

Tamaño y número de granos de trigo analizados mediante procesamiento de imagen digital*

Size and number of wheat grains analyzed by digital image processing

Carlos Patricio Saucedo Acosta¹, Héctor Eduardo Villaseñor Mir^{2§}, Gabriel Antonio Lugo García¹, Leopoldo Partida Ruvalcaba³, Víctor Arturo González Hernández⁴ y Álvaro Reyes Olivas¹

¹Colegio de Ciencias Agropecuarias-Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Universidad Autónoma de Sinaloa. Calle 16 Av. Japaraqui, Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México. CP. 81110. Tel. (687) 8960908. (sucedap@gmail.com; gabriel_lugo9010@hotmail.com; alreo.uas@gmail.com). ²Campo Experimental Valle de México-NIFAP. Carretera Los Reyes-Textoco, km 13.5. Coatlínchán, Textoco, Estado de México. CP. 56250. Tel. (595) 9212715, ext. 161. ³Universidad Tecnológica de Culiacán. Carretera Culiacán-Imala, km 2. Col. Los Ángeles, Ciudad Educadora del Saber, Culiacán Rosales, Sinaloa. CP. 80014. Tel. (667) 1041599. (parpolo@yahoo.com.mx). ⁴Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo. Carretera México-Textoco, km 36.5. Montecillo, Textoco, Estado de México. CP. 56230. Tel. (595) 9520200, ext. 1591. (vagh@colpos.mx). [§]Autor para correspondencia: hevimir3@yahoo.com.mx.

Resumen

El registro visual del número y tamaño de grano utiliza muestras limitadas, provoca cansancio e incremento de error; inconvenientes que pueden solventarse con el procesamiento y análisis de imágenes digitales (PAID) propuesto en esta investigación. Para ello, se utilizaron semillas de cinco cultivares de trigo duro (*Triticum durum* Desf.) y cinco harineros (*Triticum aestivum* L.). Se obtuvieron imágenes con escáner. El PAID se realizó con ImageJ 1.49b, se midió largo, ancho, tamaño y número de granos en 317 muestras. El tiempo para el registro de granos se comparó entre conteo visual, PAID y contador electromecánico. Se efectuaron análisis de correlación, X^2 , ANDEVA, y comparación de medias. El tamaño de grano harinero fue de 15.41 a 18.37 mm², en duros de 17.82 a 19.6 mm² (DMS= 0.385, $p \leq 0.01$), éstos son más largo (>7.1 mm; $p \leq 0.01$), pero de menor ancho (DMS= 0.043, $p \leq 0.05$). El número de granos observados y los calculados presentaron concordancia ($X^2 = 2.73$, $p = 1$) y estrecha correlación ($r_s = 1$, $p \leq 0.01$). El contador y el registro visual del número de granos mostraron incremento lineal de tiempo conforme aumentó el tamaño de muestra, mientras que el PAID requiere aproximadamente 55 s. El procesamiento

Abstract

The visual record of grain number and size uses limited samples, causing fatigue and increase of error; disadvantages that can be solved with the processing and analysis of digital images (PAID) as proposed in this paper. In this regard, seeds of five durum wheat cultivars (*Triticum durum* Desf.) and five of common wheat (*Triticum aestivum* L.) were used. Scanned images were obtained. The PAID was performed with ImageJ 1.49b, length, width, size and number of grains were measured in 317 samples. The time for grain registration was compared between visual counting, PAID and electromechanical counter. Correlation analyzes, X^2 , ANDEVA, and comparison of means were performed. The grain size of common wheat was from 15.41 to 18.37 mm², in durum it went from 17.82 to 19.6 mm² (DMS= 0.385, $p \leq 0.01$), these were longer (>7.1 mm; $p \leq 0.01$) but thinner (DMS = 0.043, $p \leq 0.05$). The number of grains observed and calculated showed concordance ($X^2 = 2.73$, $p = 1$) and close correlation ($r_s = 1$, $p \leq 0.01$). The counter and visual record of grains number showed linear increase of time as the sample size increased, while the PAID required approximately 55 s. Image processing

* Recibido: enero de 2017
Aceptado: marzo de 2017

de imágenes facilita las dimensiones individuales de granos agrupados y es una herramienta precisa y rápida para analizar el tamaño y número de granos de trigo.

Palabras clave: *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, conteo de grano, escáner, ImageJ.

Introducción

En los estudios de fisiología y mejoramiento genético de cultivos se realizan muestreos para registrar el número de granos por m², por espiga y el peso de mil granos, las cuales son variables importantes para evaluar la interacción de los genotipos con el ambiente e identificar los más sobresalientes (Pietragalla y Pask, 2013) y para conocer los mecanismos involucrados en la producción del grano (Severini *et al.*, 2011). Además, se contabilizan y preparan cientos de miles de muestras para enviar a otros sitios de evaluación y selección de genotipos; aunque el número de granos puede calcularse con sistemas computacionales especializados o contadores electromecánicos, su costo en México propicia que el registro se realice de manera manual.

También se utilizan muestras de granos de trigo para evaluar el tamaño y la forma, que son importantes en los objetivos del mejoramiento genético, pero es poco su estudio debido a la dificultad de su medición (Gegas *et al.*, 2010). El tamaño es componente significativo del rendimiento (Tanabata *et al.*, 2012; Williams y Sorrells, 2014) y contribuye en el vigor de germinación (Whan *et al.*, 2014); asimismo, se relaciona con la calidad de molienda (Williams *et al.*, 2013). La cuantificación manual generalmente es exacta, pero requiere mano de obra, es tediosa y debido al tiempo que requiere se utilizan muestras limitadas (Maloney *et al.*, 2014).

El registro de mil granos de trigo para obtener su peso, se puede acelerar con el uso de bandejas con rejillas para separar 100 granos. Otra opción es registrar (a mano o contador) y pesar sólo 200 granos; o bien, el número de granos en 10 g y se realiza la conversión respectiva (Pietragalla y Pask, 2013), aun así cuando el conteo se realiza en forma continua provoca cansancio y aumentan los errores (Zhang *et al.*, 2005). Mebatsion *et al.* (2013) señalan que el análisis visual de granos es subjetivo, influenciado por factores humanos y condiciones de trabajo.

facilitates the individual dimensions of pooled grains and is an accurate and fast tool for analyzing the size and number of wheat grains.

Keywords: *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, grain counting, ImageJ, scanner.

Introduction

In the researches of physiology and genetic improvement of crops, samples are taken to record the number of grains per m², per spike and the weight of one thousand grains, which are important variables to evaluate the interaction of the genotypes with the environment and to identify the outstanding ones (Pietragalla and Pask, 2013) and to know the mechanisms involved in grain production (Severini *et al.*, 2011). In addition, hundreds of thousands of samples are counted and prepared to be sent to other screening and genotype selection sites; although the number of grains can be calculated with specialized computer systems or electromechanical counters, its cost make that in Mexico they have to be counted manually.

Samples of wheat grains are also used to evaluate size and shape, which are important objectives in the genetic improvement, but due to the difficulty of their measurement it has not been widely studied (Gegas *et al.*, 2010). Size is a significant component of yield (Tanabata *et al.*, 2012; Williams and Sorrells, 2014) and contributes to germination vigor (Whan *et al.*, 2014); also, it is related to grinding quality (Williams *et al.*, 2013). Manual quantification is usually accurate, but labor-intensive, tedious, and due to the time required, limited samples are used (Maloney *et al.*, 2014).

Registering a thousand grains of wheat to obtain its weight can be speeded up by using trays with grates to separate 100 grains. Another option is to record (by hand or counter) and weigh only 200 grains, or, the number of grains in 10 g and the respective conversion is performed (Pietragalla and Pask, 2013), even so when counting is carried out continuously it causes fatigue and increased errors (Zhang *et al.*, 2005). Mebatsion *et al.* (2013) indicate that the visual analysis of grains is subjective, influenced by human factors and working conditions.

La obtención tradicional de la longitud y el ancho de los granos requiere técnicas más laboriosas y medición individual (Whan *et al.*, 2014), con mayor consumo de tiempo, aunque se utilicen calibradores digitales. Tanabata *et al.* (2012) sugieren que éstos análisis son más eficientes, rápidos y precisos a través del procesamiento y análisis de imágenes digitales (PAID), debido a que facilita información consistente, eficaz y objetiva (Mebatsion *et al.*, 2013). Los avances en los procesadores computacionales, en los sistemas de adquisición de imágenes y la reducción del precio de los mismos, favorecen el implemento del PAID (Cleva *et al.*, 2013).

Las imágenes con granos agrupados o en contacto entre sí, dificultan el análisis (Mebatsion *et al.*, 2013), ignorar u omitir tal situación provoca mediciones erróneas (Lin *et al.*, 2014). Para evitar dificultades, en varios estudios sobre medición de granos de trigo mediante PAID, éstos se colocaron separadamente (Mebatsion *et al.*, 2013; Rasheed *et al.*, 2014; Williams y Sorrells, 2014; Mussadiq *et al.*, 2015). La separación física de los granos por cualesquier medio es impráctica (Mebatsion *et al.*, 2013), por el tiempo que requiere, pero puede resolverse con el desarrollo de algoritmos eficientes en separar los granos en contactos en la imagen (Lin *et al.*, 2014). Otro riesgo es sub o sobrestimar el número de granos; sin embargo, se puede reducir con restricción del tamaño y la circularidad o forma de los objetos de interés, si no está entre los valores especificados se ignoran (Ferreira y Rasband, 2012).

Debido a los inconvenientes que presentan la obtención de las dimensiones y el registro manual de granos de trigo, el objetivo en el presente estudio fue analizar el tamaño y número de granos de trigo mediante procesamiento de imágenes digitales.

Materiales y métodos

Las variedades utilizadas fueron Cirno C-2008, Roelfs F-2007, Kronstad F-2003 más cuatro líneas de trigo duro y tres harineras (Cuadro 1), provenientes del programa de mejoramiento genético de trigo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), las cuales se cosecharon en el Campo Experimental Valle del Fuerte (Guasave, Sinaloa), durante el ciclo otoño-invierno 2012-2013.

The traditional recording of length and width of grains requires more labor-intensive techniques and individual measurement (Whan *et al.*, 2014), with greater time consumption, even when digital calipers are used. Tanabata *et al.* (2012) suggest that these analyzes are more efficient, faster and more accurate through digital image processing and analysis (PAID) because it provides consistent, effective and objective information (Mebatsion *et al.*, 2013). Advances in computational processors, in image acquisition systems and its price reduction, favor the implementation of PAID (Cleva *et al.*, 2013).

The images with grains grouped or in contact with each other, make difficult the analysis (Mebatsion *et al.*, 2013), ignoring or omitting such situation causes erroneous measurements (Lin *et al.*, 2014). In order to avoid difficulties, in several papers on wheat grain measurement by PAID, these were placed separately (Mebatsion *et al.*, 2013; Rasheed *et al.*, 2014, Williams and Sorrells, 2014; Mussadiq *et al.*, 2015). The physical separation of the grains by any means is impractical (Mebatsion *et al.*, 2013), for the time required, but can be solved with the development of efficient algorithms to separate the grains in contact in the image (Lin *et al.*, 2014). Another risk is sub or overestimate the number of grains; however, it can be reduced with restriction of size and circularity or shape of the objects of interest, if it is not among the specified values they are ignored (Ferreira and Rasband, 2012).

Due to the drawbacks of obtaining dimensions and manual recording of wheat grains, the objective in this paper was to analyze the size and number of wheat grains by digital image processing.

Materials and methods

The varieties used were Cirno C-2008, Roelfs F-2007, Kronstad F-2003 plus four lines of durum wheat and three of common wheat (Table 1), from the wheat breeding program of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), which were harvested at the Valle del Fuerte Experimental Field (Guasave, Sinaloa) during the Fall-Winter 2012-2013 cycle.

Cuadro 1. Identificación de genotipos utilizados.**Table 1. Identification of used genotypes.**

ID	Pedigrí/genealogía
1	Cirno C-2008
2	TRN//21563/AA/3/BD2080/4/BD2339/5/RASCON_37/TARRO_2//RASCON_37/6/AUK/GUIL//GREEN
3	AJAIA-12/F3LOCAL(SEL.ETHIO.135.85)//PLATA-13/4/CHEN-1/TEZ/3/GUIL//CIT71/CII/5/ SORA/2*PLATA-12//SOMAT_3
4	SILK_3/DIPPER_6/3/ACO89/DUKEM_4//5*ACO89/4/PLATA_7/ILBOR_1//SOMAT_3
5	TADIZ/9/USDA595/3/D67.3/RABI//CRA/4/ALO/5/HUI/YAV_1/6/ARDENTE/7/HUI/YAV79/8/POD_9
6	Kronnstad F-2003
7	Roelfs F-2007
8	THELIN/2*WBLL1
9	WBLL1*2/BRAMBLING
10	KAUZ//ALTAR84/AOS/3/MILAN/KAUZ/4/HUITES/5/OASIS/SKAZ//4*BCN*2/3/PAS

ID= identificación del genotipo; *Triticum durum* Desef. (1 al 5); *Triticum aestivum* L. (6 al 10).

La adquisición de las imágenes se realizó con escáner de cama plana (Epson Stylus modelo CX4700), las muestras de grano se distribuyeron rápidamente sobre el cristal, sin esmerarse en separarlos. En la parte inferior de la tapa del escáner se colocó papel foamy (etilvinilacetato) negro, para evitar el ruido por la proyección de sombras causadas por la luz ambiental y permitió un mejor contraste de los granos.

Las imágenes se guardaron en formato jpeg, a color RGB (Red, Green, Blue) con 24 bits por pixel y resolución de 300 ppp, de 2 544*3 508 pixeles (ancho*alto); el tamaño promedio por archivo fue de 760 KB. El tiempo para digitalización fue 14.2 s y el total desde colocar la muestra de grano hasta finalizar fue 55 s, en un equipo con Windows 7 Ultimate (64 bits), procesador AMD Phenom™ X3 B73 a 2.8 GHz y 3 GB de memoria RAM.

La metodología se desarrolló con cuatro muestras de 200 granos enteros y limpios de cada variedad y se obtuvo el peso de éstas. La validación del método fue con 277 muestras de tamaño variable de granos enteros y quebrados, en total se utilizaron 317 imágenes con 155 637 granos.

El PAID se realizó con el programa ImageJ Ver. 1.49b, el cual soporta diferentes formatos de imagen; admite establecer y calibrar la escala en cualquier unidad espacial, permite

The images were acquired with flatbed scanner (Epson Stylus model CX4700), the grain samples were quickly distributed on the glass, without being careful to separate them. Black foamy (ethylvinylacetate) paper was placed at the bottom of the scanner lid to prevent noise from projecting shadows caused by ambient light and allowing better grain contrast.

The images were saved in jpeg format, RGB color (Red, Green, Blue) with 24 bits per pixel and resolution of 300 dpi, of 2 444*3 508 pixels (width*height); the average file size was 760 KB. The time to digitize was 14.2 s and the total from placing the grain sample to the end was 55 s, on a computer with Windows 7 Ultimate (64 bits), AMD Phenom™ X3 B73 2.8 GHz processor and 3 GB of RAM.

The methodology was developed with four samples of 200 whole and clean grains of each variety and its weight were obtained. The method was validated with 277 samples of variable size of whole and broken grains, in total 317 images with 155 637 grains were used.

The PAID was performed with the ImageJ Ver. 1.49b program, which supports different image formats; it allows to establish and calibrate the scale in any spatial unit, allows to restrict objects by size and shape from 0 (elongated

restringir del análisis objetos por tamaño y forma, la cual es de 0 (polígono alargado) a 1 (esférica), proporciona estadísticas descriptivas de los resultados (Rasband, 2014). Incluye la opción de crear rutinas o complementos para automatizar tareas repetitivas (Ferreira y Rasband, 2012) y está disponible gratuitamente en la página electrónica del National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA (<http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>).

La segmentación del color de las imágenes se efectuó mediante umbralización (Image/Adjust/Color Threshold), con el método por defecto (default), el cual es una variación del algoritmo Isodata (Ferreira y Rasband, 2012); el espacio de color RGB original se transformó al espacio HSB, porque facilitó el análisis de la imagen; es decir, la identificación y localización de los granos de trigo. La diferenciación entre el fondo de la imagen y los granos se obtuvo mediante el ajuste de los umbrales mínimo y máximo, para tono fueron 0 y 255, para saturación 0 y 255, y para brillo 75 y 255. Posteriormente la imagen se convirtió a binaria; es decir, a blanco y negro (Process/Binary/Convert to Mask). La separación de los granos en contacto en la imagen se realizó con el algoritmo de transformación divisoria (Watershed), con tolerancia de 1 (Process/Binary/Watershed).

El número total de granos enteros y quebrados (NGC) se obtuvo con la función análisis de objetos (Analyze/Analyze particles) y se midió el tamaño o área proyectada de los granos (mm^2), longitud (mm), ancho (mm) y forma (circularidad) de los mismos. La sobreestimación del total de granos, ocasionada por impurezas u objetos extraños, se redujo con restricción de tamaño (4 a 30 mm^2) y por circularidad, debido a que el grano entero presentó la menor circularidad por ser alargado y fue de 0.4 a 1, de esta forma se incluyen los granos quebrados.

Los pasos anteriormente descritos se grabaron y guardaron en una rutina (macro), la cual permite calcular automáticamente la escala de cualesquier tamaño de imagen mediante el ancho (getWidth) dividido entre la resolución, que en una imagen digitalizada con escáner es de 8.5 pulgadas (215.9 mm) como resultado de dividir 2 550 entre 300 (píxeles / pulgadas por píxel). La rutina analiza de forma automática todas las imágenes contenidas dentro de una carpeta, calcula el tiempo empleado en el procesamiento y análisis con la instrucción (getTime()), los resultados se guardan por separado o en un solo archivo delimitados por comas, etiquetados con el nombre del archivo (jpeg) para facilitar su identificación.

polygon) to 1 (spherical), provides descriptive statistics of the results (Rasband, 2014). It includes the option of creating routines or add-ons to automate repetitive tasks (Ferreira and Rasband, 2012) and is available free of charge from the National Institutes of Health website, Bethesda, Maryland, USA (<http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>).

The color segmentation of the images was done by thresholding of (Image/Adjust/Color Threshold), with the default method, which is a variation of the Isodata algorithm (Ferreira and Rasband, 2012); the original RGB color space was transformed into the HSB space, because it facilitated image analysis; that is, the identification and location of wheat grains. The differentiation between the background of the image and the grains was obtained by adjusting the minimum and maximum thresholds, for tone were 0 and 255, for saturation 0 and 255, and for brightness 75 and 255. Subsequently the image was converted to binary; that is, to black and white (Process/Binary /Convert to Mask). The separation of the grains in contact in the image was done with the algorithm of dividing transformation (Watershed), with tolerance of 1 (Process/Binary/Watershed).

The total number of whole and broken grains (NGC) was obtained with the Analyze/Analyze particles function and the projected size or area of grains (mm^2), length (mm), width (mm) and shape (circularity). The overestimation of the grains total, caused by impurities or foreign objects, was reduced with size restriction (4 to 30 mm^2) and by circularity, because the whole grain had the smallest circularity because it was elongated and ranged from 0.4 to 1, this would also include broken grains.

The steps described above were recorded and stored in a routine (macro), which allows to automatically calculate the scale of any image size by the width (getWidth) divided by the resolution, which in a scanned image with a scanner is 8.5 inches (215.9 mm) as a result of dividing 2 550 into 300 (pixels/inches per pixel). The routine automatically analyzes all the images contained within a folder, calculates the time spent in the processing and analysis with the instruction (getTime ()), the results are saved separately or in a single comma-delimited file, tagged with the file's name (jpeg) in order to facilitate its identification.

An electromechanical, semiautomatic counter (NUMIGRAL SEED COUNTER EPL) was used to record 100, 200, 300, 400, 500 and 600 grains in five replicates, these samples were counted by the PAID and in visual form (NGO). The total time (seconds) required by each method was recorded.

También se utilizó un contador electromecánico, semiautomático (NUMIGRAL SEED COUNTER EPL) para registrar la cantidad de 100, 200, 300, 400, 500 y 600 granos en cinco repeticiones, dichas muestras se contabilizaron mediante el PAID y en forma visual (NGO). Se registró el tiempo total (segundos) requerido por cada método.

Los datos se analizaron con InfoStat 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014) mediante las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizó ANDEVA para peso de 200 granos, tamaño y ancho de grano y comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.01$; 0.05). La variable largo de grano no presentó normalidad y se realizó un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis; el estadístico de prueba (H) fue una aproximación a la X^2 de Pearson al 1% ($K-W \approx X^2$), se realizó una comparación de pares entre las medias de los rangos de tratamientos. Entre NGO y NGC se realizaron correlaciones no paramétricas de Spearman (r_s), se aplicó regresión localmente ponderada (LOWESS), con parámetro de suavizado de 0.5 y prueba de bondad de ajuste (X^2). Para el tiempo requerido por los métodos para registrar el número de granos se obtuvieron estadísticas descriptivas.

Resultados y discusión

El tamaño medio del grano de trigo fue desde 15.41 mm² en la variedad Kronnstad F2003 hasta 19.6 mm² del genotipo 4 (DMS= 1.274, $p \leq 0.0001$), las líneas 5 y 8 sobresalen en tamaño medio de grano, lo que sugiere efectividad de la selección hacia esta característica; el tamaño fue mayor en trigos de grano duro con 17.82 a 19.6 mm², mientras que en harineros fue de 15.41 a 18.37 mm² (DMS= 0.3850, $p \leq 0.0001$), similares a los obtenidos por Visen *et al.* (2001) mediante el análisis de fotografías digitales obtuvieron 22.5 mm² en granos de trigo cristalino ámbar del oeste de Canadá (CWAD) y 17.59 mm² en trigos rojos de primavera (HRS); asimismo, están dentro del intervalo de 11.68 a 24.52 mm² señalado por Whan *et al.* (2014); pero son más grandes que los obtenidos por Konopka *et al.* (2007) en la variedad Nawra (12.6 a 15.91 mm²) que se cultiva en primavera, y en trigos de invierno variedad Sukces (13.28 a 14.74 mm²) y Tonacja (12.94 a 15.75 mm²). La variación en tamaño de los granos entre y dentro de trigos duros y harineros analizados en este estudio, así como los señalados por otros autores, se deben al efecto del genotipo, el ambiente y la interacción entre éstos (Breschello y Sorrels, 2006).

The data were analyzed with InfoStat 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014) by means of tests of normality and homogeneity of variances, ANDEVA was performed for weight of 200 grains, grain length and grain width and Tukey mean comparison ($p \leq 0.01$; 0.05). The length grain variable did not show normality and a Kruskal-Wallis non-parametric analysis of variance was performed; the test statistic (H) was an approximation to the Pearson X^2 at 1% ($K-W \approx X^2$), a comparison of pairs between the means of the treatment ranges was performed. Non-parametric Spearman correlations (r_s) were performed between NGO and NGC, locally weighted regression (LOWESS), with smoothing parameter of 0.5 and goodness of fit test (X^2). Descriptive statistics were obtained for the time required by the methods to record the number of grains.

Results and discussion

The mean grain size was 15.41 mm² in the Kronnstad F2003 variety up to 19.6 mm² in genotype 4 (DMS= 1.274, $p \leq 0.0001$), lines 5 and 8 excel in mean grain size, suggesting the effectiveness of the selection towards this characteristic; the size was higher in durum wheat grains with 17.82 to 19.6 mm², while in common wheat it was from 15.41 to 18.37 mm² (DMS= 0.3850, $p \leq 0.0001$), similar to those obtained by Visen *et al.* (2001) by analyzing digital photographs they obtained 22.5 mm² of amber crystalline wheat from Western Canada (CWAD) and 17.59 mm² in spring red wheats (HRS). Likewise, are within the range of 11.68 to 24.52 mm² reported by Whan *et al.* (2014); but are larger than those obtained by Konopka *et al.* (2007) in the Nawra variety (12.6 to 15.91 mm²) grown in spring, and Sukces (13.28 to 14.74 mm²) and Tonacja (12.94 to 15.75 mm²) winter wheats. The variation in grain sizes between and within durum and common wheat analyzed in this research, as well as those reported by other authors, are due to the effect of the genotype, the environment and the interaction between them (Breschello and Sorrels, 2006).

Genotype 10 showed a shorter grain length (6.1 to 6.2 mm) and the longest (7.6 to 7.8 mm) were shown by genotype 4 (H= 37.81, $p \leq 0.0001$); all durum wheats were over 7.1 mm long, while in common wheats the lengths were less than 7.06 mm (H= 29.27, $p \leq 0.001$). The length of durum wheat grain was from 7.1 to 7.8 mm, similar length than that obtained by Konopka *et al.* (2007) in the Nawra variety (7.03 to 7.25 mm), Sukces (6.55 mm) and Tonacja (6.86 mm); although they are longer than those reported by Ramya *et al.* (2010)

El genotipo 10 presentó menor longitud de grano (6.1 a 6.2 mm) y los más largos (7.6 a 7.8 mm) los mostró el genotipo 4 ($H=37.81, p \leq 0.0001$); todos los trigos duros tuvieron más de 7.1 mm de largo, mientras que en los harineros la longitud de grano fue menor a 7.06 mm ($H = 29.27, p \leq 0.001$). El largo de grano de trigo duros fue desde 7.1 hasta 7.8 mm, longitud similar que la obtenida por Konopka *et al.* (2007) en la variedad Nawra (7.03 a 7.25 mm), en Sukces (6.55 mm) y Tonacja (6.86 mm); aunque son más largos que los reportados por Ramya *et al.* (2010) en dos localidades de India (Ludhiana, Punjab y Pune, Maharashtra), y cinco ciclos de producción de trigo harinero obtuvieron desde 5.1 mm hasta 5.37 mm. Pero son menos largos que los señalados por Okamoto *et al.* (2013) en cuatro líneas de trigo hexaploide, con el software Smartgrain obtuvieron desde 8.40 hasta 9.48 mm; la longitud de grano de los trigos harineros en el presente estudio (6.14 - 7.06 mm) fueron menores que los registrados por Visen *et al.* (2001) en trigo CWAD (8.03 mm) y en trigo HRS (6.99 mm).

El ancho medio del grano en los trigos harineros fue de 3.37 mm y en los trigos duros de 3.33 mm ($DMS = 0.043, p \leq 0.05$). Los genotipos 8 y 10 presentaron grano más ancho (3.47 mm); mientras que el grano más delgado (3.19 mm) lo presentó la variedad Kronnstad F2003 ($DMS= 0.191, p \leq 0.1$). Los valores medios de ancho de grano fueron desde 3.19 hasta 3.47 mm y concuerdan con los obtenidos por Rasheed *et al.* (2014), de 2.8 a 3.8 mm en los genotipos AUS30288 y AUS34239, respectivamente. Aunque son ligeramente más anchos que los reportados por Visen *et al.* (2001) en granos de trigo CWAD (3.27 mm) y HRS (2.91 mm); asimismo que los obtenidos en la variedad Nawra (2.41 mm) y Tonacja (3.04 mm) a través de fotografías digitales y el uso del software LUCIA G ver. 4.8 (Konopka *et al.*, 2007); son más delgados los registrados por Ramya *et al.* (2010) en Pune, Maharashtra, India, donde en 2007 fue de 2.17 mm y en Ludhiana, Punjab en 2003 fue de 2.97 mm. También Okamoto *et al.* (2013) obtuvieron granos menos anchos que fueron desde 2.86 hasta 3.16 mm.

El tamaño de grano en variedades de trigo emmer o farro (*Triticum dicoccum* Schübl) de 12.4 mm² y el ancho de 2.37 mm (Braadbaart and van Bergen, 2005), son menores en comparación con los obtenidos en el presente estudio y los reportados por otros autores, es posible que se deba a que son trigos ancestrales, ya que el incremento en tamaño de grano se debe en parte al proceso evolutivo (Eckardt, 2010) y al mejoramiento genético (Gegas *et al.*, 2010). Shouche *et al.* (2001) también obtuvieron grano más angosto (2.02

in two locations in India (Ludhiana, Punjab and Pune, Maharashtra), and five cycles of common wheat production ranged from 5.1 mm to 5.37 mm. But they are shorter than those reported by Okamoto *et al.* (2013) in four hexaploid wheat lines, with the Smartgrain software obtained from 8.40 to 9.48 mm; the grain length of common wheat in this research (6.14 - 7.06 mm) were lower than those reported by Visen *et al.* (2001) in CWAD wheat (8.03 mm) and HRS wheat (6.99 mm).

The mean grain width in common wheat was 3.37 mm and in durum wheat of 3.33 mm ($DMS= 0.043, p \leq 0.05$). Genotypes 8 and 10 showed wider grain (3.47 mm); while the thinner grain (3.19 mm) was show by the Kronnstad F2003 variety ($DMS= 0.191, p \leq 0.1$). Mean values of grain width were from 3.19 to 3.47 mm and were consistent with those obtained by Rasheed *et al.* (2014), from 2.8 to 3.8 mm in AUS30288 and AUS34239 genotypes, respectively. Although they are slightly wider than those reported by Visen *et al.* (2001) in wheat grains CWAD (3.27 mm) and HRS (2.91 mm); as well as those obtained in the Nawra variety (2.41 mm) and Tonacja (3.04 mm) through digital photographs and the use of the LUCIA G ver. 4.8 software (Konopka *et al.*, 2007); Ramya *et al.* (2010) have reported the thinnest (2010) in Pune, Maharashtra, India, where in 2007 it was 2.17 mm and in Ludhiana, Punjab in 2003 was 2.97 mm. Also, Okamoto *et al.* (2013) obtained less wide grains that were from 2.86 to 3.16 mm.

The grain size in emmer or farro wheat varieties (*Triticum dicoccum* Schübl) of 12.4 mm² and the width of 2.37 mm (Braadbaart and van Bergen, 2005), are smaller in comparison with those obtained in this paper and those reported by others, it is possible that this is because those are ancestral wheats and the increase in grain size is due in part to the evolutionary process (Eckardt, 2010) and genetic enhancement (Gegas *et al.*, 2010). Shouche *et al.* (2001) also obtained a narrower grain (2.02 mm), shorter (4.48 mm) and a smaller grain size (14.15 mm²) in the Kalyansona semi-dwarf variety (*Triticum aestivum* L.) in studies by Shouche *et al.* (2001) and Braadbaart and van Bergen (2005) the grain was placed on the scanner with the ventral side downwards, which is narrower and projects smaller area, however the grain length is not affected by this situation, since the dimensions are related to each other, the side of the grain should be considered for the measurement of the width. This aspect was not considered in this paper, because of the sharp form of the dorsal part of the grain of the genotypes used, the probability of this being on its side view is 2:3 (two sides and ventral part).

mm), menos largo (4.48 mm) y de menor tamaño de grano (14.15 mm²) en la variedad semienana Kalyansona (*Triticum aestivum* L.), en los estudios realizados por Shouche *et al.* (2001) y Braadbaart y van Bergen (2005) el grano se colocó sobre el escáner con la parte ventral hacia abajo, la cual es más angosta y proyecta menor área, no obstante el largo del grano no es afectado por esta situación, dado que las dimensiones están relacionadas entre sí, se debe considerar el lado del grano para la medición del ancho. En el presente estudio no se consideró dicho aspecto, pero debido a la forma afilada de la parte dorsal del grano de los genotipos utilizados, la probabilidad de que éste quede en vista lateral es 2:3 (dos lados y parte ventral).

La longitud de grano en las variedades de trigo emmer fue de 7.14 mm (Braadbaart y van Bergen, 2005), similar con las obtenidas en el presente estudio y con las reportadas por otros autores (Visen *et al.*, 2001; Konopka *et al.*, 2007), de acuerdo con Sadras y Egli (2008), el largo de grano tarda menos tiempo en definirse con respecto al ancho, por lo que está menos expuesto a la influencia del ambiente; ésta comprobada por Konopka *et al.* (2007), quienes señalan que la longitud del grano de trigo es menos afectada por estrés hídrico; en diversos estudios es evidente la mayor variación que presenta el ancho de grano, con respecto a longitud (Visen *et al.*, 2001; Breseghello y Sorrels, 2006; Ramya *et al.*, 2010; Wiwart *et al.*, 2012; Williams *et al.*, 2013). La forma o circularidad del grano fue mayor en los granos de trigo harineros (0.7) y menor en los duros (0.66); el genotipo 10 presentó la mayor circularidad de grano con 0.74.

El peso de 200 granos en trigos duros fue de 8.42 a 11.25 g y difieren a los harineros que presentaron desde 6.19 a 9.79 g (DMS= 0.411, $p \leq 0.01$). La variedad Kronnstad F-2003 presentó el menor peso medio de grano (7 g), mientras que el genotipo cuatro sobresalió con 10.42 g (DMS= 1.362, $p \leq 0.01$). El peso de 200 granos presentó correlación lineal positiva con el tamaño ($r = 0.94$, $p \leq 0.01$), con el largo ($r_s = 0.79$, ≤ 0.01) y el ancho del grano ($r = 0.63$, ≤ 0.01), lo anterior concuerda con concuerda con Gegas *et al.* (2010) y Okamoto *et al.* (2013), asimismo con Ramya *et al.* (2010), quienes señalan que el peso del grano de trigo presenta estrecha asociación con el largo y ancho de los mismos. El tamaño del grano tuvo correlación con el largo ($r_s = 0.85$, $p \leq 0.01$) y con el ancho de grano ($r = 0.47$, $p \leq 0.01$), pero no hubo relación entre largo y ancho del grano ($p = 0.76$). La ausencia de relación entre largo y ancho del grano en este estudio, puede atribuirse a la colocación arbitraria de los granos sobre el cristal del escáner, porque es contrario

The grain length in emmer wheat varieties was 7.14 mm (Braadbaart and van Bergen, 2005), similar to those obtained in this research and those reported by other authors (Visen *et al.*, 2001; Konopka *et al.*, 2007), according to Sadras and Egli (2008), the grain length takes less time to define itself with respect to the width, reason why it is less exposed to the influence of the environment; which is confirmed by Konopka *et al.* (2007), who point out that the length of wheat grain is less affected by water stress; in several studies, the greater variation in grain width, with respect to length, is evident (Visert *et al.*, 2001; Breseghello and Sorrels, 2006; Ramya *et al.*, 2010; Wiwart *et al.*, 2012; Williams *et al.*, 2013). The shape or circularity of the grain was higher in common wheat (0.7) and lower in durum wheat (0.66); genotype 10 presented the highest grain circularity with 0.74.

The weight of 200 grains in durum wheats was of 8.42 to 11.25 g and they differ to the common that ranged from 6.19 to 9.79 g (DMS= 0.411, $p \leq 0.01$). The Kronnstad F-2003 variety showed the lowest mean grain weight (7 g), while the genotype four stood out with 10.42 g (DMS= 1.362, $p \leq 0.01$). The weight of 200 grains had positive linear correlation with size ($r = 0.94$, $p \leq 0.01$), with length ($r_s = 0.79$, ≤ 0.01) and the grain width ($r = 0.63$, ≤ 0.01), these agrees with Gegas *et al.* (2010) and Okamoto *et al.* (2013), as well as Ramya *et al.* (2010), who point out that the weight of wheat grain has a close relation with the length and width of the grain. The grain size correlated with length ($r_s = 0.85$, $p \leq 0.01$) and grain width ($r = 0.47$, $p \leq 0.01$), but there was no relationship between grain length and width ($p = 0.76$). The absence of relation between length and width of the grain in this paper can be attributed to the arbitrary placement of the grains on the scanner glass, because it is contrary to what was reported when the grain width was obtained in a systematic way, as in the comparison between the length and width of wheat grain obtained with vernier (Ramya *et al.*, 2010) and when digital photographs of the dorsal part of separately placed grains were used (Rasheed *et al.*, 2014).

The difference between the number of grains observed and calculated was from -1.5 to 1.68% ($\bar{X} = 0.13 \pm DE = 0.52\%$) and presented concordance ($X^2 = 2.73$, $p = 1.0$), with a close correlation between both variables ($r_s = 1.0$, $p \leq 0.01$, Figura 1). 32.2% of the cases were ties, 60.2% with percentages smaller than one, although in 42.6% of cases the number of grains was overestimated; the sub and overestimations greater than one were shown in 6% of the cases (Figure 2). The underestimation of the number of grains obtained through the PAID occurred because the watershed algorithm did not

a lo reportado cuando el ancho del grano se obtuvo de manera sistemática, como en la comparación entre el largo y ancho de grano de trigo obtenidos con vernier (Ramya *et al.*, 2010) y cuando se utilizó fotografías digitales de la parte dorsal de granos colocados separadamente (Rasheed *et al.*, 2014).

La diferencia entre el número de granos observados y calculados fue desde -1.5 a 1.68 % ($\bar{X} = 0.13 \pm DE = 0.52\%$) y presentan concordancia ($X^2 = 2.73, p = 1.0$), con estrecha correlación entre ambas variables ($r_s = 1.0, p \leq 0.01$, Figura 1). El 32.2% de los casos fueron empates, 60.2% con diferencias porcentuales menores a uno, aunque en 42.6% de casos se sobrestimó el número de granos; las sub y sobrestimaciones mayores a uno presentó 6% de los casos (Figura 2). La subestimación del número de granos obtenidos mediante el PAID ocurrió porque el algoritmo de transformación divisoria (Watershed) no separó algún par de granos en contacto, por lo que los contabilizó como uno, o bien los excluyó debido a la restricción por tamaño; en cambio la sobrestimación fue porque grano completo fue dividido en dos, debido a la forma del grano, ya que dicha situación ocurrió en granos aislados o en contacto, por lo que en ningún caso influyó el tamaño de la muestra, situación contraria a la señalada por Severini *et al.* (2011), quienes al registrar el número de granos de maíz (*Zea mays* L. var. everta) mediante fotografías digitales (entre 100 y 700 granos por imagen) y el uso de ImageJ, observaron que en muestras pequeñas ocurrió subestimación y sobrestimación en las muestras grandes.

Las diferencias porcentuales son más grandes cuando el número de granos contenidos en la muestra es menor a 500, al superarse dicha cantidad, el error relativo es menor de uno (Figura 3). La reducción del error relativo medio entre el número de granos observados y los calculados conforme se incrementa el tamaño de la muestra indica que el número de granos sub y sobrestimados se mantiene, de acuerdo con Maloney *et al.* (2014), la exactitud se incrementa a mayor tamaño de la muestra e indican que una limitante es la cantidad de grano que se puede capturar en una imagen, la cual depende de la cámara digital y su configuración, de la capacidad del contenedor o recipiente dónde se coloquen las muestras. Dicha cantidad también depende del tamaño del grano, en las observaciones de este estudio con el escáner de cama plana utilizado caben alrededor de 2 000 granos distribuidos al azar, sin tocar los bordes del cristal.

separate a pair of grains in contact, so it counted them as one, or excluded them due to the restriction by size; on the other hand, the overestimation was due to the fact that the whole grain was divided in two, due to the shape of the grain, since this situation happened in isolated grains or in contact, so in no case influenced the size of the sample, contrary to that indicated by Severini *et al.* (2011) (*Zea mays* L. var. Everta) using digital photographs (between 100 and 700 grains per image) and the use of ImageJ, observed that in small samples there was underestimation and overestimation in large samples.

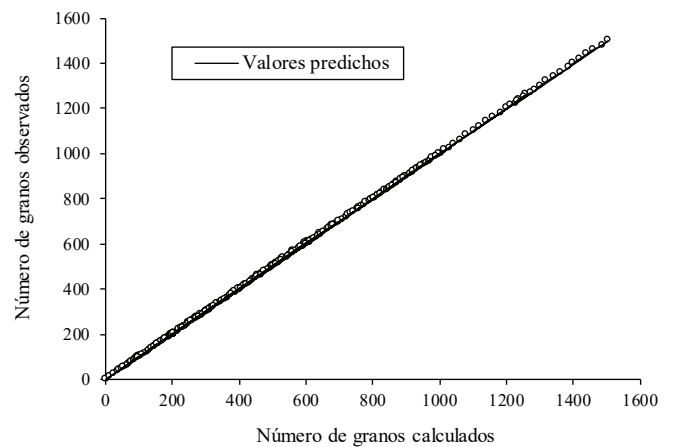


Figura 1. Relación entre el número de granos de trigo observados y calculados mediante PAID.

Figure 1. Relationship between the number of wheat grains observed and calculated by PAID.

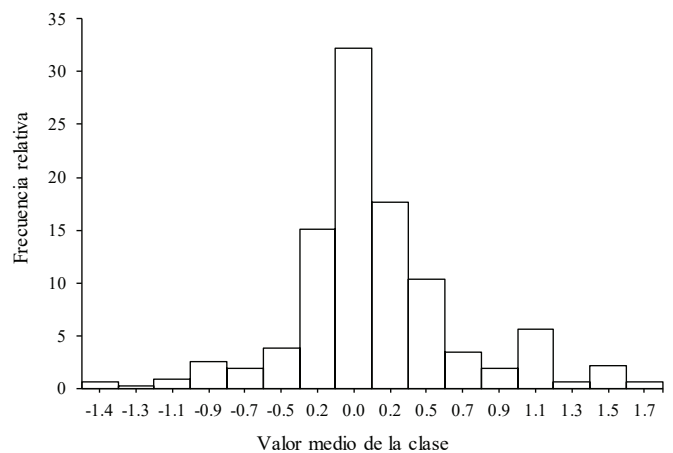


Figura 2. Distribución de frecuencias del error relativo entre número de granos observados y calculados.

Figure 2. Frequency distribution of the relative error between number of grains observed and calculated.

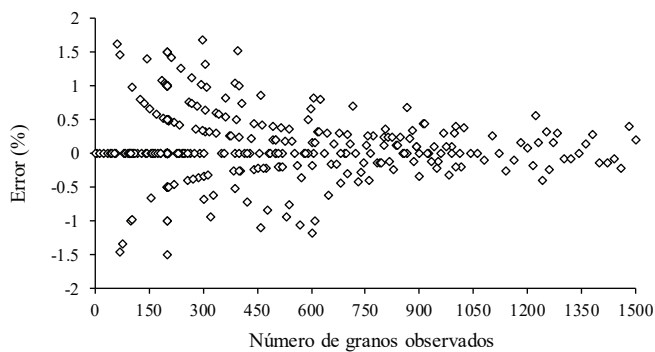


Figura 3. Distribución del error porcentual con respecto al número de granos de trigo observados.
Figure 3. Percent error distribution with respect to the number of wheat grains observed.

El método basado en PAID es capaz de separar los granos en contacto con efectividad mínima de 98.32%, resultado superior a 25 y 90% reportado por Faessel y Courtois (2009) en arroz (*Oryza sativa* L), con el uso de los algoritmos Watershed (transformación divisoria) y Gap-Filling (relleno de líneas) respectivamente, implementados en ImageJ, es ligeramente superior a 97.3% en trigo rojo de primavera del oeste de Canadá (CWRS) y a 96.1% en trigo CWAD, obtenidos por Zhang *et al.* (2005) mediante análisis de imágenes segmentadas con el algoritmo ajuste de elipses (Ellipse Fitting), programado en Visual C++® (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Está dentro de los valores de precisión señalados por Mebatsion y Paliwal (2011), quienes obtuvieron 99.5% en CWAD, 97.5% en CWRS, en avena y centeno 97% y en cebada 96.5%, utilizando fotografías digitales y algoritmos de trazado de contorno (Elliptic Fourier) en Matlab 7.9® (The Math Works, Natick, USA). La efectividad en la separación de los granos en contacto además depende del contraste entre el color del grano y del fondo, la calidad de la imagen y el proceso previo a la aplicación del algoritmo de separación utilizado. Lin *et al.* (2014) señalan que los errores en la segmentación de la imagen se deben principalmente al ruido durante la obtención de la imagen.

El tiempo para procesar las imágenes fue de 1.71 a 4.59 s, con muestras de hasta 1 500 granos, y presenta una respuesta lineal positiva con el tamaño de muestra ($R^2=0.94$, $p\leq 0.01$). El tiempo promedio para el procesamiento fue de 2.62 s, y para todo el proceso incluyendo la digitalización fue de 55 s para cualesquier cantidad de grano que contenga la superficie del escáner, mientras que en forma visual y con el contador electromecánico hay un incremento lineal conforme aumenta el tamaño de la muestra (Cuadro 2). El tiempo de

The percentage differences are larger when the number of grains contained in the sample is less than 500, when this quantity is exceeded, the relative error is less than one (Figure 3). The reduction of the mean relative error between the number of grains observed and those calculated as the sample size increases indicates that the number of under and overestimated grains is maintained, according to Maloney *et al.* (2014), accuracy increases to a larger sample size and indicate that a limiting factor is the amount of grains that can be captured in an image, which depends on the digital camera and its configuration, on the capacity of the container where the samples are placed. This amount also depends on the size of the grain, in the observations of this research with the flatbed scanner used, about 2 000 grains fit randomly distributed without touching the edges of the glass.

The method based on PAID is able to separate the grains in contact with a minimum effectiveness of 98.32%, a result superior to 25 and 90% reported by Faessel and Courtois (2009) in rice (*Oryza sativa* L), with the use of Watershed algorithms and y Gap-Filling respectively, implemented in ImageJ, is slightly higher than 97.3% in western Canadian red wheat (CWRS) and 96.1% in CWAD wheat, obtained by Zhang *et al.* (2005) using segmented image analysis with the ellipses fitting algorithm, programmed in Visual C++® (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). It is within the precision values indicated by Mebatsion and Paliwal (2011), who obtained 99.5% in CWAD, 97.5% in CWRS, oats and rye 97% and 96.5% in barley, using digital photographs and contour plotting algorithms (Elliptic Fourier) in Matlab 7.9® (The Math Works, Natick, USA). The effectiveness in the separation of the grains in contact also depends on the contrast between the color of the grain and the background, the quality of the image and the process prior to the application of the separation algorithm used. Lin *et al.* (2014) indicate that the errors in the segmentation of the image are mainly due to the noise during the obtaining of the image.

The time to process the images was 1.71 to 4.59 s, with samples of up to 1 500 grains, and showed a positive linear response with the sample size ($R^2=0.94$, $p\leq 0.01$). The average time for processing was 2.62 s, and for the entire process including the scanning was 55 s for any amount of grain that contains the scanner surface, while visually and with the electromechanical counter there is a linear increase according to the increases in the sample size (Table 2). The processing time also depends on the size

procesamiento también depende del tamaño o resolución de la imagen, el número de granos y el número de contacto, programa y equipo computacional utilizado. Las imágenes a escala de grises o con resolución >300 ppp requieren menor tiempo para la digitalización. Lin *et al.* (2014) reportan 4.3 s en el programa Matlab R2009a® para procesar imágenes (1 200 ppp) de muestras de 100 granos de arroz, con diferentes escenarios de granos en contacto. Faessel y Courtois (2009) señalan 8 s para procesar muestras con alrededor 200 granos de arroz, en imágenes de 300 ppp y escala de grises. Severini *et al.* (2011) indican aproximadamente 120 s por muestra, desde la toma de fotografías digitales hasta el PAID con ImageJ para contabilizar granos de maíz (*Zea mays* L. var. everta).

El método visual requiere mayor tiempo para registrar 100 granos o más, el contador electromecánico es más rápido contar 100 granos e igual que el PAID para registrar 200, pero incrementa a casi el doble a partir de 300 granos y presentó el mayor coeficiente de variación (Cuadro 2), debido a que el avance de los granos en el contador no es constante, éste se reduce conforme disminuye la muestra en el recipiente, también ocurre por no presionar con firmeza el botón de avance o dejar de hacerlo involuntariamente. Además requiere de muestras de grano completamente limpias, porque el sensor registra pequeñas impurezas. La desviación estándar del tiempo requerido para el registro visual y con contador del número de granos se incrementó a mayor tamaño de la muestra, lo cual es indicador de fatiga, de acuerdo con Mascord y Heath (1992) la desviación estándar y el tiempo en sí, que los individuos tardan en reaccionar, se incrementa conforme aumenta el tiempo dedicado a realizar una tarea monótona y repetitiva.

or resolution of the image, the number of grains and the number of contact between them, program and computer equipment used. Grayscale images or resolutions less than 300 dpi require less time for scanning and processing. Lin *et al.* (2014) reported 4.3 s in the Matlab R2009a® program to process images (1200 ppi) of samples of 100 grains of rice, with different grains in contact. Faessel and Courtois (2009) indicate 8 s to process samples with around 200 grains of rice, in images of 300 dpi and grayscale. Severini *et al.* (2011) indicate approximately 120 s per sample, from taking digital photographs to PAID with ImageJ to account for maize grains (*Zea mays* L. var. Everta).

The visual method requires more time to register 100 grains or more, the electromechanical counter is faster counting 100 grains and the same as the PAID to record 200, but increases to almost double from 300 grains and presented the showed the biggest coefficient of variation (Table 2), because the grain movement in the counter is not constant, it is reduced as the sample in the container decreases, also occurs when the button is not pressed firmly or when it is unintentionally stopped. It also requires completely clean grain samples, because the sensor registers small impurities. The standard deviation of the time required for visual and counter recording of the number of grains increased to a larger sample size, which is indicative of fatigue, according to Mascord and Heath (1992), the standard deviation and the time it takes for individuals to react, increases as time performing a monotonous and repetitive task increases.

Cuadro 2. Estadísticas descriptivas del tiempo (s) requerido por el contador electromecánico, con el PAID y en forma visual (individuo 1 y 2).

Table 2. Descriptive statistics of the time (s) required by the electromechanical meter, with PAID and in visual form (individual 1 and 2).

Núm. de granos	Contador electromecánico			PAID			Individuo 1			Individuo 2		
	Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV	Media	DE	CV
100	35.2	11.5	32.8	52.4	2.1	4	71.6	6	8.4	61.8	18.9	30.6
200	55.8	12.7	22.8	55.6	3.1	5.6	165.4	44.4	26.9	128.6	26.2	20.4
300	101.2	20.5	20.3	55.8	3.8	6.9	257.2	29.8	11.6	194.2	25.8	13.3
400	128.2	38.1	29.8	54.2	4.3	7.9	361.8	74.2	20.5	239.8	43.4	18.1
500	176.4	49.3	27.9	54.8	3.7	6.8	396.2	36.3	9.2	330.4	54.3	16.4
600	252.4	58.5	23.2	55.8	2.7	4.8	431.6	131.3	30.4	351	85.4	24.3

n= 5; DE= desviación estándar; CV= coeficiente de variación.

La restricción por tamaño permite clasificar los granos, los enteros midieron desde 14.2 a 30 mm², los quebrados y chicos de 4 a 14.1 mm², por lo que el criterio para considerar todos, fue de 4 a 30 mm² y circularidad de 0.4 a 1, la circularidad y el largo del grano permite separar entre granos chicos y quebrados, éstos últimos presentan menor longitud y circularidad arriba de 0.8, ésta última característica resulta útil para reforzar el análisis de calidad física del grano, ya que un criterio utilizado para clasificar el grano de trigo como quebrado, es cuando mide menos de $\frac{3}{4}$ partes del largo promedio de granos completos (Punn y Bhalla, 2013).

Conclusiones

El procesamiento y análisis de imagen digital (AID) registra con precisión el número de granos de trigo y permite obtener sus dimensiones individuales aunque éstos en la imagen se encuentren en contacto. La diferencia entre el número de granos observados y los calculados disminuye con el incremento del tamaño de la muestra; también la velocidad es superior con respecto al conteo manual cuando las muestras presentan cien granos o más, y a partir de doscientos supera al contador electromecánico, lo que representa una ventaja en ahorro de tiempo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT, Proyecto No. 146788, por el financiamiento parcial de la presente investigación y su publicación.

Literatura citada

- Braadbaart, F. and van Bergen, P. F. 2005. Digital imaging analysis of size and shape of wheat and pea upon heating under anoxic conditions as a function of the temperature. *Vegetation History and Archaeobotany*. 14:67-75.
- Breseghele, F. and Sorrells, M. E. 2006. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics Society of America*. 172:1165-1177
- Cleva, M. S.; Sampallo, G. M.; González, T. y Acosta, C. A. 2013. Método para la determinación del volumen de una muestra de granos de arroz mediante el procesamiento digital de imágenes. *Rev. Investig. Agrop.* 39(2):185-190.

The size restriction allowed to classify the grains, the complete were from 14.2 to 30 mm², the broken and small were from 4 to 14.1 mm², so that the criterion to consider all of them was from 4 to 30 mm² and circularity from 0.4 to 1, the circularity and the length of the grain allows to separate between small and broken grains, these last have smaller length and circularity above 0.8, this last characteristic is useful to reinforce the analysis of physical quality of the grain, since a criterion used to classify the wheat grain as broken, is when it measures less than $\frac{3}{4}$ parts of the average length of complete grains (Punn and Bhalla, 2013).

Conclusions

Digital image processing and analysis (AID) accurately records the number of wheat grains and allows to obtain their individual dimensions even though these in the image are in contact with each other. The difference between the number of grains observed and calculated decreases with the increase in sample size; the speed is also higher with respect to the manual counting when the samples have a hundred grains or more, and from two hundred it surpasses the electromechanical counter, which represents an advantage in saving time.

End of the English version



- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; González, L.; Tablada, M. y Robledo, C. W. 2014. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 431 pp.
- Eckardt, N. A. 2010. Evolution of domesticated bread wheat. *Plant Cell*. 22(4):993.
- Faessel, M. and Courtois, F. 2009. Touching grain kernels separation by gap-filling. *Image Analysis and Stereology*. 28:195-203.
- Ferreira, T. and Rasband, W. S. 2012. *ImageJ user guide: IJ 1.46 r*. Bethesda, MD: National Institutes of Health. 185 p.
- Gegas, V. C.; Nazari, A.; Griffiths, S.; Simmonds, J.; Fish, L.; Orford, S.; Sayers, L.; Doonan, J. H. and Snape, J. W. 2010. A genetic framework for grain size and shape variation in wheat. *Plant Cell*. 22:1046-1056.
- Konopka, I.; Tanska, M.; Pszczołkowska, A.; Fordonski, G.; Koziro, W. and Olszewski, J. 2007. The effect of water stress on wheat kernel size, color, and protein composition. *Polish J. Natural Sci.* 22:157-171.
- Lin, P.; Chen, Y. M.; He, Y. and Hu, G. W. 2014. A novel matching algorithm for splitting touching rice kernels based on contour curvature analysis. *Computers and Electronics in Agriculture Journal*. 109:124-133.

- Maloney, P. V.; Petersen, S.; Navarro, R. A.; Marshall, D.; McKendry, A. L.; Costa, J. M. and Murphy, J. P. 2014. Digital image analysis method for estimation of fusarium-damaged kernels in wheat. *Crop Sci. Soc. Am.* 54:2077-2083.
- Mascord, D. J. and Heath, R. A. 1992. Behavioral and physiological indices of fatigue in a visual tracking task. *J. Safety Res.* 23:19-25.
- Mebatsion, H. K.; Paliwal, J. and Jayas, D. S. 2013. Automatic classification of non-touching cereal grains in digital images using limited morphological and color features. *Computers and Electronics in Agriculture Journal.* 90:99-105.
- Mebatsion, H. K. and Paliwal, J. 2011. A Fourier analysis based algorithm to separate touching kernels in digital images. *J. Bio. Eng.* 108:66-74.
- Okamoto, Y.; Nguyen, A. T.; Yoshioka, M.; Iehisa, J. C. and Takumi, S. 2013. Identification of quantitative trait loci controlling grain size and shape in the D genome of synthetic hexaploid wheat lines. *Breed. Sci.* 63:423-429.
- Pietragalla, J. and Pask, A. J. D. 2013. Rendimiento de grano y componentes del rendimiento. *In: fitomejoramiento fisiológico II: una guía de campo para la caracterización fenotípica de trigo.* Pask, A. J. D.; Pietragalla, J.; Mullan, D. M.; Chávez-Dulanto, P. N. y Reynolds, M. P. (Eds.). Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). México, D. F. 95-103 pp.
- Punn, M. and Bhalla, N. 2013. Classification of wheat grains using machine algorithms. *Int. J. Sci. Res.* 2(8):363-365.
- Ramya, P.; Chaubal, A.; Kulkarni, K.; Gupta, L.; Kadoo, N.; Dhaliwal, H. S.; Chhuneja, P.; Lagu, M. and Gupta, V. 2010. QTL mapping of 1000-kernel weight, kernel length, and kernel width in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Appl. Gen.* 51(4):421-429.
- Rasband, W. S. 2014. ImageJ; U. S. National institutes of health. Bethesda. Maryland, USA. <http://ImageJ.nih.gov/ij/> 1997-2014.
- Rasheed, A.; Xia, X.; Ogbonnaya, F.; Mahmood, T.; Zhang, Z.; Mujeeb-Kazi, A. and He, Z. 2014. Genome-wide association for grain morphology in synthetic hexaploid wheats using digital imaging analysis. *BMC Plant Biol.* 14(1):128.
- Sadras, V. O. and Egli, D. B. 2008. Seed size variation in grain crops: allometric relationships between rate and duration of seed growth. *Crop Sci. Soc. Am.* 48:408-416.
- Severini, A. D.; Borrás, L. and Cirilo, A. G. 2011. Counting maize kernels through digital image analysis. *Crop Sci. Soc. Am.* 51:2796-2800.
- Shouche, S. P.; Rastogi, R.; Bhagwat, S. G. and Sainis, J. K. 2001. Shape analysis of grains of Indiana wheat varieties. *Computers and Electronics in Agriculture Journal.* 33:55-76.
- Tanabata, T.; Shibaya, T.; Hori, K.; Ebana, K. and Yano, M. 2012. SmartGrain: highthroughput phenotyping software for measuring seed shape through image analysis. *Plant Physiol.* 160:1871-1880.
- Visen, N. S.; Shashidhar, N. S.; Paliwal, J. and Jayas, D. S. 2001. Identification and segmentation of occluding groups of grain kernels in a grain sample image. *J. Agric. Eng. Res.* 79(2):159-166.
- Whan, A. P.; Smith, A. B.; Cavanagh, C. R.; Ral, J.-P. F.; Shaw, L. M.; Howitt, C. A. and Bischof, L. 2014. GrainScan: a low cost; fast method for grain size and colour measurements. *Plant Methods.* 10:23.
- Williams, K. and Sorrells, M. E. 2014. Three-dimensional seed size and shape QTL in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) populations. *Crop Sci. Soc. Am.* 54:98-110.
- Williams, K.; Munkvold, J. and Sorrells, M. E. 2013. Comparison of digital image analysis using elliptic Fourier descriptors and major dimensions to phenotype seed shape in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica.* 190:99-116.
- Wiwart, M.; Suchowilska, E.; Lajszner, W. and Graban, Ł. 2012. Identification of hybrids of spelt and wheat and their parental forms using shape and color descriptors. *Computers and Electronics in Agriculture.* 83:68-76.
- Zhang, G.; Jayas, D. S. and White, N. D. G. 2005. Separation of touching grain kernels in an image by ellipse fitting algorithm. *J. Bio. Eng.* 92(2):135-142.