	65	86	95
Muestra de cultivar 9	control	40	68	97
	pregerminado	49	71	99
Muestra de cultivar 10	control	63	87	98
	pregerminado	80	89	97
Promedios	control	47	71	97
	pregerminado	67	82	97

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar semillas pregerminadas, que comprende sucesivamente:
- proporcionar semilla que es capaz de germinar,
 - exponer dicha semilla a una atmósfera de tratamiento durante un tiempo de exposición de al menos 1 segundo, en donde la atmósfera de tratamiento tiene una humedad relativa de 60% o más y una temperatura de 50 °C a 100 °C, y en donde el tiempo de exposición tiene una duración de 30 minutos o menos, y
 - enfriar y opcionalmente secar dicha semilla.
2. El método según la reivindicación 1, en donde dicha atmósfera de tratamiento tiene una temperatura de 55-80 °C.
3. El método según la reivindicación 1 o 2, en donde la atmósfera tiene una humedad relativa de 80% o más.
4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde dicho tiempo de exposición es de 1 segundo a 10 minutos.
5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la temperatura de la atmósfera de tratamiento se mantiene sustancialmente constante dentro de un intervalo de +/-2 °C para dicho tiempo de exposición.
6. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el contenido de agua de la semilla cambia durante el tiempo de exposición en menos de 10% en peso, basado en el peso de la semilla antes de la exposición.
7. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde dicho enfriamiento comprende exponer dicha semilla a una atmósfera que tiene una temperatura de 45 °C o menos.
8. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el método comprende combinar el secado y enfriamiento de dicha semilla exponiendo dicha semilla a una atmósfera que tiene una humedad relativa de 50% o menos, y una temperatura por debajo de la temperatura de la atmósfera de tratamiento pero mayor que la ambiente, más preferiblemente a una atmósfera que tiene una humedad relativa de 20% o menos.
9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la semilla se proporciona como semilla esencialmente exenta de patógenos.
10. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la semilla comprende granos de cereales o semillas de hortalizas.
11. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende:
- tomar una muestra representativa de un lote de semillas,
 - dividir dicha muestra en submuestras representativas,
 - exponer dichas submuestras a al menos una atmósfera de tratamiento, en donde uno o más parámetros seleccionados del tiempo de exposición y la temperatura, humedad relativa y caudal de la atmósfera de tratamiento se varían entre las submuestras,
 - determinar el tiempo de germinación y el vigor de la semilla de las submuestras tratadas y opcionalmente de una submuestra de control no tratada,
 - determinar los valores óptimos para dichos parámetros basados en dicho tiempo de germinación y vigor de la semilla determinados,
- y después pregerminar el volumen de dicho lote de semillas:
- proporcionando dicho volumen de lote de semillas,
 - exponiendo dicho volumen de dicho lote de semillas a una atmósfera de tratamiento con dichos parámetros optimizados determinados, preferiblemente dentro de los intervalos de temperatura, humedad y tiempo de exposición,
 - enfriando y opcionalmente secando dicho volumen de dicho lote de semillas.
12. El método para mejorar la tasa de germinación de semilla, que comprende pregerminar la semilla según la reivindicación 1-11.
13. Uso de una composición gaseosa que comprende aire y vapor de agua en una cantidad de 60% o más de humedad relativa para pregerminar semillas a 50-100 °C, en donde una duración de la exposición de la semilla a la composición

gaseosa es de 1 segundo hasta 30 minutos.

14. El uso de una composición gaseosa según la reivindicación 13, en un método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-12.

5 15. El uso de una composición gaseosa según la reivindicación 13 o 14, en donde la composición gaseosa tiene una temperatura de 50-100 °C

Figura 1

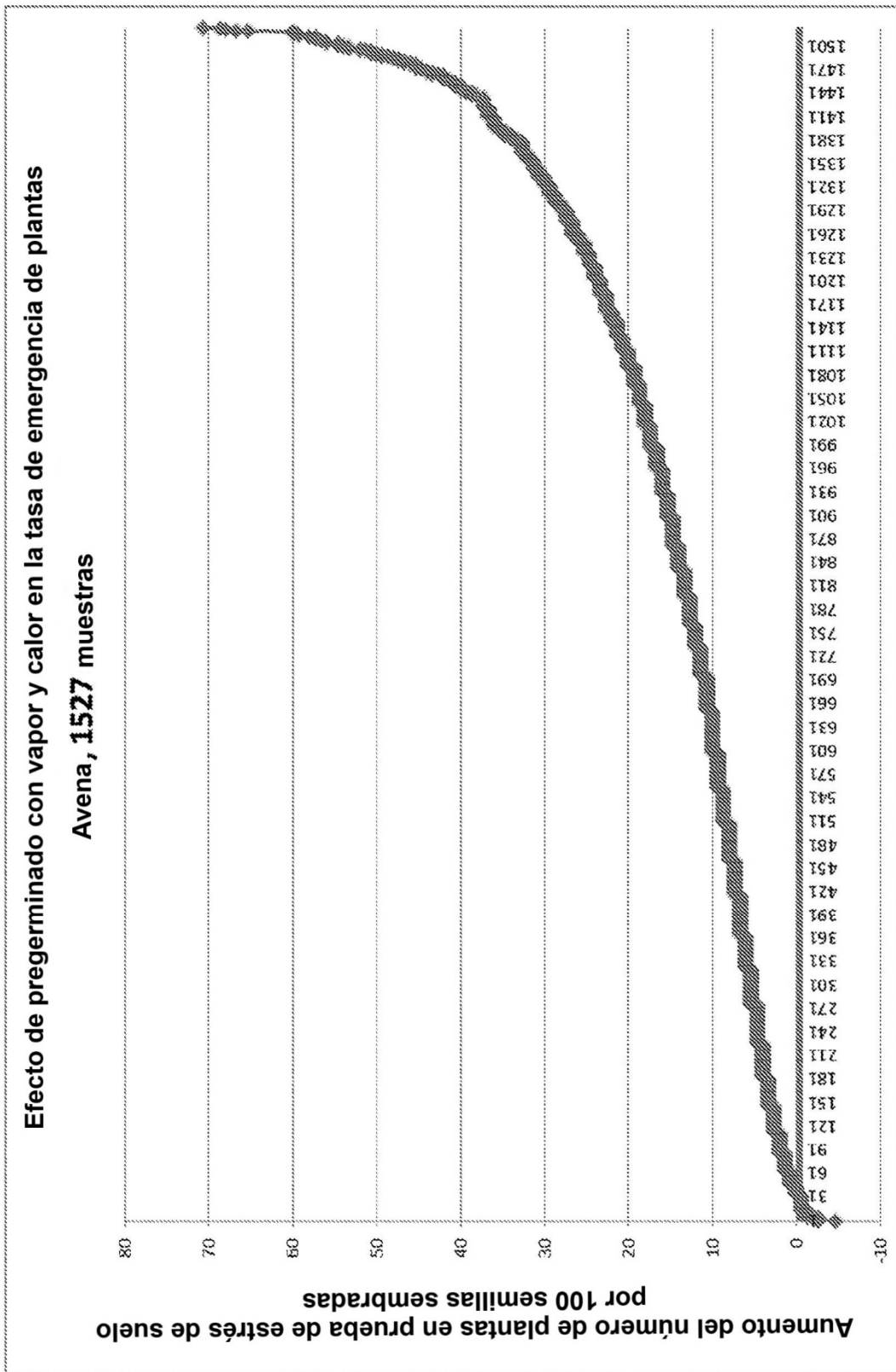


Figura 2

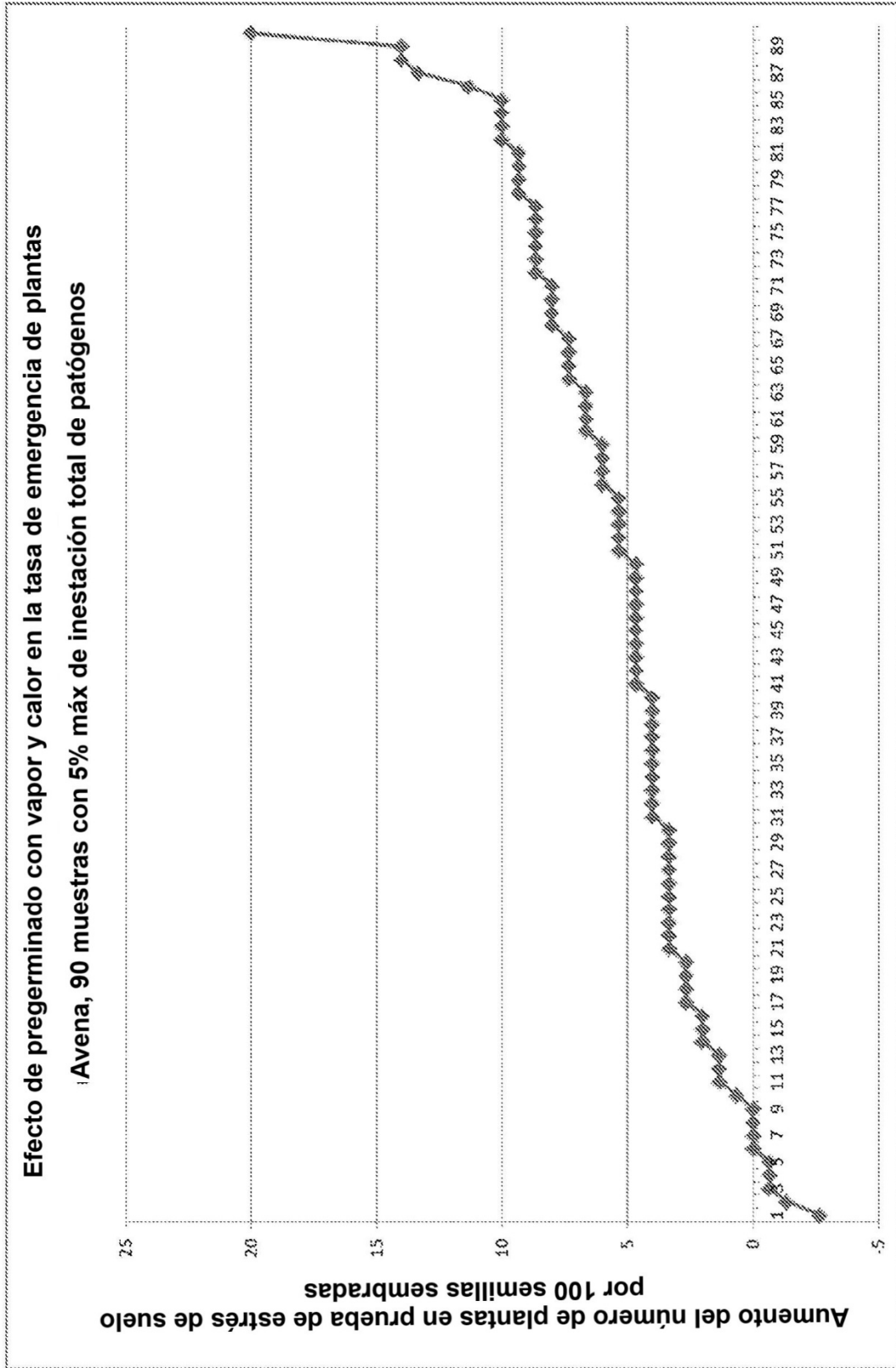


Figura 3

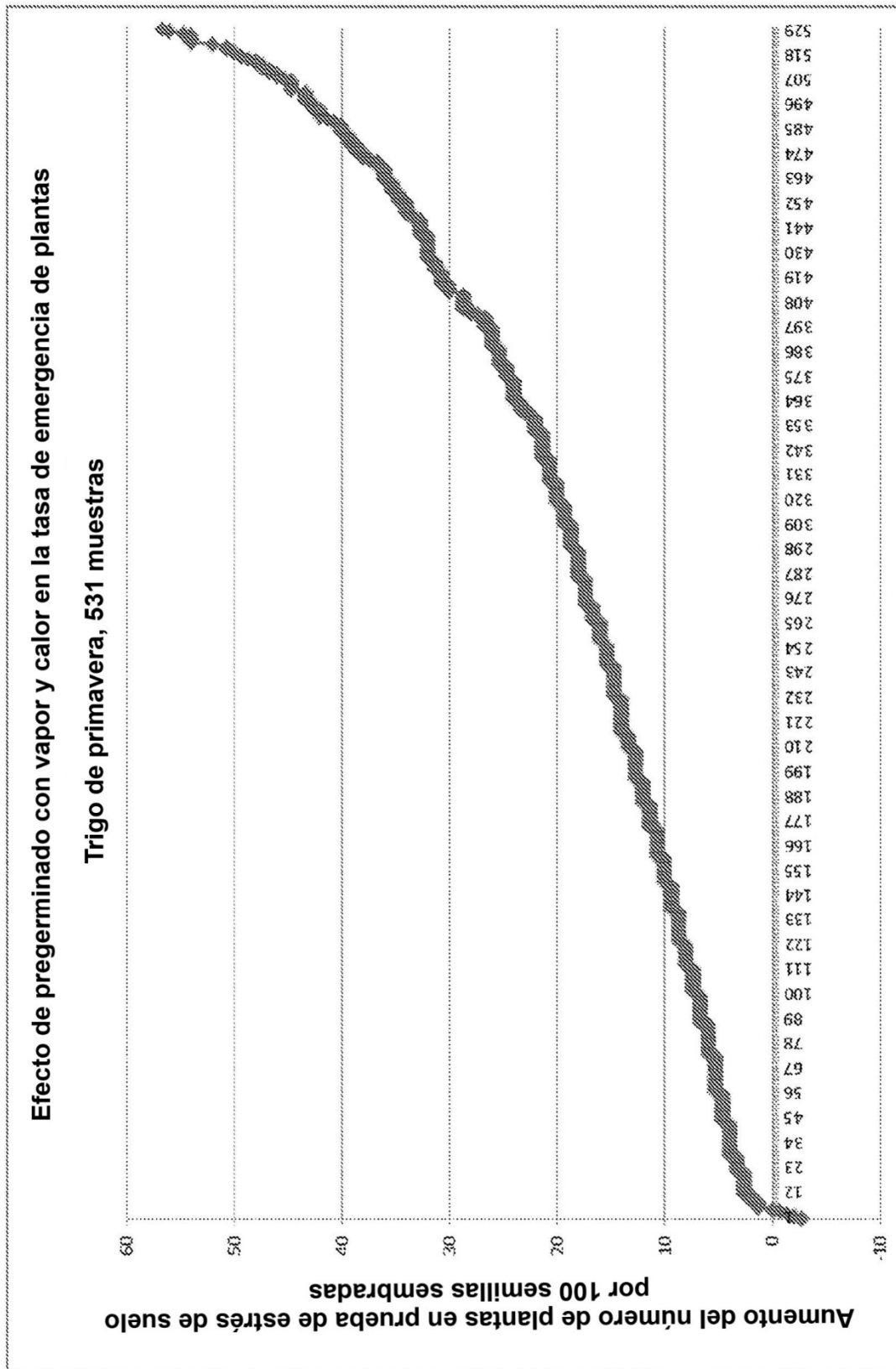


Figura 4

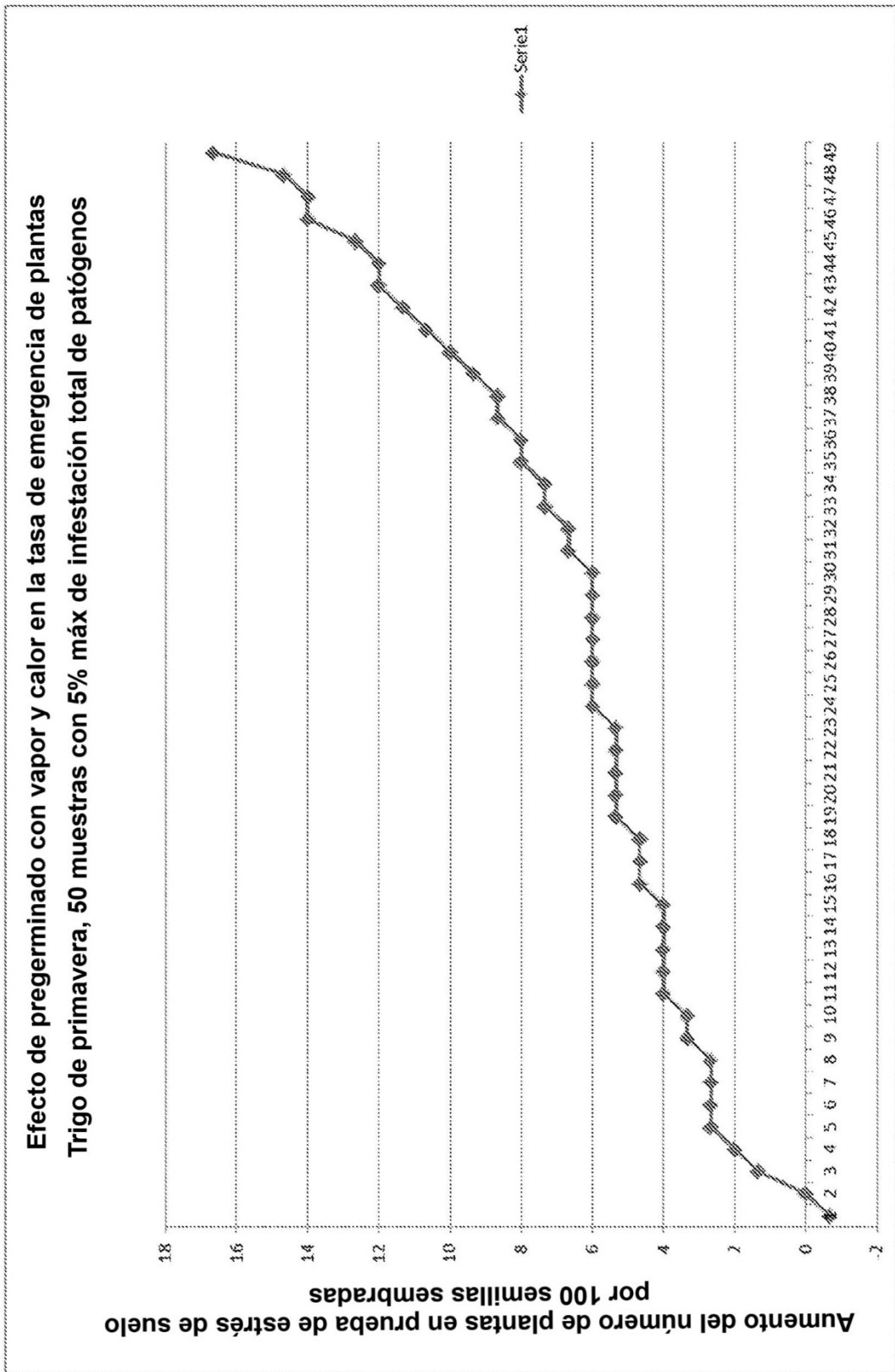


Figura 5

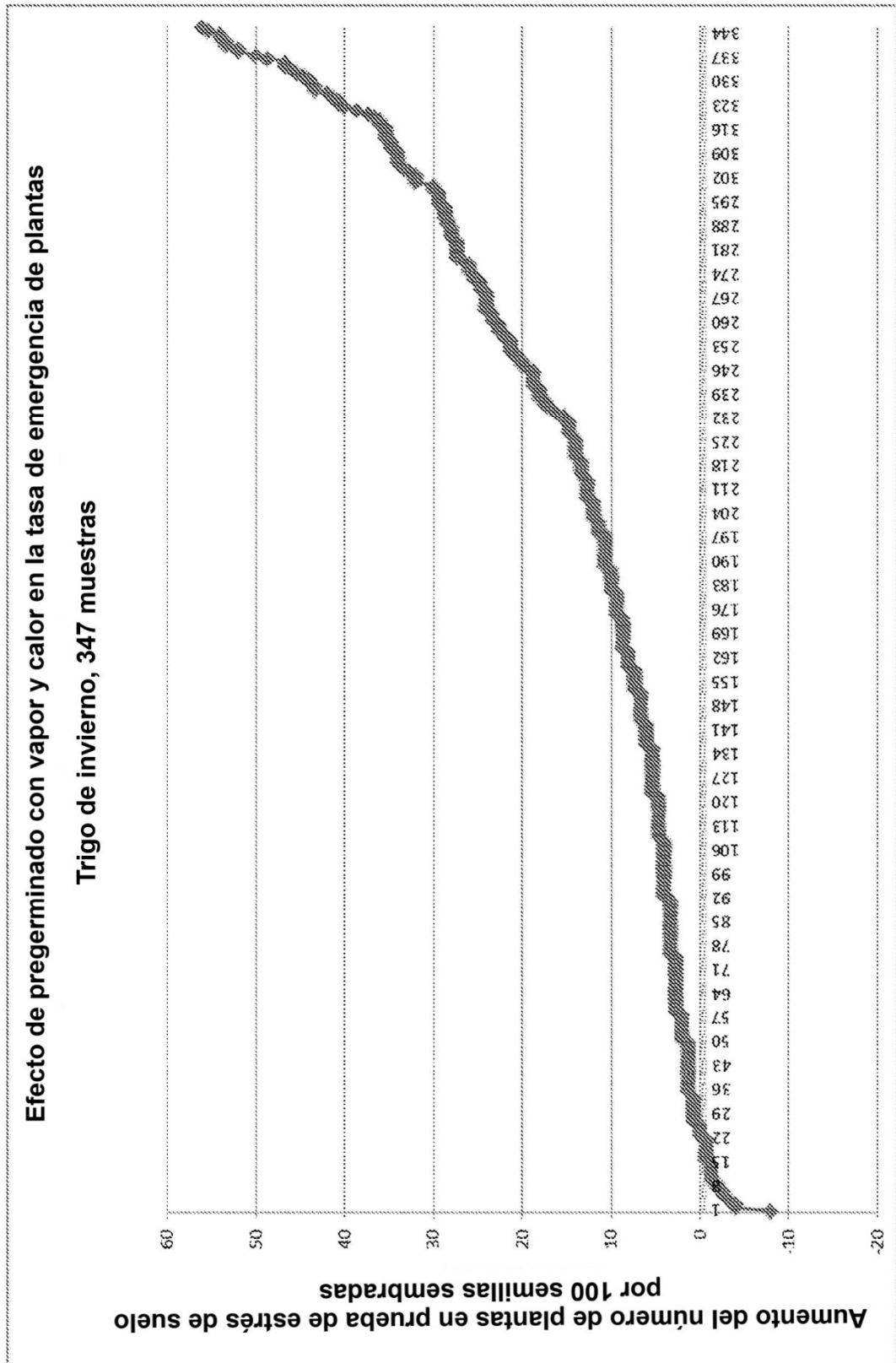


Figura 6

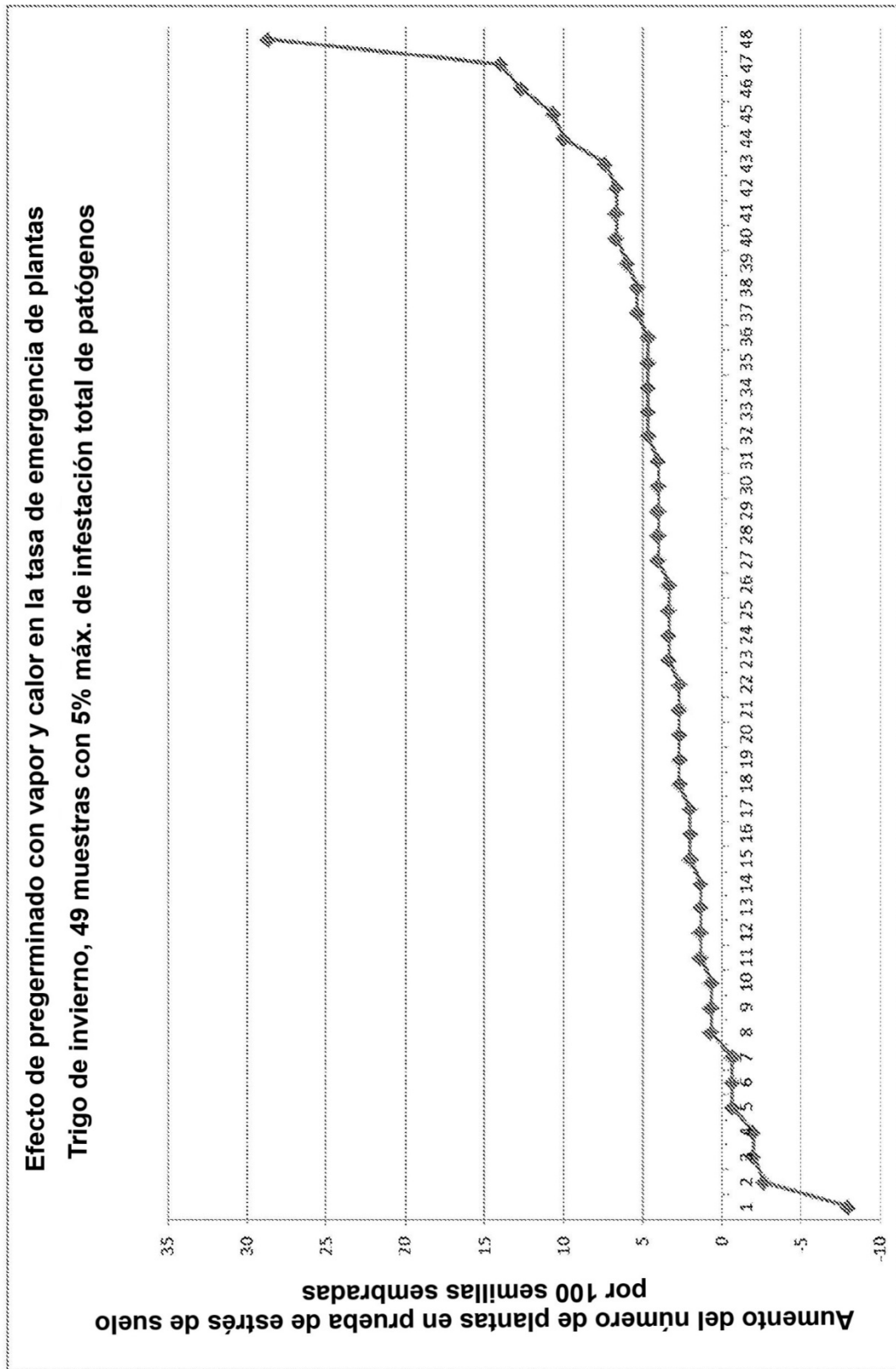


Figura 7

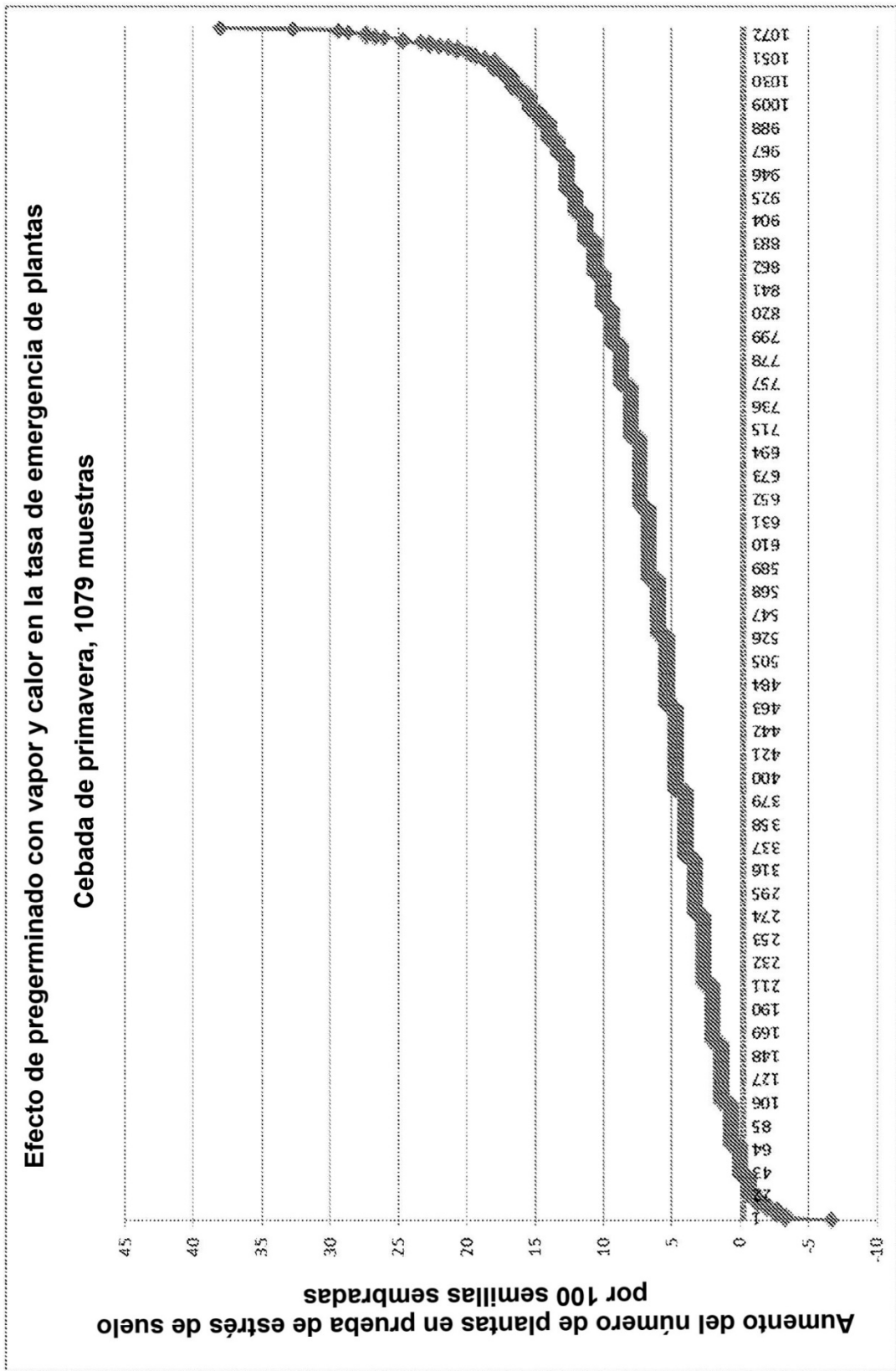


Figura 8

