



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0614476-4 A2**

(22) Data de Depósito: 01/08/2006
(43) Data da Publicação: 29/03/2011
(RPI 2099)



(51) *Int.Cl.:*
A01H 5/10

(54) Título: **SEMENTES DE CANOLA AMARELA DE BAIXO TEOR DE FIBRAS COMPREENDENDO ALTO TEOR OLÉICO, BAIXO TEOR DE ÓLEO LINOLÊNICO**

(30) Prioridade Unionista: 01/08/2005 US 60/704,469

(73) Titular(es): Her Majesty The Queen In Right Of Canada As Represented By The Minister Of Agriculture And Agri-Food Canada

(72) Inventor(es): CHIBWE CHUNGU , GERHARD RAKOW, JOHN P. RANEY, THOMAS J. KUBIK

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2006029813 de 01/08/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/016521 de 08/02/2007

(57) Resumo: SEMENTES DE CANOLA AMARELA DE BAIXO TEOR DE FIBRAS COMPREENDENDO ALTO TEOR OLÉICO, BAIXO TEOR DE ÓLEO LINOLÊNICO. A presente invenção refere-se a canola de semente amarela, de baixo teor de fibras, e farinha grossa de canola e ração animal relacionadas. O óleo produzido a partir desta semente tem no mínimo 68% de ácido oléico e não mais de 3% de ácido linolênico, relativamente aos ácidos graxos totais no óleo. Também são proporcionadas linhagens de canola específicas apresentando estas características. Até o momento não foi proporcionada semente de canola oferecendo as vantagens combinadas de excelente óleo junto com farinha grossa de alta qualidade.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**SEMENTES DE CANOLA AMARELA DE BAIXO TEOR DE FIBRAS COMPREENDENDO ALTO TEOR OLÉICO, BAIXO TEOR DE ÓLEO LINOLÊNICO**".

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

5 Canola é uma colheita de óleo importante. O óleo de canola é considerado um óleo comestível superior devido a seus baixos níveis de ácidos graxos saturados. "Canola" se refere a semente de colza (*Brassica* spp.) que tem um teor de ácido erúcico (C22:1) de no máximo 2 por cento em peso (comparado com o teor de ácidos graxos totais de uma semente) e que produz (de-
10 pois de trituração) uma farinha grossa secada ao ar contendo menos de 30 micromoles (μmol) de glucosinolatos por grama de farinha grossa desengordurada (sem óleo). Estes tipos de semente de colza são diferenciados por sua comestibilidade em comparação com variedades mais tradicionais das espécies.

Óleo de canola regular (extraído de variedades de sementes de
15 colza naturais e comerciais anteriores) tem teor relativamente elevado (8% a 10%) de ácido α -linolênico (C_{18:3}) (ALA). Este ácido graxo é instável e facilmente oxidado durante o cozimento, o qual por sua vez cria sabores impróprios do óleo. Também desenvolve odores impróprios e aromas rançosos durante o armazenamento.

20 É de conhecimento geral que a redução do nível do teor de α -linolênico por hidrogenação aumenta a estabilidade oxidativa do óleo. Hidrogenação é usada rotineiramente para reduzir o teor de poliinsaturados de óleos vegetais. A indústria de alimentos tem usado hidrogenação para aumentar o ponto de fusão de óleos vegetais, levando à criação de produtos à base de óleo
25 com texturas similares a manteiga, banha de porco e sebo. Durante hidrogenação, são comumente produzidos trans isômeros de ácidos graxos insaturados. No entanto, as propriedades nutricionais de ácidos graxos trans simula ácidos graxos saturados, deste modo reduzindo a desejabilidade global de óleos hidrogenados.

30 O desenvolvimento do óleo NATREON (uma marca registrada da Dow AgroSciences) criou um óleo de canola ainda mais saudável e aumentou a

estabilidade oxidativa do óleo. Sementes NEXERA são relacionadas. Óleo de canola NATREON tipicamente tem mais de 70% de ácido oléico (C18:1) e menos de 3% de ácido linolênico (C18:3). Foi demonstrado que os efeitos dietéticos de alto teor oléico e baixo teor linolênico têm efeitos dramáticos sobre a saúde reduzindo as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e têm pouco ou nenhum efeito adverso nas lipoproteínas de alta densidade. As lipoproteínas de baixa densidade mediam a deposição de colesterol nos vasos sanguíneos levando a arterosclerose e doença cardíaca coronária. As Patentes dos Estados Unidos N^{os} 6.489.543 (SV095-08); 6.433.254 (Nex 705); 6.455.763 (S010); e 6.444.879 (1709) se referem a variedades de canola de alto teor oléico agronomicamente superiores. As Patentes dos Estados Unidos N^{os} 5.965.755 e 6.169.190 (AG019) se referem a óleo de canola de alto teor oléico e baixo teor de ácido linolênico.

Embora a farinha grossa de semente de colza tenha teor de proteína relativamente elevado, seu alto teor de fibras reduz sua digestibilidade e seu valor como uma ração animal. Comparada com a farinha grossa de soja, a farinha grossa de canola regular contém maiores valores de fibras dietéticas. Devido a seu alto teor de fibras dietéticas, a farinha grossa de canola tem cerca de 20% menos energia metabolizável (ME) do que a farinha grossa de soja. Em consequência, o valor da farinha grossa permaneceu baixo em relação a outras farinhas grossas de sementes oleaginosas tais como farinha grossa de soja. Rakow (2004a) reporta que a farinha grossa de canola é vendida por cerca de 60 a 70% do preço da farinha grossa de soja principalmente devido ao alto teor de fibras da farinha grossa de canola (cerca de 12% de fibra bruta) comparada com farinha grossa de soja (cerca de 4% de fibra bruta), a qual reduz seu valor alimentar particularmente em rações para porcos e aves domésticas. A farinha grossa de canola contém aproximadamente 36 a 38% de proteína bruta ao passo que a farinha grossa de soja contém 48% no estado em que es encontra. Além disso, a presença de glucosinolatos reduz o valor de uma farinha grossa de canola devido aos efeitos nocivos que estes compostos têm sobre o crescimento e a reprodução do gado.

Em canola, a maior parte da seleção genética até o momento tem

sido focalizado no teor de óleo e nas características agronômicas. A melhora da qualidade da farinha grossa em canola de *Brassica napus* deve se focalizar no aumento do teor de energia metabolizável (ME) da farinha grossa de modo a torná-la mais competitiva com outros alimentos de alto teor de proteína tais como farinha grossa de soja em rações para animais monogástricos. A redução nos níveis de fibras aumentaria o valor nutritivo da farinha grossa de canola elevando a proporção de proteína e ME.

Foi visto que canola com cascas das sementes amarelas têm cascas mais finas e portanto menos fibra e mais óleo e proteína do que variedades com cascas das sementes de cor escura. A cor do revestimento das sementes é geralmente dividida em duas classes principais, amarelo ou preto (ou marrom escuro), embora também sejam observados tons variáveis destas cores, tais como marrom-avermelhado e marrom-amarelado. A cor do revestimento das sementes em semente de colza pode ser diferente dependendo da espécie e da variedade de *Brassica* em particular. Variedades de semente de colza de semente amarela são comuns em países Asiáticos, e na China, há uma abundância de cultivares de semente amarela em produção, particularmente nas variedades *B. juncea* e *B. rapa*.

Stringam *et al.* (1974) reportaram que sementes amarelas de *B. rapa* tiveram maior teor de óleo, maior teor de proteína, e menor teor de fibra do que sementes marrons. Bell & Shires (1982) estudaram a composição de cascas de semente de canola amarela e marrom e compararam sua digestibilidade por porcos. As cascas marrons contiveram mais fibra e lignina. Shirzadegan & Robbelen (1985) reportaram um teor médio 2,6% maior de óleo e proteína em sementes marrons versus pretas, e uma redução de 3% nos teores de fibras e cascas de sementes amarelas e marrons comparadas com formas de sementes pretas comuns.

Bell (1995) observaram que farinha grossa de canola tinha alta qualidade nutricional mas a presença de cascas na farinha grossa reduziu os níveis de energia disponível e proteína, bem como aminoácidos e minerais. O valor nutricional da farinha grossa de canola pode ser aprimorado reduzindo os teores de fibras e/ou cascas, levando a maior digestibilidade de proteína e amino-

ácidos disponíveis. O desenvolvimento de variedades de semente amarela com menos casca é oferecido como uma possibilidade para aumentar o valor alimentar da farinha grossa de canola.

Simbaya *et al.* (1995) compararam farinhas grossas de semente amarela de *B. napus*, *B. juncea*, e *B. rapa* com canola de semente marrom. Em média, amostras de semente amarela tiveram maior teor de proteína e menor teor de fibras dietéticas (e lignina).

Getinet & Rakow (1997) estudaram os padrões de hereditariedade de repressão da pigmentação da casca da semente em *B. carinata*. Slominski *et al.* (1999) compararam o valor nutritivo para frangos a serem grelhados alimentados com farinhas grossas derivadas destas linhagens/variedades.

Por mais de 20 anos, Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC)-Saskatoon conduziram pesquisa para o desenvolvimento de *B. napus* de semente amarela e produziram diferentes fontes de idioplasma de *B. napus* de semente amarela (Rashid *et al.* 1994; Rashid & Rakow 1995; Rakow *et al.* 1999 a & b; e Relf-Eckstein *et al.* 2003), o último dos quais compara YN97-262 e três outras linhagens de semente amarela para 46A65.

Rashid *et al.* (1994) se referem a um esquema de cruzamento interespecífico usado para desenvolver *B. napus* de semente amarela (com traços tais como aprimorada fertilidade). Rakow *et al.* (1999a) observa que em *B. napus* não ocorrem tipos de semente amarela naturalmente; todos foram desenvolvidos através de hibridizações interespecíficas com *B. napus*, *B. juncea*, e *B. rapa* em várias combinações de cruzamento. Linhagens anteriores tiveram menor teor de óleo do que linhagens de semente preta (atribuídas a baixo desenvolvimento de embriões), tiveram baixa produção, e foram altamente suscetíveis a caruncho (*Leptosphaeria maculans*). Rakow *et al.* (1999b) se referem a uma nova fonte "muito necessária" de *B. napus* de semente amarela, a qual foi desenvolvida a partir de cruzamentos interespecíficos entre WESTAR de semente preta e *B. juncea* e *B. carinata* de semente amarela. Foi reportado que as linhagens de semente amarela obtidas deste modo têm baixo teor de ácido erúxico, baixo teor de glucosinolatos, 60 a 65% de ácido oléico, 18 a 20% de ácido linoléico, e 7 a 9% de ácido linolênico.

Rakow (2004b) reporta que sementes oleaginosas de *Brassica* de sementes amarelas têm níveis de fibras de farinha grossa significativamente reduzidos e teor de óleo de semente aumentado, comparadas com formas de sementes pretas ou marrons. Esta referência discute os resultados de um relatório de dezembro de 2003 onde a linhagem de sementes amarelas YN01-429 foi comparada com 46A65 de sementes pretas. Os resultados são como se segue:

Tabela 1		
	YN01-429	46A65
Produção (kg/ha)	1640	1520
Cor (WIE*)	-46,6	1,9
Óleo de Semente %	47,86	43,88
Proteína de Farinha Grossa %	52,55	54,27
Peso da Semente (g/1000s)	3,33	2,79
glucosinolatos (umol/g)	11,1	14,1
TSAT %	6,58	6,91
C22:1	0,016	0,021
Caruncho (% de Westar)	53	15
ADF % de farinha grossa	9,62	15,69
ADL % de farinha grossa	1,82	7,36

(* a cor foi medida pelo método E313, índice branco)

Esta referência também reporta uma demanda crescente de óleos vegetais de alto teor oléico/de baixo teor de ácido linolênico, termoestáveis, de baixo teor de ácido graxo trans para aplicações de frigimento. Esta referência reporta um desejo de reduzir o teor de fibras e o teor de glucosinolato para aumentar o valor nutricional global da farinha grossa de canola para satisfazer uma demanda crescente de fontes de farinha grossa de alto teor de proteína à base de plantas para a indústria alimentar. Esta referência reporta adicionalmente que foram desenvolvidas linhagens de idioplasma com baixo teor de gordura saturada total (4,5 a 5,0%), baixo teor de glucosinolato total (< 3 µmoles/grama de semente), alto peso da semente (> 3 gramas/ 100 sementes) e resistência a doença em formas de *B. napus* de semente amarela, e que futu-

ras metas incluem continuar a aumentar os referidos grupos genéticos, e aumentar o teor de proteína da farinha grossa e o tamanho das sementes.

Rakow & Raney (2003) observam que o óleo da semente de colza (canola) tem alto teor de ácido oléico e ácidos graxos poliinsaturados essenciais, e que aprimoramentos da qualidade do óleo adicionais incluiriam o desenvolvimento de variedades de teor muito elevado de ácido oléico/baixo teor de ácido linolênico (HOLL) para uso em aplicações de frigimento, e a criação de óleos saturados de teor de gordura baixo e muito baixo (zero). De acordo com esta referência, os aprimoramentos da qualidade da farinha grossa se focalizam sobre reduções de fibras (especialmente lignina) através da criação das formas de *B. napus* de semente amarela. A redução ou eliminação de glucosinolatos é listada como uma meta de reprodução adicional. Esta referência observa adicionalmente que novas colheitas de sementes oleaginosas de *Brassica*, tais como *B. juncea* e *B. carinata*, estão em desenvolvimento, mas é observado que cada espécie tem desafios de qualidade de óleo de semente e farinha grossa específicos que precisam ser tratados, inclusive modificação de composições de ácido graxo para melhorar a qualidade do óleo.

Níveis de óleo e níveis de proteína aprimorados são objetivos primários de programas de reprodução de semente de colza. Portanto, é desejável a introdução de um traço de casca de semente amarela em variedades de canola, no interesse de proporcionar aprimoramentos tanto nos níveis de óleo quanto de proteína das sementes. No entanto, a integração de genes controlando a pigmentação das sementes a partir de espécies de *Brassica* relacionadas em variedades de sementes oleaginosas de *Brassica* valiosas, tais como variedades de canola, é complicada pelo fato de que múltiplos alelos recessivos estão envolvidos na herança de cascas das sementes amarelas em linhagens de semente amarela atualmente disponíveis. O encrespamento da vagem também é um problema comum devido a pareamento de cromossoma insatisfatório quando a cor de semente amarela é introgressada de outras espécies de *Brassica*, tais como *juncea* e *carinata*.

As Patentes dos Estados Unidos N^{os} 6.547.711 e 6.380.466 se referem a semente de colza tendo uma casca de semente amarela controlada por

uma mutação de único locus. A Patente Européia No. EP 1 031 577 se refere a uma planta de Brassica transformada com um gene de casca de semente transparente.

- Até o momento não foi obtido o desenvolvimento, e vantagens potenciais, de canola de semente amarela combinada com tendo alguns perfis de óleos benéficos.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

- A presente invenção proporciona canola de semente amarela que pode ser usado para produzir não somente óleo tendo perfis de ácido graxo vantajosos (mais de 68% de ácido oléico, em peso, e menos de 3% de ácido linolênico, em relação aos ácidos graxos totais) mas também farinha grossa altamente nutritiva para animais tais como frango. A semente de canola da presente invenção oferece a combinação altamente vantajosa de óleo saudável (para a indústria do cozimento e semelhantes) junto com ração animal de alto teor de proteína, baixo teor de fibras. Esta combinação até o momento não tem estado disponível a partir de um único tipo de semente.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

- Óleo de canola se refere a óleo extraído de variedades comerciais de semente de colza. Para produzir óleo de canola, a semente é tipicamente classificada e combinada em elevadores de grãos para produzir um produto aceitavelmente uniforme. A semente combinada é em seguida triturada, o óleo é tipicamente extraído com hexano, e em seguida refinado. O óleo resultante é em seguida vendido para uso. O teor de óleo é tipicamente medido como percentagem da semente seca total e é característico de diferentes variedades de canola. (O teor de óleo pode ser determinado usando várias técnicas analíticas tais como RMN, NIR, e extração de Soxhlet.) A percentagem de ácidos graxos totais é tipicamente determinada extraindo uma amostra de óleo de semente produzindo os ésteres metílicos de ácidos graxos presentes nesta amostra de óleo, e analisando as proporções dos vários ácidos graxos na amostra usando cromatografia gasosa. A composição de ácido graxo também pode ser uma característica peculiar de uma variedade.

Apesar do óleo de canola, em geral, ter sido reconhecido como um

óleo muito saudável, o componente de farinha grossa da semente (que sobra depois de extrair o componente de óleo) é inferior a (e não economicamente competitivo com) farinha grossa de soja devido ao alto teor de fibras (e correspondente reduzido valor nutricional). Portanto, a presente invenção proporciona uma fonte altamente nutritiva e econômica de ração animal - farinha grossa de canola - a qual tem sido até o momento um subproduto de menor valor atualmente. A presente invenção proporciona valor de recaptura a partir deste "sub-produto." Portanto, a presente invenção também preserva recursos valiosos.

A presente invenção se refere em parte a canola de semente amarela capaz de produzir óleo de canola tendo um perfil de óleo do tipo NATREON. Conforme usado aqui, neste requerimento de patente, um perfil de óleo "do tipo NATREON" ou "semelhante ao NATREON" significa um teor de ácido oléico preferencialmente em uma faixa de 68 a 80%, 70 a 78%, 71 a 77%, e 72 a 75% (mais preferencialmente), todos com um teor de alfa linolênico abaixo de 3%. No entanto, a presente invenção não está limitada a sementes amarelas que produzem os óleos referidos, mas inclui óleo de semelhantes sementes tendo um teor de ácido oléico maior do que 80%, por exemplo. Há muitos modos conhecidos na técnica para medir o teor de ácido graxo referido. Métodos de medição preferenciais são discutidos aqui, neste requerimento de patente, particularmente nos Exemplos. Os óleos da presente invenção são naturalmente estáveis; eles não são artificialmente hidrogenados.

Portanto, a presente invenção inclui, em algumas modalidades, sementes de canola amarelas compreendendo uma fração de óleo e uma fração de farinha grossa, a referida fração de óleo tendo um teor de ácido α -linolênico de 3% ou menos relativo ao teor de ácidos graxos totais das referidas sementes, e um teor de ácido oléico de 68% ou mais relativo ao teor de ácidos graxos totais das referidas sementes. Por definição, o teor de ácido erúico (C22:1) também é de menos de 2 por cento em peso (comparado com o teor de ácidos graxos totais de uma semente), e cada grama de farinha grossa desengordurada (livre de óleo) (depois de trituração e uma secagem ao ar) contém menos de 30 micromoles (μmol) de glucosinolatos.

A cor amarela das sementes é importante porque corresponde a

características nutricionais aprimoradas do componente de farinha grossa obtido depois da extração do óleo. Vários componentes aprimorados são discutidos em mais detalhes abaixo, tais como reduzida lignina, reduzidos fitatos, e açúcares e amido aumentados.

5 A presente invenção agora proporciona, pela primeira vez, canola de semente amarela de baixo teor de fibras que também proporciona um óleo superior de alto teor oléico e baixo teor linolênico. Além disso, a presente invenção surpreendentemente proporciona adicionalmente estes traços em combinação com outros traços valiosos (tais como excelente produção, alto teor de
10 proteína, e alto teor de óleo (além de qualidade). Geralmente, as sementes amarelas da presente invenção têm uma casca das sementes consideravelmente mais delgada do que as cascas pretas e marrons. A casca de semente mais delgada resulta em um teor de fibra reduzido na farinha grossa e um aumento associado no teor de óleo e proteína das sementes comparado com níveis
15 normais de óleo e proteína. Os genótipos de semente amarela em questão geralmente têm maiores concentrações de óleo e proteína em suas sementes. Além disso, quando produtos de proteína comestíveis são preparados a partir de farinha grossa de semente de colza a cor escura da semente preta é um problema considerável. A casca de semente preta dá uma cor cinza desagradável a produtos de proteína preparados a partir de farinha grossa de semente
20 de colza. Portanto a redução na cor da casca de semente da semente de colza da invenção aumenta a qualidade da proteína e aumenta a energia disponível global proporcionada pelas farinhas grossas da presente invenção.

 Não foram obtidas previamente linhagens de plantas capazes de
25 produzir perfis de óleos semelhantes a NATREON, combinadas com o traço de semente amarela e aprimoramentos associados na farinha grossa resultante. Portanto, a presente invenção proporciona vantajosamente não somente linhagens de canola de semente amarela, porém linhagens de canola de semente amarela tendo perfis de óleos semelhantes a NATREON benéficos. Adicionalmente surpreendente é que estes perfis de óleos benéficos podem ser obtidos,
30 com sementes amarelas, enquanto proporcionando excelente produção, qualidade protéica, e outras qualidades vantajosas.

Portanto, a presente invenção proporciona, pela primeira vez, sementes de canola tendo dois componentes altamente úteis: um excelente componente de óleo, e um componente de farinha grossa altamente nutricional. Vários aspectos destes componentes são descritos em mais detalhes abaixo.

5 Em algumas modalidades específicas, a presente invenção proporciona variedades de *Brassica napus* de semente amarela tendo perfis óleo benéficos (naturalmente estável (não hidrogenado) de alto teor de oléico, de baixo teor linolênico), em que algumas das variedades são selecionadas entre DN03-3743, DN03-3745, DN03-3746, DN03-3747, DN03-3748, DN03-3749, DN03-10 3744, e DN03-4169. As linhagens de canola da presente invenção foram estabilizadas para produzir sementes amarelas tendo um teor de ácido linolênico de menos de 3% e um teor de ácido oléico de 68% ou mais relativo ao teor de ácidos graxos totais. De acordo com a presente invenção, pode ser produzida um grupo de sementes de colza essencialmente uniforme. A semente referida pode 15 ser usada para produzir um campo de plantas de colza essencialmente uniformes.

Conforme mostrado aqui, neste requerimento de patente, estes são os requisitos mínimos para o óleo, e foram obtidos resultados ainda melhores. Por exemplo, em modalidades preferenciais, semente (da presente invenção) 20 obtida de plantas (da presente invenção) produzem óleo tendo mais de 70%, mais de 71%, mais de 71,5%, e mais de 72% (e em alguns casos, até 72,4% e 72,7%) de ácido oléico, enquanto tendo teor de ácido linolênico de menos de 2,4%, menos de 2%, menos de 1,9%, menos de 1,8%, e até 1,7%. Estes perfis de óleo benéficos foram obtidos enquanto retendo várias outras características 25 valiosas no componente de farinha grossa, conforme discutido acima e em mais detalhes abaixo.

Ainda adicionalmente, foram obtidos óleos tendo estes perfis a partir de plantas tendo uma classificação da cor da semente de menos de 2, menos de 1, e tão baixa quanto 1. A menos que indicado de modo diverso, conforme reportado aqui, neste requerimento de patente, a classificação da cor da 30 semente ou "cor da semente" é geralmente classificada em uma escala de 1 a 5 com base em sementes obtidas a partir de plantas saudáveis na ou próximo à

maturidade completa da semente. "1" significa uma boa cor amarela. "2" significa essencialmente amarelo com algum marrom. "3" indica uma mistura de marrom e amarelo. "4" e "5" significam marrom e preto, respectivamente. Também são proporcionados escores de índice de brancura (WI) na **Tabela 2** e são descritos em mais detalhes abaixo nos Exemplos. As linhagens parentais de semente amarela YN97-262 e 9592 têm escores de índice de brancura de -34,6 e -33,2, respectivamente, e escores de cor de semente de 1. As linhagens de semente preta NATREON, Nex 715 e Nex 705 têm escores de índice de brancura de -0,2 e -4,4, respectivamente, e escores de cor de semente de 4. As

5
10
15

linhagens de comparação de semente preta 46A65 e Q2 têm escores de índice de brancura de 0,3 e -3,9, respectivamente, e escores de cor de semente de 5. As 7 linhagens NATREON de semente amarela exemplificadas "DN03" têm escores de índice de brancura entre -22,6 e -36,2, e um escore de cor de semente de 1 a 2. Deste modo, a amarelidão das sementes em questão também pode ser descrita em termos de uma percentagem ou outra proporção comparada com qualquer uma destas linhagens de controle ou de teste.

Tabela 2. Dados agronômicos e de qualidade médios de progênies BC₁F₆ e testes de uma prova de produção replicada realizada no sítio AAFC-Saskatoon no Ano 3.

ID (Méd- dia)	DTF	DTM	Ht	LDG (1-5)	sdwt	Pro- du- ção kg/ha	% de mé- dia de 46A6 5 &Q2	BLK	Mé- dia mais pró- xima de Wes- tars	C18: 1	C18: 2	C18: 3	% de Óleo Sat	% de Glucs	Cor da se- men- te (1- 5)	WI	ADF	% de Ver- me- lho	ADL	% de Ver- me- lho	NDF	% de Ver- me- lho
DN03 47 -3743	88	104	1	2,9	1075	70	1,00	2,05	72,4	16,2	1,9	7,0	44,30	13,00	1,0	-33,4	8,3	43,0	1,2	83,0	16,1	32
DN03 46 -3744	88	107	1	3,4	981	70	0,28	2,05	71,8	17,1	1,9	6,7	45,41	12,20	2,0	-22,6	8,2	43,0	1,3	81,0	1,1	29
DN03 48 -3745	88	105	1	3,1	1064	69	0,95	2,04	71,3	17,1	2,3	6,8	44,33	12,30	1,5	-35,8	8,2	43,0	1,2	85,0	16,4	31
DN03 48 -3746	89	101	1	3,0	1221	80	0,88	2,04	72,1	16,7	1,8	6,8	44,48	11,80	1,0	-36,2	8,2	43,0	1,2	83,0	16,3	29
DN03 44 -3747	87	94	1	3,2	1195	78	1,20	2,80	72,2	17,0	1,7	6,6	44,91	11,50	1,0	-35,8	8,1	44,0	1,3	84,0	15,7	28
DN03 47 -3748	90	100	1	3,3	954	62	0,61	2,80	72,0	17,0	1,8	6,6	44,22	11,50	1,5	-35,1	7,5	48,0	1,2	86,0	16,4	35
DN03 47 -3749	90	98	1	3,4	942	61	0,84	2,55	72,7	16,3	1,8	6,7	43,52	11,20	1,5	-34,8	7,7	47,0	1,0	83,0	16,0	37
Nex 45 715	87	102	1	3,2	1300	85	0,23	2,55	77,2	12,3	1,8	6,4	42,79	10,50	4,0	-0,2	15,2	-5,0	5,3	-6,0	20,8	-1

Tabela 2. Dados agronômicos e de qualidade médios de progênies BC₁F₆ e testes de uma prova de produção replicada realizada no sítio AAFC-Saskatoon no Ano 3.

ID (Mét- dia)	DTF	DTM	Ht	LDG (1-5)	sdwt	Pro- du- ção kg/ha	% de mé- dia de 46A6 5 &Q2	Mé- dia mais pró- xima de Wes- tars	C18: 1	C18: 2	C18: 3	% de Sat	% de Óleo	Glucs	Cor da se- men- te (1- 5)	WI	ADF	% de Ver- me- lho	ADL	% de Ver- me- lho	NDF	% de Ver- me- lho	
Nex 705	46	89	95	1	3,5	1729	112	1,08	2,60	76,6	13,0	1,9	6,4	47,84	11,10	4,0	-4,4	11,3	21,0	2,9	44,0	17,5	12
DN99 50 -6738 Arg	50	88	107	1	2,9	1535	100	0,15	2,60	75,0	13,9	1,8	6,9	45,73	10,60	4,0	-7,5	10,0	31,0	1,9	57,0	15,6	23
DN99 51	51	89	104	1	2,7	1464	95	-	-	75,4	13,5	1,8	7,0	45,84	10,40	4,0	-9,9	9,5	34,0	2,0	60,0	16,1	23
6738- GH																							
YN97 46 -262	46	89	98	1	3,5	1240	80	1,47	2,89	65,7	18,9	5,9	7,2	47,29	16,90	1,0	-34,6	6,9	52,0	1,2	86,0	16,5	40
YN95 46 92	46	86	104	1	3,0	992	65	1,89	2,89	55,6	22,3	12,9	6,8	42,44	12,50	1,0	-33,2	7,0	48,0	1,0	81,0	15,9	35
46A6 42 5	42	85	93	1	2,5	1436	94	0,30	2,65	66,9	17,7	6,1	7,0	44,21	14,70	5,0	0,3	13,0	5,0	4,9	6,0	19,6	1
Q2	46	87	101	1	2,9	1637	106	0,15	2,65	66,4	17,0	7,2	7,0	43,79	13,70	5,0	-3,9	10,5	22,0	3,3	36,0	18,6	16

O componente de farinha grossa das sementes da presente invenção tem alto teor de proteína, baixo teor de fibras, baixo teor de lignina, baixo teor de glucosinolatos, baixo teor de fitatos, e/ou baixo teor de ésteres de ácidos sinápicos (SAEs), por exemplo. Fibra insolúvel, lignina, glucosinolatos, fitatos, e ésteres de ácidos sinápicos são antinutricionais e prejudicam a digestão de proteínas e aminoácidos. As plantas armazenam fósforo sob a forma de fitato, portanto fitato-fósforo não digerido em resíduo animal é uma importante preocupação ambiental.

Os componentes de farinha grossa em questão e rações animais compreendendo os mesmos são especialmente bons para animais monogástricos tais como porcos e galinhas. Embora os sistemas digestivos de animais ruminantes (tais como gado) sejam convenientes para consumo e digestão de fibras e fitato, estes animais não fazem uso do componente de proteína de alta qualidade da farinha grossa de canola porque as proteínas são rapidamente usadas por bactérias do rume. Portanto, a redução dos componentes de fibras, fitato, e SAE da farinha grossa de canola em questão podem aumentar bastante o valor nutricional destas farinhas grossas para porcos, galinhas, e semelhantes.

Conforme discutido em mais detalhes nos Exemplos abaixo, as cepas de semente amarela da presente invenção têm boa produção e produzem sementes tendo teor muito menor de fibra detergente ácida (ADF), lignina detergente ácida (ADL), e fibra detergente neutra (NDF) comparadas com qualquer uma das linhagens de "controle". Deve ser observado que qualquer um dos pontos de dados em qualquer uma das Tabelas apresentadas aqui, neste requerimento de patente pode ser usado para definir plantas, sementes, e óleo da presente invenção. (Qualquer um dos números exemplificados pode ser usado como desfechos para definir faixas acima, abaixo, ou entre quaisquer dos números exemplificados.) Algumas destas faixas para características dos óleos foram discutidas acima. As mesmas também podem ser ilustradas por outros fatores. As linhagens e sementes da presente invenção também podem ser definidas por combinações de semelhantes faixas. Por exemplo, as características dos óleos discutidos acima junto com níveis de fibras e níveis de fitato caracte-

rísticos, por exemplo, podem ser usadas para definir linhagens e sementes da presente invenção.

Outras combinações de semelhantes características também são possíveis. Por exemplo, o teor total combinado de óleo e proteína das sementes também é uma medida útil e uma característica única das sementes em questão.

Como outro Exemplo mais específico, as oito linhagens "DN03" exemplificadas têm escores ADL de 1,0, 1,2, 1,3, e 1,7. Vide a **Tabela 2**. Estes escores significam reduções de lignina de 81, 83, 84, 85, 86, e 71% (dependendo da variedade da presente invenção), comparadas com Nex 715. Lignina é um componente especialmente importante das fibras para reduzir para ração de animais monogástricos porque a lignina é completamente indigerível por semelhantes animais. Portanto, a redução da lignina na fonte de farinha grossa pode aumentar muito a energia metabolizável e o valor nutricional da farinha grossa para os animais referidos.

Além disso, sementes preferenciais (e farinha grossa) da presente invenção, ao mesmo tempo que proporcionando óleo superior conforme discutido acima, também têm níveis muito desejavelmente baixos de glucosinolatos. Por exemplo, as concentrações de glucosinato podem ser de menos de 13 micromoles por grama, menos de 12,3, menos de 12,2, menos de 11,8, menos de 11,5, e tão pouco quanto 11,2 micromoles por grama (medido usando metodologia padrão a menos que indicado de modo diverso). Portanto, a presente invenção inclui sementes trituradas, em que as referidas sementes são sementes de *Brassica napus*, tendo um teor de glucosinato médio (por gramas de farinha grossa) nas faixas especificadas acima.

As características de fitato também podem ser usadas para definir sementes, plantas, e linhagens ou variedades da presente invenção. Fitato para DN03-3746, por exemplo, foi determinado como sendo 1,3%, que é menor do que todos os "controles" exceto por Nex 715. No entanto, Nex 715 é uma linhagem de menor teor de óleo (mas é resistente a caruncho). Vide a **Tabela 14**, abaixo. Vide também a **Tabela 2**, a qual mostra cerca de 44,5% de óleo para DN03-3746 e cerca de 42,8% de óleo para Nex 715.

Além dos níveis de fibras e outros fatores discutidos acima, os valores da energia metabolizável podem ser relacionados com o teor de sacarose (e outro açúcar) na farinha grossa. A presente invenção proporciona variedades de canola com alto teor de sacarose (e outro açúcar), com aprimorada energia metabolizável e portanto valor de farinha grossa. Por exemplo, DN03-3746 tem um teor de sacarose de cerca de 12%, o qual é consideravelmente maior do que 46A65, Nex 705, Nex 715, e Nex 720. DN03-3746 tem um teor de glicose de cerca de 19%, o qual é consideravelmente maior do que Q2, 46A65, Nex 705, Nex 715, Nex 710, e Nex 720. DN03-3746 também tem níveis de ramnose, fucose, arabinose (6,1%) e manose (acima de 1,8%) que são maiores do que os para todos de Q2, 46A65, Nex 705, Nex 715, Nex 710, e Nex 720. Níveis de galactose para DN03-3746 de cerca de 4.7% também são maiores do que os de Nex 705, Nex 715, e Nex 710, e são comparáveis aos de Nex 720.

A proteína bruta para DN03-3746 (cerca de 51%) também foi maior do que a de Q2, 46A65, Nex 705, Nex 715, Nex 710, e Nex 720.

Combinado com estes aspectos do componente de farinha grossa, a presente invenção também inclui sementes em que a fração de óleo tem um teor de ácido α -linolênico entre 1,7% e cerca de 2,3% (ou menos desta faixa) relativo ao teor de ácidos graxos totais das referidas sementes. Além disso, o componente de óleo pode compreender ácido oléico a partir de cerca de 71,3% até cerca de 72,7% (ou superior). As sementes em questão são sementes amarelas, tendo um escore de cor preferencialmente na faixa de cerca de 1 a cerca de 2, com reduções correspondentes em fibras (inclusive lignina), glucosinolatos, fitatos, e/ou SAE e semelhantes. Faixas preferenciais para estes componentes da fração de farinha grossa são proporcionadas acima e alhures aqui, neste requerimento de patente.

Uma linhagem exemplificada da presente invenção (DN03-3746, por exemplo) produz sementes tendo um escore da cor da semente de 1, um escore do índice de brancura de cerca de -36,2, cerca de 44,5% de óleo total, um teor de óleo compreendendo cerca de 72% de ácido oléico e cerca de 1,8% de ácido linolênico, e um componente de farinha grossa tendo cerca de 8,2% de ADF, cerca de 1,2% de ADL, cerca de 16,3% de NDF, cerca de 47% de pro-

teína, e cerca de 1,3% de fitato. Nem todas estas características são necessárias para definir as linhagens e sementes da presente invenção, mas podem ser usadas características adicionais para definir as linhagens e sementes da presente invenção (tais como % de sacarose, AME, e etc.). As principais características são a casca da semente amarela e os perfis de óleo benéfico (alto teor oléico, baixo teor linolênico).

Várias combinações de traços também podem ser identificadas em, e são exemplificadas por, as linhagens DN04 ou "04" proporcionadas nos Exemplos abaixo. Particularmente dignos de nota nestes Exemplos para estas linhagens são a produção, a % de óleo, e os números da % de proteína, além do perfil de óleo e de reduzidos teores de fibras. Estas linhagens ilustram que a presente invenção pode ser usada para proporcionar e obter várias combinações novas e inesperadas de uma ampla variedade de características e traços de canola benéficos.

Traços vantajosos das linhagens de *Brassica napus* em questão podem ser transferidos para outros tipos de *Brassica* (através de reprodução convencional e semelhantes), tais como *Brassica rapa*, com as plantas resultantes produzindo sementes tendo cascas das sementes amarelas e teor de óleo aumentado (teor de ácido oléico maior do que 68% e teor de ácido linolênico de menos de 3%). As farinhas grossas e sementes da presente invenção têm um nível reduzido de fibras da semente e outras características relacionadas.

Portanto, a presente invenção trata uma necessidade para linhagens de sementes de canola com teores aprimorados de óleo e de proteína útil, e teor de fibras reduzido. A invenção é dirigida a sementes de colza que têm a combinação benéfica de um teor de óleo superior junto com cascas das sementes amarelas. Há aspectos relacionados da presente invenção, tais como as plantas que produzem as referidas sementes de colza. A presente invenção inclui não somente sementes amarelas de canola tendo perfis de óleo NATREON, mas também plantas cultivadas ou produzidas de modo diverso a partir de semelhantes sementes, e culturas de tecidos de células regeneráveis das plantas de canola em questão. Também deve ser observado que as linhagens e-

xemplificadas foram obtidas sem engenharia genética e sem mutagênese.

A presente invenção se refere de modo geral a qualquer planta de canola de semente amarela, ou à própria semente amarela, em que a semente tem perfis de óleo do tipo NATREON. Em algumas modalidades específicas, a presente invenção é dirigida a linhagens específicas conforme descrito aqui, neste requerimento de patente. Foram depositadas sementes de duas linhagens representativas. Como parte desta descoberta, no mínimo 2500 sementes de DN03-3746 e DN03-4169 foram depositadas e tornadas disponíveis para o público sem restrição (mas sujeitas aos direitos de patente), com a American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, Md. 20852. Os depósitos foram designados como ATCC Deposit N^{os} PTA-6806 e PTA-6807, respectivamente, com uma data de depósito de 24 de junho de 2005. Os depósitos serão mantidos sem restrição no depositário da ATCC, o qual é um depositário público, por um período de 30 anos, ou cinco anos depois da solicitação mais recente, ou pela vida efetiva da patente, o que for mais longo, e serão substituídos se se tornarem inviáveis durante este período.

A presente invenção inclui semente de quaisquer das variedades de *Brassica napus* descritas aqui, neste requerimento de patente. A presente invenção também inclui plantas de *Brassica napus* produzidas por semelhante seemente, bem como culturas de tecidos de células regeneráveis de semelhantes plantas. Também é incluída uma planta de *Brassica napus* regenerada a partir de semelhante cultura de tecido, particularmente onde a referida planta é capaz de expressar todas as propriedades morfológicas e fisiológicas de uma variedade exemplificada. As plantas de *Brassica napus* preferenciais da presente invenção têm as características importantes e/ou identificantes fisiológicas e morfológicas de uma planta cultivada a partir da semente depositada.

Esta invenção compreende adicionalmente progênie de semelhante semente e semente possuindo os traços de qualidade de interesse. Esta invenção inclui adicionalmente processos para fazer cruzamentos usando linhagens e/ou variedades da presente invenção como no mínimo uma planta de origem da progênie das sementes descritas acima e óleo derivado das referidas sementes.

Por exemplo, a presente invenção inclui uma planta de *Brassica napus* híbrida F₁ tendo como uma ou ambas as planta de origem de qualquer uma das plantas exemplificadas aqui, neste requerimento de patente. Também dentro da presente invenção está semente de *Brassica napus* produzida por
5 semelhantes híbridos F₁ da presente invenção. Esta invenção inclui um método para produzir uma semente de *Brassica napus* de híbrido F₁ por cruzamento de uma planta exemplificada com uma planta de canola de origem endógama diferente e colhendo a semente híbrida resultante. A presente invenção inclui uma planta exemplificada que é ou uma planta de origem fêmea ou uma planta de
10 origem macho.

Os níveis e perfis de óleo e proteína exemplificados podem ser adicionalmente aprimorados por cruzamento das plantas da invenção com outras linhagens tendo altos níveis de óleo e proteína. Igualmente, outras características podem ser aprimoradas por cuidadoso exame da planta de origem. As li-
15 nhagens da presente invenção são benéficas para cruzar os traços de semente amarela e perfil de óleo ideais em outras linhagens de colza ou canola. Estes traços podem agora ser transferidos para outras plantas dentro da mesma espécie por meio de técnicas de reprodução vegetal convencionais incluindo polinização por cruzamento e seleção da progênie. Além disso, os traços desejados podem ser transferidos entre espécies usando as mesmas técnicas de re-
20 produção vegetal convencionais envolvendo transferência de pólen e seleção. Vide, por exemplo, *Brassica crops and wild allies biology and breeding*, editada por S. Tsunada et al., Japan Scientific Press, Tokyo (1980); *Physiological Potentials for Yield Improvement of Annual Oil and Protein Crops*, editada por Diepenbrock and Becker, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin, Vienna (1995);
25 *Canola and Rapeseed*, editada por F. Shahidi, Van Nostrand Reinhold, N.Y. (1990); e *Breeding Oilseed Brassicas*, editada por Labana et al., Narosa Publishing House, New Dehli (1993).

Tendo obtido e produzido linhagens representativas da presente
30 invenção, os traços de óleo e cor da casca da semente amarela em questão podem ser agora prontamente transferidos para outras plantas, incluindo espécie *Brassica campestris*, por meio de técnicas de reprodução de plantas con-

vencionais e semelhantes. As técnicas convencionais referidas incluem polinização por cruzamento e seleção da progênie. As técnicas referidas podem ser igualmente usadas para transferir o traço entre espécies. Variedades de *campestris* disponíveis comercialmente, por exemplo, incluem Tobin, Horizon, Colt, e semelhantes. Uma abordagem inclui, depois do cruzamento interespecífico, membros auto-polinizantes da geração F_1 para produzir semente F_2 . Em seguida pode ser conduzido retrocruzamento para obter linhagens apresentando o traço desejado. Adicionalmente, métodos de fusão de protoplastos e transplante nuclear podem ser usados para transferir o traço de uma espécie para outra.

10 Vide, de modo geral, "Fusion of Higher Plant Protoplasts" por Albert W. Ruebink, *Methods in Enzymology*, Vol. LVIII, Jakoby and Pastan. (eds). Academic Press, Inc., New York, N.Y. (1979), e as referências citados nas mesmas; e Carlson et al. (1972), *Proc. Natl. Acad Sci. USA* 69:2292.

A presente invenção inclui variedades de *Brassica napus*, bem como variedades essencialmente derivadas que foram essencialmente derivadas de no mínimo uma das variedades exemplificadas. Além disso, a presente invenção inclui uma planta de no mínimo uma das variedades exemplificadas, uma planta de uma variedade essencialmente derivada semelhante, e uma planta de colza regenerada a partir de semelhantes plantas ou tecido (incluindo pólen, sementes, e células) das mesmas.

20

Será prontamente evidente que, dada uma das variedades em questão como um ponto de partida, os benefícios particulares proporcionados por esta variedade podem ser manipulados em uma série de modos pelo profissional versado sem se afastar do escopo da presente invenção. Por exemplo, o perfil de óleo de semente presente em uma variedade exemplificada pode ser transferido para outras variedades de *Brassica napus* agronomicamente desejáveis por meio de técnicas de reprodução de planta convencionais envolvendo polinização por cruzamento e seleção da progênie, por exemplo.

25

Podem ser selecionadas células de plantas que são capazes de regeneração tais como sementes, micrósporos, óvulos, pólen, partes vegetativas, particularmente micrósporos. Na maior parte, as células vegetais referidas podem ser selecionadas entre qualquer variedade de *Brassica*, particularmente

30

aquelas tendo traços agronômicos desejados.

Técnicas de regeneração são conhecidas na área. Pode-se inicialmente selecionar células capazes de regeneração (por exemplo, sementes, micrósporos, óvulos, pólen, partes vegetativas) de uma planta ou variedade selecionada. Estes células podem ser submetidas opcionalmente a mutagênese. Uma planta é em seguida desenvolvida a partir das células usando técnicas de regeneração, fertilização, e/ou crescimento com base no tipo de células (e se elas são mutagenizadas). Técnicas de regeneração aplicáveis são de conhecimento daqueles versados na área; vide, por exemplo, Armstrong, C. L., and Green, C. E., *Planta* 164:207-214 (1985); Duncan, D. R. *et al.*, *Planta* 165:322-332 (1985); e, Close, K. R., and Ludeman, L. A., *Plant Science* 52:81-89 (1987).

Semelhantes manipulações de plantas ou sementes, ou partes das mesmas, podem levar à criação do que pode ser denominado variedades "essencialmente derivadas". A União Internacional para a Proteção de Novas Variedades de Plantas (UPOV, *International Union for the Protection of New Varieties of Plants*) proporcionou a seguinte diretriz para determinar se uma variedade foi derivada essencialmente de uma variedade protegida:

[A] variedade deve ser considerada como sendo essencialmente derivada de outra variedade ("a variedade inicial") quando

- (i) for predominantemente derivada da variedade inicial, ou de uma variedade que é a própria predominantemente derivada da variedade inicial, enquanto conservando a expressão das características essenciais que resultam do genótipo ou combinação de genótipos da variedade inicial;
- (ii) for claramente diferenciável da variedade inicial; e
- (iii) exceto pelas diferenças as quais resultam do ato de derivação, combina com a variedade inicial na expressão das características essenciais que resultam do genótipo ou combinação de genótipos da variedade inicial.

UPOV, Sixth Meeting with International Organizations, Genebra, Oct. 30, 1992; documento preparado pelo Escritório da União (*Office of the Union*).

Modalidades preferenciais da presente invenção incluem farinhas

grossas em que a referida farinha grossa compreende semente de canola em que a referida semente tem características de óleo e farinha grossa conforme discutido acima. A presente invenção inclui farinha grossa de canola com hexano extraído, secada ao ar tendo uma nova combinação de características conforme discutido acima. A presente invenção inclui farinha grossa produzida a partir das sementes de *Brassica napus* depositadas, e farinha grossa produzida a partir de sementes de progênie das sementes depositadas referidas.

Conforme usado aqui, neste requerimento de patente, uma "linhagem" é um grupo de plantas que apresentam pouca ou nenhuma variação genética entre indivíduos para no mínimo um traço. As linhagens referidas podem ser criadas por várias gerações de auto-polinização e seleção, ou propagação vegetativa a partir de uma única planta de origem usando técnicas de cultura de tecido ou célula. Conforme usado aqui, neste requerimento de patente, os termos "cultivar" e "variedade" são sinônimos e se referem a uma linhagem que é usada para produção comercial.

"Estabilidade" ou "estável" significa que com respeito ao componente dado, o componente é mantido de geração a geração e, preferencialmente, no mínimo três gerações em substancialmente o mesmo nível, por exemplo, preferencialmente $\pm 15\%$, mais preferencialmente $\pm 10\%$, ainda mais preferencialmente $\pm 5\%$. A estabilidade pode ser afetada pela temperatura, localização, stress e o momento de plantio. A comparação de gerações subsequentes sob condições de campo deve produzir o componente em uma maneira similar.

Linhagens "comercialmente úteis" têm bom vigor das plantas e alta fertilidade, de tal modo que a safra pode ser produzida por agricultores usando equipamento de agricultura convencional, e o óleo com os componentes descritos pode ser extraído da semente usando equipamento de trituração e extração convencional. Para ser comercialmente útil, a produção, medida tanto por peso da semente, teor de óleo, e óleo total produzido por acre, tipicamente está dentro de 15% da produção média de uma variedade de canola comercial comparável de modo diverso sem os traços de valor premium cultivados na mesma região. Linhagens "agronomicamente de elite" têm características agrônômicas desejáveis tais como produção, maturidade, resistência a doença, e estandabi-

lidade.

Segue-se uma lista dos nomes comuns de ácidos graxos, conforme usado aqui, neste requerimento de patente, junto com seu número de átomos de carbono e ligações duplas. Gorduras saturadas têm zero ligações duplas.

Tabela 3

Nome	Número de Átomos de Carbono Por Molécula	Número de Ligações Duplas Por Molécula
Láurico	12	0
Mirístico	14	0
Palmítico	16	0
Palmitoléico	16	1
Esteárico	18	0
Oléico*	18	1
Vaccênico**	18	1
Linoléico	18	2
Alfa-Linolênico	18	3
Araquídico	20	0
Eicosenóico	20	1
Beênico	22	0
Erúcico	22	1
Lignocérico	24	0
Nervônico	24	1

5 * = ligação dupla na posição delta-9

** = ligação dupla na posição delta-11

“Ácido graxo saturado” se refere ao teor combinado de ácidos láurico (C12:0), mirístico (C:14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), araquídico (C20:0), beênico (C22:0), e lignocérico (24:0). “Ácido graxo poliinsaturado” se refere ao

10 teor combinado de ácidos linoléico e α -linolênico. A quantidade de ácidos graxos, tais como ácidos oléico e linolênico, que são características dos óleos em questão são expressadas como uma percentagem do teor de ácidos graxos totais do óleo (a menos que especificado de modo diverso).

O “teor de proteína” é medido como percentagem de semente seca

15 total, e diferentes variedades têm diferentes conteúdos de proteína característicos. O conteúdo de proteína pode ser determinado usando várias técnicas ana-

líticas tais como NIR e Kjeldahl.

Glucosinolatos são medidos em micromoles (μm) de glucosinolatos alifáticos totais por grama de farinha grossa sem óleo secada ao ar. O nível de glucosinolatos é um tanto influenciado pela fertilidade de enxofre do solo mas também é controlado pela constituição genética de cada variedade (e portanto pode ser útil na caracterização de variedades).

A menos que indicado de modo diverso, todos os cálculos (para conteúdo de fibras e semelhantes) foram obtidos usando técnicas que são conhecidas na área e aceitas na indústria.

A presente invenção necessariamente foi discutida aqui, neste requerimento de patente, por referência a certos métodos e materiais específicos. A enumeração destes métodos e materiais é meramente ilustrativa e de modo algum constitui qualquer limitação do escopo da presente invenção. Deve ser esperado que os versados na técnica podem discernir e praticar variações de ou alternativas para os ensinamentos específicos proporcionados aqui, neste requerimento de patente, sem se afastar do escopo da presente invenção.

A menos que indicado de modo diverso, os termos “um” e “uma” conforme usados aqui, neste requerimento de patente se referem a no mínimo um.

Todas as patentes, requerimentos de patente, requerimentos provisórios, e publicações referidas a ou citadas aqui, neste requerimento de patente, são incorporadas por meio de referência em sua totalidade na medida que não sejam inconsistentes com os ensinamentos explícitos deste Relatório Descritivo.

Seguem-se Exemplos que ilustram procedimentos para praticar a invenção. Estes Exemplos não devem ser considerados como limitantes. Todas as percentagens são em peso e todas as proporções de misturas solventes são por volume a menos que mencionado de modo diverso.

Exemplo 1 - Linhagens Parentais e Ano 0

No Ano 0, foram selecionadas as seguintes linhagens parentais : DAS NATREON *B. napus* Nex 705 (M94S007) e Nex 715 (M97A222), e as linhagens de semente amarela AAFC YN97-262 e 9592. Nex 715 tem menor

teor de óleo do que Nex 710, mas Nex 715 tem genes de resistência a caruncho. Dados de qualidade e agronômicos destas linhagens foram medidos para fins comparativos e para rastrear o progresso e aprimoramento das linhagens subsequentes.

- 5 Nex 705 foi usado em retrocruzamentos para criar as duas progê-
nies seguintes: YN97-262/Nex 715//Nex 705 e 9592/Nex715//Nex 705.

Para introgressar genes de resistência a caruncho, esta progênie foram retrocruzadas com Nex 715 para produzir as duas progênies seguintes: YN97-262/Nex 705//Nex 715 e 705, 9592/Nex 705//Nex 715.

- 10 1235 plantas BC_1F_1 foram cultivadas para produzir sementes de BC_1F_2 .

Exemplo 2 - Ano 1

- No Ano 1, 1092 fileiras de BC_1F_2 foram cultivadas em Saskatoon. Estas consistiram de 540 progênies BC_1F_2 de [9592/Nex705//Nex 705] e
15 [9592/Nex715//Nex 705], e 552 progênies BC_1F_2 de [YN97-262/Nex 705//Nex 715] e [YN97-262/Nex 715//Nex 705]. 268 fileiras da progênie BC_1F_2 também foram cultivadas dos cruzamentos de 9592, e 252 fileiras da progênie BC_1F_2 dos cruzamentos de YN97-262.

- Além disso, 272 fileiras da progênie BC_1F_2 do cruzamento de
20 9592, e 300 progênies de BC_1F_2 de cruzamentos de YN97-262 foram cultivados no sítio de AAFC em Saskatoon

Cada fileira de BC_1F_2 foi replicada duas vezes, e as plantas de origem foram usadas como testes a cada 10^a fileira na sementeira.

- Para as plantas cultivadas na localização de Moon Lake, foram i-
25 dentificadas fileiras segregantes para cor de semente amarela. Todas as plantas em cada fileira de BC_1F_2 foram avaliadas para cor da semente na primeira replicação, e somente foram colhidas plantas com boa cor amarela. Na segunda replicação, somente foram colhidas linhagens que apresentaram classificação de cor da semente de 3 ou melhor na 1^a replicação.

- 30 Para as plantas cultivadas no sítio AAFC Saskatoon, a primeira replicação foi colhida por máquina de ceifar e debulhar, e em seguida as sementes foram classificadas para a presença de amarelo. Com base nesta seleção,

todas as plantas de fileiras de semente amarela segregantes foram colhidas da segunda replicata, incluindo algumas fileiras de testes das plantas de origem.

Para semente obtida de ambos os sítios, análise de ácido graxo em volume foi primeiro conduzida sobre plantas BC1F3 selecionadas seguidas por análise de ácido graxo de meia semente em plantas que apresentaram alto teor de C18:1 e baixo teor de C18:3.

Exemplo 3 - Dezembro Ano 1 a Abril Ano 2

Plantas BC1F3 foram cultivadas para produzir semente de BC1F4 na estufa. Foi realizada seleção da cor da semente, e somente foram selecionadas 189 plantas BC1F4 para avaliação de campo do Ano 2.

As linhagens de BC1F4 foram avaliadas em uma sementeira replicada no sítio Moon Lake e no sítio Saskatoon. Duas replicações foram semeadas em cada sítio. Foram selecionadas 28 linhagens apresentando boas características agronômicas em ambos os sítios, e 10 plantas únicas foram colhidas de cada fileira. As plantas restantes de cada fileira foram amontoadas e analisadas para perfil de óleo e ácido graxo.

Plantas individuais foram classificadas por cor usando uma escala de 1 a 5. Plantas com uma classificação de 2 ou melhor foram enviadas para análise de ácido graxo. Sete plantas únicas de 3 fileiras de BC1F4 foram selecionadas e foi realizada análise de ½ semente.

Foram identificadas as quatro linhagens de *B. napus* BC1F5 do tipo NATREON amarelas de reprodução verdadeira seguintes: DN02-0548, DN02-0590, DN02-0591, e DN02-0592. Amostras de sementes a granel destas quatro linhagens e testes foram usadas para determinar os níveis de óleo e fibra. Em relação à variedade de semente preta Nex 715, as 4 linhagens tiveram uma média de uma redução de 34% em fibra detergente ácida, uma redução de 68% em lignina detergente ácida, e uma redução de 14% em fibra detergente neutra.

Exemplo 4 - Inverno Ano 2 ao Ano 3

Foi feito meia-semeadura em sete linhagens BC1F5 de DN02-0590, DN02-0591, e DN02-0592. Estas foram cultivadas em uma estufa no inverno dos Anos 2 e 3.

Além disso, foi produzido um cruzamento BC2F1 cruzando plantas

BC1F5 com uma linhagem de Natreon DN99-6738 (a qual tem alto teor de óleo e proteína, é R-classificado para caruncho, e tem um bom perfil de Natreon). As BC2F1 foram cultivadas a partir de micrósporos para produzir linhagens DH do tipo NATREON amarelas avaliadas na sementeira no Ano 4.

- 5 Em um teste de produção replicada no Ano 3, A semente autofecundada ou grande quantidade de plantas BC1F6 foi usada para avaliar a desempenho agrônômico e de qualidade das linhagens do tipo NATREON amarelas em relação a variedades comerciais de Nexera e variedades de teste de semente preta WCC/RRC (*Western Canadian Canola/Rapeseed Recommending Committee*) (Q2 e 46A65).

Exemplo 5 - Desenvolvimento de Linhagens Adicionais

- 15 As 7 linhagens BC1F6 desenvolvidas a partir do cruzamento de YN97-262/Nex 715//Nex 705 através de métodos de retrocruzamento tradicionais, seguidos pela resseleção de amarelo e qualidade de NATREON em gerações de retrocruzamento foram designadas como DN03-3743, DN03-3744, DN03-3745, DN03-3746, DN03-3747, DN03-3748, e DN03-3749. DN03-4169 é outra linhagem de semente amarela produzida a partir do cruzamento 9592/Nex 715/Nex 705. Estas linhagens apresentaram qualidade de óleo tipo NATREON e cor de semente amarela muito estável.

- 20 A Tabela 2 indica, para material cultivado em campo a partir destas linhagens, reduções nos níveis de fibras que foram obtidos, em relação à média de Nex 715 & 46A65.

- 25 Estas linhagens são estáveis e uniformes depois de 6 gerações de seleção. Não foram apresentadas plantas de tipo impróprio em várias avaliações. O cruzamento mais desenvolvido com estas linhagens é uma população derivada de BC2F1 que estava no estágio 1B no verão do ano 4.

- 30 Estas linhagens com perfis de óleo do tipo NATREON de semente amarela apresentaram características comercialmente valiosas em avaliações multianuais. As linhagens do tipo NATREON amarelas de reprodução verdadeira também são material valioso para uso em ração, onde o valor (inclusive monetário) da redução nas fibras dietéticas pode ser prontamente demonstrado.

Dados obtidos a partir destas oito linhagens cultivadas no sítio Sas-

katoon são proporcionados na Tabela 2. Estes dados incluem: dias para florir (DTF), dias para maturidade (DTM), altura, acamamento, peso da semente, produção, e resistência a caruncho. Também são inclusos a percentagem de ácidos graxos C18:1, C18:2, e C18:3, % total de saturados, % de óleo (teor de
5 óleo total) (American Oil Chemists' Society (AOCS) official Method Am 2-92), glucosinolatos (AOCS Official Method Ak 1-92 (93)), escore da cor da semente, ADF, ADL, e NDF (e a percentagem de redução dos três últimos escores de fibras comparados com Nex 715). A Tabela 4 apresenta dados destas seis linhagens clutivados no sítio Moon Lake, além das linhagens de NATREON pa-
10 rentais DN99-6738 (A.K.A. NQC02X01). A % de proteína para as linhagens da presente invenção também é digna de nota.

Tabela 4. Dados agronômicos e de qualidade médios de progênie BC₁F₆ e testes de uma prova de produção replicada realizada em Moon Lake no Ano 3

Nome	Fonte	Pedigree	DTF	DTM	HGT	LDG	C18:1	C18:2	C18:3	% de Sat	% de óleo	% de Pro- teína	Cor
DN033743	DN02-0591 F4	YN97-262/M97A222/M94S007	54	88	110	1,0	72,6	16,1	2,0	6,8	45,7	47,3	2
DN033744	DN02-0591 F4	YN97-262/M97A222/M94S007	52	87	110	1,5	73,5	16,4	1,6	6,2	46,9	47,2	2,5
DN033745	DN02-0590 F4	YN97-262/M97A222/M94S007	50	87	103	1,5	72,1	16,5	2,1	6,9	45,9	47,3	1,5
DN033746	DN02-0590 F4	YN97-262/M97A222/M94S007	52	89	110	1,0	72,7	16,8	1,7	6,5	45,0	47,0	1,5
DN033747	DN02-0590 F4	YN97-262/M97A222/M94S007	51	87	105	1,5	72,9	16,6	1,6	6,6	47,3	47,6	2
DN033748	DN02-0592 F4	YN97-262/M97A222/M94S007	52	89	108	1,5	71,4	17,8	1,8	6,4	43,1	45,1	1,5
DN033749	DN02-0592 F4	YN97-262/M97A222/M94S007	51	88	108	2,0	72,2	17,2	1,9	6,4	44,0	45,9	1,5
DN034169	DN02-0548 F4	9592/M97A222/M94S007	51	88	100	2,0	72,5	15,9	2,4	6,7	43,4	46,0	1,5
46A65			45	85	103	1,5	66,3	17,8	6,6	7,1	48,0	42,8	5
9592			52	86	103	1,5	57,7	22,0	11,0	7,0	42,7	46,5	2
NQC02X01-ARG			54	88	110	1,5	75,6	13,6	1,6	7,0	46,8	46,1	4,5
NQC02X01-GH			55	88	100	1,5	75,5	13,8	1,5	6,9	47,3	46,2	4,5
Q2			52	86	108	2,5	66,8	17,0	7,0	7,0	47,4	45,4	5
YN97262			54	87	110	1,5	67,0	18,0	5,6	7,2	49,1	47,6	2

Exemplo 6 - Protocolo para determinação de energia metabolizável e composição química de farinha grossa de canola de semente amarela, e desempenho de frangos a serem grelhados

A digestibilidade de aminoácidos (ileal) foi determinada com frangos a serem grelhados comerciais alojados em gaiolas. Os pintos foram alimentados com dieta de farinha grossa comercial a partir de 1 até 27 dias de idade e transferidos para uma dieta de tratamento contendo 0 ou 40% da farinha grossa de canola. Farinha grossa de teste foi adicionada à dieta basal às custas da dieta como um todo. Depois de um período de ajuste de 7 dias, as aves foram sacrificadas por deslocamento cervical e os conteúdos do íleo distal (a seção entre 12 cm e 2 cm anterior à junção ileal-cecal) foram coletados e congelados para análise em um período posterior. Cada dieta foi alimentada a 4 grupos de 2 aves cada. O conteúdo ileal foi secado por congelamento, triturado, e misturado meticulosamente antes de análise para nitrogênio bruto (AOAC, 1980), teor de aminoácidos, e cinza insolúvel em ácido (Newkirk et al., 2003).

A energia metabolizável aparente corrigida por nitrogênio (AMEn) foi determinada na mesma prova, mas as fezes foram coletadas diariamente nos 3 últimos dias da prova. As fezes foram congeladas imediatamente depois de cada coleta. As fezes congeladas foram secadas a 50°C em um forno de ar forçado, e em seguida reunidos com fezes de outras coleções da mesma rep e tratamento. As amostras foram trituradas (moagem de 1 mm) e analisadas para energia bruta, cinza insolúvel em ácido, e nitrogênio.

A AMEn e a digestibilidade de aminoácidos ileal aparente foram calculadas usando o método reportado por Newkirk et al. (2003). Os dados foram coletados como se segue:

Tabela 5		
Data	Idade da Ave	Detalhe
Fev 13/ Ano 3	0	Colocar aves, dieta iniciadora ração comercial
Março 13/ Ano 3	28	Registrar pesos de aves, colocar em dieta experimental
Março 17/ Ano 3	32	Remover fezes, colocar plástico sob bandejas coleta fecal à noite
Março 18/ Ano 3	33	Coletar fezes de manhã e de tarde
Março 19/ Ano 3	34	Coletar fezes, pesar ração e aves, coletas amostras ileais (pela manhã)

Detalhes adicionais dos estudos foram como se segue:

1. Estudo de alimentação: Fevereiro Ano 3 - Maio Ano 3

- 5 a. Tratamentos: 6 variedades de NATREON (Nex 705, Nex 710, Nex 715, Nex 720, CMI no. 1-transgênica e CMI no. 1-Nula) da Dow AgroSciences mais 1 dieta de referência (linhagem de semente amarela DN03-3746) serão usadas no projeto. 10 kg de semente de cada variedades serão trituradas por POS para obter 5 kg de farinha grossa sem óleo. Cada um dos tratamentos serão atribuídos aleatoriamente a galinheiros e bloqueados com galinheiro.
- 10 b. Design experimental: será usado um design de bloco completamente randomizado com 6 replicações. Será usada análise de variância simples com separação média para análise de dados. Será aplicada análise de regressão multivariada a dados de composição química e de energia metabolizável.
- 15 c. Classe de Ave: tipo de ave: ave a ser grelhada; cepa: Ross 308; sexo: macho; fonte: Wynard; 84 aves
- d. Temperatura: Curva padrão: Dia 0 - 35°C por Dia 34 - 22°C
- e. Iluminação: luz 50 lux foi mantida em um ciclo de 23 horas de luz:1 hora de escuridão, pelos dias 1 a 34
- 20 f. Ração e Água: à vontade; os alimentadores foram mantidos em um nível moderado; as aves foram alimentadas freqüentemente; a quantidade de ação de derramamento foi especialmente minimizada durante o período de coleta fecal.
- g. Tratamento da ninhada: Removido conforme necessário, no Dia 31 remover todas as fezes e colocar folhas plásticas sob as aves para coleta fecal.
- 25 h. Requisitos da ração: Aves com idade de 0 a 26 dias consumiram 2 kg/iniciador comercial para ave; aves com idade de 27 a 34 dias consumiram 1 kg/dieta experimental para ave
- i. Requisitos da farinha grossa: 6 reps * 2 aves /rep * 1 kg/ração para ave * 40% de farinha grossa = 4,8 kg para dieta, 200 g para análise = 5 kg/farinha grossa
- 30 j. Especificações Dietéticas:

Tabela 6. Dietas Experimentais

		Dieta de referên- cia %	Dieta de Teste %
Pré-mistura basal	Milho	91,89	53,35
	Óleo de canola	3,46	2,0
Pré-mistura de micronutrientes	Celite	1,0	1,0
	vitamina/ mineral	0,5	0,5
	Colina Cl	0,1	0,1
	Dical	1,81	1,81
	Pedra calcária	0,84	0,84
	Sal	0,40	0,40
Ingrediente de teste	Farinha grossa de canola		40,00
<u>Teor de nutrientes calculado</u>		<u>%</u>	
CP		7,7	18,92
AME _n (kcal/kg)		3380	2755
P disponível		0,42	0,5
Ca		0,74	1,0
Lisina		0,24	0,942
Met+Cys		0,34	0,87

Tabela 7. Pré-mistura de Micro Nutrientes

Ingrediente	%	Kg
Dical	35,14	2,460
Celite3	19,42	1,358
Pedra calcária	16,31	1,142
Pré-mistura de minerais e vitaminas	9,71	0,680
Sal	7,77	0,544
Colina	1,94	0,136
Total		7,000

Tabela 8. Pré-mistura Basal (2, 40 kg lotes intermisturados)

Ingrediente	%	Kg
Amido	96,35	38,54
Óleo de Canola	3,65	1,46
Total	100	40

Tabela 9. Composição da dieta (12 kg; 12 aves *1 kg/ ave)

Ingrediente	Dieta de referência		Dieta de Teste	
	%	Kg	%	kg
Pré-mistura basal	94,85	14,22	54,85	6,58
Pré-mistura de micronutrientes	5,15	0,773	5,15	,618
Ingrediente de teste	0	0	40	4,8
Total	100	15	100	12

Tabela 10. Análises a serem conduzidas sobre farinhas grossas (DAA a conduzir)

Contribuição de energia	Diluição de energia
Proteína	Fibra dietética total (inclusive fibra solúvel e insolúvel)
Aminoácidos	NDF
Extrato de éter	ADF
Sacarose	Cinza
Oligossacarídeos	Umidade
Amido	Lignina (ADL, NDL)

Relatório de Dados: Foram obtidos dados em meados de abril do Ano 3 e foi feita análise em meados de maio do Ano 3 exceto pela análise de detalhada de frações de fibras dietéticas totais e oligossacarídeos os quais não foram completados até agosto do ano 3.

- 5 2. Triagem de Idioplasma para selecionar linhagens para uso em testes de retenção de nutrientes:

40 g de semente de 37 linhagens de NATREON Breeding foram

avaliadas para composição química da farinha grossa usando os parâmetros identificados aqui, neste requerimento de patente. Com base nos resultados obtidos, foram identificadas linhagens para uso em prova de retenção de nutrientes de frango a ser grelhado.

5 A semente teve o solvente extraído com hexano na planta piloto POS (POS Pilot Plant) em Saskatoon, SK. A farinha grossa dessolventizada a ar foi proporcionada pela University of Saskatchewan para análise química.

 A farinha grossa foi triturada através de uma peneira de 1 mm antes de análise química. Cada amostra foi analisada em duplicata para as composições químicas (exceto aminoácidos) mostradas na Tabela 10.

 A proteína bruta foi determinada por combustão usando o método de Leco. Extrato de éter foi determinado usando o método AOAC (1990) com um extrator Goldfish Labconco Modelo 35001. A farinha grossa foi extraída por 4 horas de extração usando éter dietílico.

15 Sacarose, glicose livre, estaquiose, e rafinose foram analisados por GLC usando uma coluna de DB1701 e derivação de TMSI. Oligossacarídeos (dp 3-10) foram analisados por HPLC por permeação de gel e detecção do índice refrativo. O amido foi determinado pelo método de Salmonsson, A.C. et al, (1984, Swed. J. Agric. Res., 14:111-117).

20 Foram determinadas fibras dietéticas solúveis, insolúveis, e totais usando o método de Mongeau e Brassard (1990, Cereal Foods World 35:319-322). As frações de fibras solúveis e insolúveis foram submetidas a análise de açúcar total (Englyst, H. N. and Hudson, G.J., 1987 Animal Feed Sci. and Tech., 23:27-42). Foi conduzida determinação de fibra detergente neutra (NDF), fibra detergente ácida (ADF) e NDF-lignina e ADF-lignina usando o método de Van

25 Soest, et al. (1991. J. Dairy Sci. 74:3583-3597).

 O teor de cinza e umidade (outro diluidor de energia) foram determinados usando o método de AOAC, (1990 Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC).

30 3. Maio Ano 3 até Novembro Ano 3:

 Realizado aumento de semente de 10 a 15 linhagens para produzir 10 kg de semente por variedade e completada a análise detalhada de frações

de fibras dietéticas totais e oligossacarídeos de 6 variedades iniciais.

4. Novembro Ano 3 - Fevereiro Ano 4

- a. Obtido 5 kg de farinha grossa livre de óleo de cada uma das 10 a 15 variedades
- 5 b. Realizada uma prova para avaliar a retenção de nutrientes de frango a ser grelhado

Tratamentos: 15 linhagens NATREON incluindo a linhagem de semente amarela DN03-3746, 4 controles comerciais da Dow AgroSciences da primeira prova (Nex 705, Nex 710, Nex 715 e Nex 720) e 1 dieta de referência
 10 foram usadas no projeto. 10 kg de semente de cada uma das variedades foi triturado por POS para obter 5 kg de farinha grossa livre de óleo. Cada um dos tratamentos foi atribuído aleatoriamente a galinheiros e bloqueado com galinheiro.

Design experimental: foi usado um design de bloco completamente
 15 randomizado com 6 replicações. Devido a limitado espaço nas bateria de gaiolas, 3 replicações foram conduzidas na prova de aves no. 1 e 3 replicações remanescentes foram conduzidas na prova 2. Os dados foram analisados por bloqueio dentro da prova. Foi usada análise de variância simples com separação média para análise de dados. Foi aplicada análise de regressão multivariada a dados de composição química e de energia metabolizável.
 20

Relatório dos Dados: Os dados foram reportados em meados de janeiro do Ano 4 e foi feita análise em meados de fevereiro do Ano 4.

5. Novembro Ano 3 - Novembro Ano 4

Desenvolvimento de previsores químicos de energia metabolizável
 25 em farinha grossa de canola. A farinha grossa das 15 linhagens aumentada durante o verão do Ano 3 foi submetida a análise química, e os dados foram regressados contra a energia metabolizável das farinhas grossas para determinar a relação entre componentes medidos e energia metabolizável. Foram usadas abordagens multivariadas, incluindo PCA, para desenvolver equações pre-
 30 ditivas. Em seguida foram usadas equações de regressão resultantes para determinar os melhores modos para selecionar para futuras variedades de farinha grossa de canola de maior valor.

Farinha grossa dessolventizada a ar livre de óleo foi triturada através de uma peneira de 1 mm antes de análise química. Cada amostra foi analisada em duplicata para a composição química (proteína, extrato de éter, sacarose, oligossacarídeos, amido, fibras dietéticas totais (solúvel e insolúvel), NDF, ADF, cinza, umidade e lignina (ADL e NDL) exceto aminoácidos). A proteína

5 bruta foi determinada por combustão usando o método de Leco. A determinação do extrato de éter foi pelo método de AOAC (1990) um extrator Goldfish Labconco Modelo 35001. A farinha grossa foi extraída por 4 horas usando éter dietílico. Sacarose, glicose livre, estaquiose e rafinose foi analisada por GLC

10 usando uma coluna DB1701 e derivação de TMSI. Foi feita análise de oligossacarídeos (dp 3-10) por HPLC por permeação de gel e detecção do índice refrativo. A determinação do amido foi pelo método de Salmonsson, A.C., O. Theander, e E. Westerlund (1984, Swed. J. Agric. Res., 14:111-117). As fibras dietéticas solúveis, insolúveis e totais foram determinadas usando o método de Mongeau e Brassard (1990, Cereal Foods World 35:319-322). As frações de fibras solúveis e insolúveis foram submetidas a análise do açúcar total (Englyst, H. N.; Hudson, G.J., 1987. Animal Feed Sci. and Tech., 23:27-42). Foram conduzidas análises de fibra detergente neutra (NDF), fibra detergente ácida (ADF) e NDF-lignina e ADF-lignina usando o método de Van Soest, T.J., J.B. Robertson, B.A.

15 Lewis (1991. J. Dairy Sci. 74:3583-3597). Análises do teor de cinza e umidade foram determinadas usando o método de AOAC, (1990 Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC).

20

Relatório dos Dados: Os dados foram obtidos em meados de dezembro do Ano 4.

25 Exemplo 7 - Resultados e determinação da digestibilidade (energia metabolizável aparente e utilização de aminoácidos) de farinha grossa de canola por frangos a serem grelhados, e caracterização química da farinha grossa de canola

O Exemplo em questão discute os resultados de medir a energia metabolizável e a digestibilidade de aminoácido, por frangos a serem grelhados, de variedades especiais de canola. Estas amostras também foram avaliadas para componentes que podem influenciar a utilização de energia. As análises químicas destas amostras de canola também são relacionadas com dados

30

de digestibilidade. Adicionalmente, este Exemplo discute características químicas que predizem a AME de farinhas grossas para frangos a serem grelhados.

Energia Metabolizável Aparente.

- Uma linhagem de semente amarela da presente invenção, DN03-3746, foi comparada com outras linhagens de "check". As medições para energia metabolizável aparente (AME) corrigida por nitrogênio são mostradas na Tabela 11. Conforme visto na Tabela 11 (e na Tabela 12), a AME da variedade de semente amarela testada, DN03-3746 é superior à de Nex 705, Nex 715, Q2 (Check 1), e 46A65 (Check 2). Novamente, somente foi testada uma linhagem de semente amarela da presente invenção; espera-se que a experimentação adicional das outras linhagens da presente invenção apresentem aprimoramentos adicionais na AME.

Tabela 11. Energia metabolizável aparente corrigida por nitrogênio (AMEn) em uma base no estado em que se encontra e base de matéria seca (kcal/g), e digestibilidade de proteína ileal aparente (em frangos a serem grelhados) de proteína em variedades de canola.			
Amostra	AMEn no estado em que se encontra	AMEn DM	Dig de Prot Ileal
no. 16 - Nex 705	1626	1750	75,2
no. 17 - Nex 715	1609	1733	75,5
no. 18 - Nex 710	1852	1988	79,2
no. 19 - Nex 720	1806	1934	79,5
no. 20 - DN03-3746	1794	1918	74,9
no. 21 - Teste 1	1685	1810	74,6
no. 22 - Teste 2	1709	1836	73,8
no. 23 - Nex 710 Transgênica	1987	2123	80,4
no. 24 - Nex 710 Nula Transgênica	1783	1907	79,0
SEM	16,4	17,8	0,24
Alcance	1600-1994	1732-2154	73,8-80,4

Tabela 12. Análises da digestibilidade e químicas de amostras de farinha grossa de canola mostradas em uma base de matéria seca												
ID da Amostra	% de DM	AME ¹ (kcal/kg)	AME ² (kcal/kg)	% de digest. de CP ileal	% de digest. total teor de aa ³	Coeficiente de digest. de aa média ⁴	% de CP	% de Cinzas	% de EE	% de Amido	% de Sacarose	% de Fitato
Nex 705	92,88	1750	1625	75,2	28,58	0,792	48,91	6,33	1,42	0,65	6,79	1,31
Nex 715	92,88	1733	1637	75,5	29,14	0,809	46,96	5,48	1,08	0,91	9,68	1,12
Nex 710	93,16	1988	1865	79,2	31,01	0,838	48,65	5,81	1,39	0,69	13,22	1,36
Nex 720	92,94	1943	1843	79,5	30,39	0,831	49,43	5,89	1,14	0,46	9,14	1,93
DN03-3746	93,56	1918	1813	74,9	30,54	0,770	50,95	6,38	1,19	1,03	11,98	1,30
Teste 1	93,08	1810	1693	74,6	27,63	0,813	44,85	6,20	1,32	0,32	12,87	1,48
Teste 2	93,06	1836	1768	73,8	27,68	0,767	47,97	5,76	0,77	0,21	10,32	1,73
Nex 710 Transgênica	93,61	2123	2020	80,4	35,49	0,851	52,20	7,29	1,17	0,15	15,13	1,89

Tabela 12. Análises da digestibilidade e químicas de amostras de farinha grossa de canola mostradas em uma base de matéria seca												
ID da Amostra	% de DM	AME ¹ (kcal/kg)	AME ² (kcal/kg)	% de digest. de CP ileal	% de digest. total teor de aa ³	Coefficiente de digest. de aa média ⁴	% de CP	% de Cinzas	% de EE	% de Amido	% de Sacarose	% de Fitato
Nex 710 Nula Transgênica	93,38	1910	1814	79,0	33,73	0,835	52,38	7,28	1,09	0,21	15,19	2,03
SEM		17,6		0,24								
Valor de P		0,0005		0,0001								
Média			1789		30,13	0,81	48,9	6,25	1,32	0,62	10,5	1,60
Desvio Padrão			112,9		2,095	0,02	2,15	0,51	0,32	0,24	2,20	0,30
Mínimo			1625		26,51	0,77	44,7	5,48	0,77	0,15	6,79	1,12
Máximo			2020		35,49	0,85	52,6	7,29	2,44	1,03	15,19	2,21

¹AME em uma base de matéria seca.

²AME em uma base de matéria seca e corrigida para percentagem de gordura zero.

³Soma de níveis de aminoácidos x coeficientes de digestibilidade de aminoácidos.

⁴Média de coeficientes de digestibilidade de aminoácidos.

Digestibilidade de proteína e aminoácidos. Os efeitos de amostra de farinha grossa de canola sobre digestibilidade de proteína ileal também são mostrados nas Tabelas 11 e 12. Conforme mostrado nas Tabelas 11 e 12, a digestibilidade de proteína ileal (em frangos a serem grelhados) da variedade DN03-3746 é melhor do que a de Q2 e 46A65.

Análises químicas. Os resultados de análises químicas são encontrados nas Tabelas 12 e 13. Na Tabela 12, as categorias testadas e comparadas para DN03-3746 incluem percentagem de matéria seca, AME, digestibilidade de proteína e coeficiente de digestibilidade de aminoácido média para todas as amostras. Também incluídos na Tabela 12 estão os teores de proteína bruta, teor de cinza (cinza é outro componente de diluição de energia), extrato de éter (EE - um componente de contribuição de energia), amido, sacarose, e teores de fitato. A Tabela 13 inclui fibras dietéticas totais (TDF), TDF insolúveis (TDF-I), TDF solúveis (TDF-S), fibras detergentes ácidas (ADF), lignina detergente ácida (ADL), fibras detergentes neutras (NDF), nitrogênio insolúvel detergente neutro (NDIN) e energia bruta (GE). Também são indicadas na Tabela 13 quantidades de vários tipos de açúcares.

ID da Amostra	% de TDF	% de TDF-I	% de TDF-S	% de ADF	% de ADL	% de NDF	% de NDIN	GE (kcal/kg)	% de Ram	% de Fucose	% de Arabose	% de Xilose	% de Man	% de Galactose	% de Glicose
Nex 705	33,30	32,18	4,23	17,12	4,91	31,66	10,38	4745	0,300	0,236	5,198	2,009	1,291	3,983	13,713
Nex 715	35,96	32,94	3,93	19,89	7,54	30,88	9,19	4765	0,282	0,243	5,423	2,028	1,430	4,368	15,864
Nex 710	32,47	29,96	5,35	15,84	3,89	29,19	8,85	4765	0,263	0,247	5,245	2,140	1,614	4,212	16,936
Nex 720	32,73	32,59	3,69	20,31	7,64	30,47	8,50	4790	0,348	0,282	4,903	2,250	1,399	4,716	15,866
DN03-3746	26,55	24,91	4,37	10,32	1,16	21,16	5,97	4769	0,381	0,315	6,105	2,679	1,841	4,696	18,810
Teste 1	33,42	32,95	5,73	18,80	6,30	30,68	9,67	4727	0,329	0,244	5,036	2,258	1,561	4,963	17,625
Teste 2	32,95	32,57	4,16	19,66	7,87	30,47	8,84	4788	0,312	0,232	5,143	2,148	1,516	4,929	15,992
Nex 710 Transgênica	28,77	27,73	4,02	14,18	3,92	25,32	6,03	4735	0,288	0,240	5,001	2,104	1,720	4,082	16,882
Nex 710 Nula Transgênica	27,95	27,20	4,58	14,30	3,51	24,86	6,26	4740	0,237	0,201	4,146	1,788	2,139	3,035	14,213
Média	32,51	30,73	4,70	17,06	5,14	29,00	8,665	4750	0,315	0,262	5,533	2,227	1,533	4,417	15,993
Desvio Padrão	2,546	2,489	0,961	2,934	2,322	2,969	1,272	48,8	0,0373	0,0410	0,6312	1,533	0,1903	0,4228	1,5968
Mínimo	26,55	24,91	2,65	10,32	1,16	21,16	5,97	4621	0,237	0,201	4,146	1,788	1,264	3,035	13,537
Máximo	38,59	37,22	6,13	23,72	10,47	36,50	10,91	4821	0,381	0,412	7,111	2,689	2,139	5,003	18,810

Conforme pode ser visto na Tabela 13, a fibras dietéticas totais para DN03-3746 foi muito baixa, como foi fibras insolúveis. Fibras insolúveis são muito indesejáveis em ração animal e farinha grossa. Os conteúdos de ADF, ADL, e NDF para esta linhagem também são relativamente muito baixos. O nitrogênio insolúvel (NDIN) também é relativamente bastante baixo. Isto é desejável, uma vez que o nitrogênio insolúvel não pode ser usado nutricionalmente (e obstrui nitrogênio que pode ser usado de modo diverso pelo animal que consome a farinha grossa). Além disso vantajosamente, os conteúdos de açúcar são relativamente elevados. A proteína bruta para DN03-3746 também foi maior do que todas as linhagens de teste/controle.

A Tabela 14 mostra análises da digestibilidade e química de açúcares adicionais, sinapinas, e semelhantes. DN03-3746 tem níveis vantajosamente baixos de sinapina e fitato, e alta GE e percentagem de inositol.

Tabela 14. Análises da digestibilidade e químicas de amostras de farinha grossa de canola mostradas em uma base de matéria seca.

ID da Amostra	Inositol (%)	Rafinose (%)	Estaquiase (%)	Ácido sinápico (%)	Sinapina (%)	Fitato (%)	GE (kcal/kg)
Nex 705	0,0651	0,1051	0,0216	0,0239	0,826	1,38	4745
Nex 715	0,0834	0,1352	0,0052	0,0183	0,725	1,13	4765
Nex 710	0,0890	0,2067	0,0126	0,0230	0,870	1,43	4765
Nex 720	0,0828	0,1520	0,0057	0,0182	0,702	2,02	4790
DN033746	0,1240	0,1666	0,0000	0,0237	0,684	1,33	4769
Teste 1	0,0857	0,3045	0,0000	0,0225	0,778	1,52	4727
Teste 2	0,0867	0,2308	0,0000	0,0269	1,003	1,77	4788
Nex 710 Nula Transgênica	0,0509	0,0996	0,0000	0,0175	1,002	1,96	4735
Nex710 Transgênica	0,0352	0,0755	0,0000	0,0205	0,431	2,10	4740
Média	0,0789	0,1676	0,0038	0,0165	0,814	1,65	4750
Desvio padrão	0,0205	0,0745	0,0067	0,0056	0,1606	0,3031	48,8
Mínimo	0,0352	0,05730	0,0000	0,0063	0,431	1,13	4621
Máximo	0,1240	0,3383	0,0217	0,0269	1,123	2,24	4821

A Tabela 15 mostra o teor total de aminoácidos de farinhas grossas de várias variedades, incluindo DN03-3746, a qual tem o maior teor de quase todos os aminoácidos testados (incluindo aminoácidos essenciais). A Tabela 16

mostra a digestibilidade de aminoácidos ileal aparente, para estas linhagens, pelos frangos a serem grelhados.

Tabela 15. Teor total de aminoácidos de farinhas grossas de variedades Nexera (% dm base, Ano 2)

Amostra	CYS	ASP	MET	THR	SER	GLU
Nex 705	1,302	3,597	0,827	2,036	2,068	8,439
Nex 715	1,350	3,295	0,784	2,914	2,060	8,891
Nex 710	1,357	3,346	0,820	2,017	2,066	8,821
Nex 720	1,407	3,246	0,824	1,939	2,025	9,019
DN033746	1,473	3,586	0,870	2,131	2,194	9,390
Teste 1	1,215	3,119	0,778	1,872	1,894	8,011
Teste 2	1,293	3,284	0,805	1,960	1,963	8,513
Nex 710 Nula Transgênica	1,378	3,937	0,894	2,227	2,244	9,900
Nex710 Transgênica	1,368	3,839	0,855	2,125	2,092	9,587

Amostra	PRO	GLY	ALA	VAL	ISO	LEU
Nex 705	2,942	2,382	2,090	2,144	1,710	3,307
Nex 715	2,844	2,330	2,039	2,155	1,706	3,266
Nex 710	2,986	2,450	2,114	2,300	1,828	3,335
Nex 720	3,045	2,389	2,078	2,218	1,766	3,263
DN033746	2,746	2,526	2,280	2,470	1,963	3,557
Teste 1	2,463	2,253	1,970	2,175	1,733	3,093
Teste 2	2,837	2,414	2,027	2,315	1,813	3,249
Nex 710 Nula Transgênica	3,074	2,730	2,357	2,611	2,090	3,772
Nex 710 Transgênica	3,077	2,636	2,279	2,616	2,063	3,643

Amostra	PHE	HIS	LYS	AMM	ARG
Nex 705	1,795	1,239	2,670	1,178	2,782
Nex 715	1,765	1,289	2,683	1,187	2,895
Nex 710	1,817	1,309	2,783	1,200	2,900

Amostra	PHE	HIS	LYS	AMM	ARG
Nex 720	1,765	1,312	2,742	1,198	2,867
DN033746	1,947	1,346	2,993	1,270	3,028
Teste 1	1,656	1,238	2,670	1,114	2,663
Teste 2	1,771	1,288	2,719	1,191	2,887
Nex 710 Nula Transgênica	2,049	1,527	3,019	1,354	3,270
Nex 710 Transgênica	1,969	1,459	2,956	1,308	3,205

Tabela 16. Digestibilidade de aminoácidos ileal aparente (em frangos a serem grelhados) de variedades de canola Nexera (Ano 2)

Amostra	CYS	ASP	MET	THR	SER	GLU
Nex 705	0,727	0,788	0,885	0,683	0,721	0,873
Nex 715	0,749	0,793	0,889	0,708	0,733	0,875
Nex 710	0,783	0,820	0,913	0,748	0,758	0,902
Nex 720	0,791	0,824	0,903	0,730	0,767	0,893
DN033746	0,675	0,754	0,869	0,633	0,701	0,864
Teste 1	0,775	0,796	0,898	0,714	0,736	0,887
Teste 2	0,717	0,760	0,849	0,678	0,700	0,843
Nex 710 Nula Transgênica	0,805	0,849	0,924	0,759	0,778	0,916
Nex710 Transgênica	0,786	0,838	0,908	0,726	0,749	0,905
SEM	0,0038	0,0032	0,0025	0,0040	0,0036	0,0024
VALOR de P	0,0001	0,0001	0,0001	0,0004	0,0025	0,0019
Amostra	PRO	GLY	ALA	VAL	ISO	LEU
Nex 705	0,719	0,771	0,811	0,737	0,762	0,798
Nex 715	0,742	0,795	0,828	0,788	0,810	0,826
Nex 710	0,785	0,821	0,850	0,811	0,830	0,842
Nex 720	0,767	0,821	0,850	0,797	0,827	0,842
DN033746	0,712	0,744	0,791	0,718	0,734	0,783
Teste 1	0,731	0,808	0,825	0,783	0,797	0,809
Teste 2	0,704	0,753	0,785	0,716	0,728	0,762
Nex 710 Nula	0,782	0,845	0,863	0,827	0,839	0,857

Tabela 16. Digestibilidade de aminoácidos ileal aparente (em frangos a serem grelhados) de variedades de canola Nexera (Ano 2)

Transgênica						
Nex710 Transgênica	0,757	0,831	0,851	0,801	0,827	0,840
SEM	0,0038	0,0032	0,0030	0,0039	0,0038	0,0033
VALOR de P	0,0003	0,0001	0,0014	0,0001	0,0001	0,0004
Amostra	PHE	HIS	LYS	AMM	ARG	
Nex 705	0,831	0,859	0,820	0,743	0,883	
Nex 715	0,843	0,853	0,837	0,799	0,881	
Nex 710	0,866	0,892	0,869	0,809	0,912	
Nex 720	0,846	0,874	0,859	0,778	0,906	
DN033746	0,811	0,835	0,805	0,689	0,889	
Teste 1	0,835	0,866	0,846	0,790	0,897	
Teste 2	0,797	0,820	0,796	0,704	0,862	
Nex 710 Nula Transgênica	0,874	0,903	0,879	0,833	0,924	
Nex710 Transgênica	0,856	0,889	0,875	0,832	0,917	
SEM	0,0030	0,0028	0,0029	0,0041	0,0022	
VALOR de P	0,0013	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	

Novamente, estes números e outros números nas Tabelas 12, 13, 14, 15, e 16 (e em qualquer outra Tabela) podem ser usados para definir pontos de desfecho de faixas de características de sementes e linhagens da presente invenção.

5 Exemplo 8 - Desenvolvimento de linhagens ainda adicionais - Ano 4

- As 6 linhagens BC1F5 que deram origem às linhagens BC1F6 (DN033743, DN033744, DN033745, DN033746, DN033747, DN033748, DN033749) foram cruzadas com a linhagem NATREON de semente preta DAS DN996738 (aka NQC02X01). Plantas F1 de cada cruzamento foram tomadas
- 10 através do processo de cultura de micrósporos e progênie dihaplóide produzida. As linhagens BC1F6, progênie DH, e variedades de teste foram avaliadas em sementeiras replicadas em AAFC Saskatoon e Dow AgroSciences (DAS) Moonlake. Os lotes das sementeiras foram fileiras únicas de 10 pés de extensão,

plantadas em um espaçamento de fileira de 2 pés, replicado até 4 vezes através das duas localizações.

Foram feitas avaliações agronômicas sobre Dias para Florir (DTF), Dias para Maturidade (DTM), Lodging (LDG), e Vigor na Estação Anterior (LSV) no sítio DAS Moonlake. Amostras de sementes foram coletadas de lotes em ambas as localizações e analisadas para parâmetros de qualidade das sementes pelos laboratórios de química analítica de organizações respectivas com a exceção do índice de Brancura e fibra. O Índice de Brancura (WImini), uma medida da cor da semente, foi produzida a partir de amostras em ambas as localizações usando o instrumento analítico Hunter da AAFC (Hunter Analytical Instrument, AAFC). Fibra de semente (Fibra Detergente Neutra = NDF, Fibra Detergente Ácida = ADF, Lignina Detergente Ácida = ADL) foi determinada em amostras da localização AAFC usando NIR e é expressada em uma base de matéria seca. A composição de ácido graxo foi determinada por cromatografia gasosa usando análise de éster metílico de ácido graxo. Ácidos graxos individuais são reportados como uma percentagem do perfil total e dos total de saturados calculado adicionando todos os ácidos graxos saturados. Foram determinados o teor de óleo em uma base de matéria seca (DM), o teor de proteína (DM) da semente, e o teor de glucosinolato total usando NIR. Foi calculado o teor de proteína expressado em uma base de farinha grossa livre de óleo (% de Proteína de farinha grossa DM).

Condições de crescimento mais frias do que a média seguidas por uma geada de outono precoce comprimiu as provas em ambos os sítios, e pode ser observado nos conteúdos de ácido oléico mais baixos do que normalmente esperado. Estes dados foram usados para identificar indivíduos superiores expressando o perfil de ácido graxo desejado em combinação com redução de fibra bem como maturidade aceitável, e teor de óleo, proteína, e glucosinolatos. Um sumário dos dados de qualidade médios para as progênes BC1F6, a progênie DH selecionada para desenvolvimento, e testes da localização AAFC são proporcionados na Tabela 17. Um sumário dos dados agronômicos e de qualidade médios para as progênes BC1F6, a progênie DH selecionada para desenvolvimento, e testes da localização DAS são proporcionados na Tabela 18.

Tabela 17. Dados de qualidade médios para progênies BC1F6, progênies de DH selecionadas e testes de uma prova de sementeira replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 4

ORI- GEM/ID	Códi- go	% de Óleo DM	% de Smente de Pro- teína DM	% de Proteína de Fari- nha grossa DM	Gluc To- tal	ADFdm	AD- Ldm	NDFdm	Wimi- ni	C18:1	C18:2	C18:3	C22:1	% de Satura- dos
DN03-3743	2672	43,0	27,4	48,1	26,1	9,5	1,9	18,3	-13,1	63,2	22,9	2,8	0,1	7,0
DN03-3744	2714	44,0	26,6	47,6	16,1	12,9	3,8	19,4	-6,7					
DN03-3745	2715	43,4	28,8	50,9	18,3	9,5	1,6	17,8	-13,6					
DN03-3746	2716	43,6	27,6	48,9	25,4	10,0	1,7	17,7	-15,1	64,6	21,9	2,9	0,1	6,8
DN03-3747	2717	41,1	27,9	47,4	23,3	10,1	1,9	18,4	-13,1					
DN03-3748	2718	44,0	26,6	47,6	18,0	9,4	1,7	18,2	-13,1					
DN03-3749	2719	42,4	28,6	49,6	18,4	10,0	1,8	18,6	-12,5	65,2	20,6	3,2	0,2	6,9
DN99-6738	2674	49,3	27,3	54,0	6,3	12,5	3,9	18,6	-0,9	70,9	17,9	2,2	0,1	5,9
Nex 705	2687	47,7	27,0	51,7	11,6	13,7	5,0	20,4	-0,5	71,6	17,1	2,8	0,1	5,6
YN01-429	2700	48,9	24,7	48,4	8,3	9,2	1,4	16,9	-22,4					
YN97-262	2673	44,4	26,1	46,9	5,8	10,2	2,1	18,5	-13,8					
DN04-1247	2205	46,1	26,8	49,7	10,3	10,0	1,9	17,5	-11,5	67,3	20,8	2,2	0,1	6,4
DN04-1261	2217	40,2	29,5	49,4	31,8	9,8	1,8	18,0	-12,0	64,4	20,8	2,5	0,2	7,6
DN04-1266	2221	45,6	28,0	51,6	14,9	9,9	1,9	17,1	-14,3	67,0	20,8	2,5	0,1	6,2

Tabela 17. Dados de qualidade médios para progênies BC1F6, progênies de DH selecionadas e testes de uma prova de sementeira replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 4

ORI- GEM/ID	Códi- go	% de Óleo DM	% de Smente de Pro- teína DM	% de Proteína de Fari- nha grossa DM	Gluc To- tal	ADFdm	AD- Ldm	NDFdm	Wlmi- ni	C18:1	C18:2	C18:3	C22:1	% de Satura- dos
DN04-1273	2228	42,9	26,8	47,0	21,4	9,9	1,7	18,4	-15,4	65,2	21,5	2,3	0,1	7,1
DN04-1279	2233	44,5	28,1	50,6	16,7	9,9	1,9	17,8	-12,4	67,4	19,6	2,5	0,1	7,0
DN04-1317	2265	42,2	30,1	52,0	23,4	9,2	1,7	17,1	-13,3					
DN04-1326	2270	41,8	29,0	49,8	19,8	9,9	1,9	18,7	-11,6	64,9	21,2	2,5	0,1	7,4
DN04-1358	2297	44,9	30,0	54,4	6,6	9,1	1,7	17,0	-15,4	66,3	20,9	2,8	0,1	6,5
DN04-1371	2308	46,0	28,0	51,8	12,3	10,0	1,9	17,5	-12,5	65,8	22,0	2,3	0,1	6,4
DN04-1415	2346	48,4	26,8	51,9	10,6	9,5	1,6	17,5	-16,0	66,3	20,4	3,0	0,1	6,7
DN04-1495	2408	47,9	27,1	52,0	17,0	10,1	2,1	17,3	-13,2					
DN04-1506	2419	43,0	28,9	50,8	24,3	10,1	2,0	18,4	-9,2					
DN04-1510	2423	44,9	30,2	54,7	15,8	9,6	2,5	17,5	-11,5					
DN04-1516	2429	43,4	28,5	50,3	15,1	9,0	1,8	18,3	-12,7					
DN04-1524	2434	41,4	31,4	53,7	15,6	8,9	1,8	17,6	-12,9					
DN04-1537	2445	44,2	28,0	50,2	16,1	11,1	2,9	18,3	-4,8					
DN04-1593	2490	50,3	25,6	51,5	6,8	11,4	2,6	18,0	-7,5					
DN04-1709	2573	46,2	28,4	52,7	16,4	9,6	1,8	16,4	-14,8	68,8	19,0	2,6	0,1	6,3

Tabela 17. Dados de qualidade médios para progênies BC1F6, progênies de DH selecionadas e testes de uma prova de sementeira replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 4

ORI- GEM/ID	Códi- go	% de Óleo DM	% de Smente de Pro- teína DM	% de Proteína de Fari- nha grossa DM	Gluc To- tal	ADFdm	AD- Ldm	NDFdm	Wlmi- ni	C18:1	C18:2	C18:3	C22:1	% de Satura- dos
DN04-1718	2580	42,3	28,7	49,7	17,4	10,3	2,0	18,2	-11,8	65,4	21,7	2,4	0,1	6,8
DN04-1768	2616	46,2	25,8	47,9	11,7	11,0	2,0	17,1	-11,4	67,5	19,9	2,1	0,1	7,1

Tabela 18 Dados de qualidade e agrônômicos médios para progênies BC1F6, progênies de DH selecionadas e testes de uma prova de sementeira replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 4

Nome	Pop de Origem	DTF	DTM	LDG	LSV 1	LSV 2	C18:1	C18:2	C18:3	% de Sats	% de Óleo DM	% de Prote- ína DM	% de Protei- na de Farinha grossa DM	Wlmini	Gluc Tot
Nex 705	Polo/SVO95-09	57	114	3,0	3,1	2,7	73,0	16,0	2,6	5,7	51,4	21,0	43,2	0,0	14,9
YN01429		58	114	3,0	3,1	2,7	60,1	20,4	11,0	6,0	54,3	22,0	48,3	-26,5	16,2
YN97262		53	112	3,0	3,0	3,0	60,9	20,9	8,9	7,0	50,9	23,4	47,6	-20,7	14,3
DN033748	DN023434	51	114	3,0	4,0	4,0	68,0	21,6	2,1	5,6	48,9	23,1	45,3	-20,6	13,0
DN033746	DN023431	58	112	3,0	3,0	3,0	68,4	20,5	2,1	6,5	51,2	22,8	46,8	-24,0	12,0
DN041247	DN023429/DN996738	57	115	3,5	3,0	2,5	68,7	19,9	2,2	6,4	50,2	22,9	46,0	-15,2	12,7

Tabela 18 Dados de qualidade e agrônômicos médios para progênie BC1F6, progênie de DH selecionadas e testes de uma prova de sementeira replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 4

Nome	Pop de Origem	DTF	DTM	LDG	LSV ₁	LSV ₂	C18:1	C18:2	C18:3	% de Sats	% de Óleo DM	% de Proteína DM	% de Proteína de Farinha grossa DM	WMini	Gluc Tot
DN041261	DN023429/DN996738	57	113	3,5	3,5	3,5	69,9	18,9	2,3	6,2	47,9	23,6	45,3	-15,0	17,6
DN041266	DN023429/DN996738	55	114	3,5	4,0	3,5	70,0	19,3	2,3	5,6	48,6	23,7	46,1	-16,4	15,0
DN041273	DN023429/DN996738	58	115	3,0	4,0	3,5	68,5	20,2	2,2	6,4	48,4	23,6	45,8	-16,3	11,5
DN041279	DN023429/DN996738	57	112	3,5	4,0	3,5	69,9	17,9	2,5	6,9	49,3	22,8	45,0	-14,6	14,7
DN041317	DN023429/DN996738	58	115	3,5	4,0	3,5	68,2	20,1	2,4	6,4	49,5	23,1	45,8	-16,3	17,2
DN041326	DN023429/DN996738	58	114	3,0	4,0	3,0	69,1	19,4	2,3	6,6	52,0	22,2	46,2	-18,8	16,6
DN041358	DN023430/DN996738	60	114	3,0	3,0	2,5	70,3	18,1	2,4	6,4	49,0	22,2	43,6	-20,1	13,7
DN041371	DN023430/DN996738	60	115	3,0	4,0	3,5	68,7	19,9	2,5	6,1	49,2	22,7	44,8	-13,9	15,0
DN041415	DN023430/DN996738	60	111	3,0	4,0	3,5	69,2	18,5	3,1	6,4	50,6	22,5	45,5	-19,9	11,7
DN041495	DN023431/DN996738	60	114	2,5	3,5	3,5	69,9	19,4	2,3	5,8	50,4	22,2	44,8	-15,8	16,0
DN041506	DN023431/DN996738	67	114	2,5	4,0	4,0	70,0	19,1	2,5	5,9	50,8	22,9	46,5	-13,6	13,5
DN041510	DN023431/DN996738	59	114	3,0	4,0	3,0	72,1	17,3	2,0	6,0	52,5	21,1	44,5	-13,8	13,7
DN041516	DN023431/DN996738	58	114	3,0	4,5	4,0	68,4	20,3	2,2	6,0	50,3	22,1	44,4	-17,2	13,8
DN041524	DN023431/DN996738	67	115	3,0	4,0	3,5	69,0	19,8	2,5	6,0	48,6	22,5	43,8	-19,4	15,5
DN041537	DN023431/DN996738	60	115	3,0	3,5	2,5	70,4	19,1	2,1	5,5	53,8	21,8	47,3	-8,2	15,3
DN041593	DN023433/DN996738	61	114	3,0	4,0	4,0	73,5	15,5	2,3	6,2	53,4	21,6	46,4	-10,6	13,8

Tabela 18 Dados de qualidade e agronômicos médios para progênes BC1F6, progênes de DH selecionadas e testes de uma prova de sementeira replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 4

Nome	Pop de Origem	DTF	DTM	LDG	LSV 1	LSV 2	C18:1	C18:2	C18:3	% de Sats	% de Óleo DM	% de Proteí- na de Farinha grossa DM	Wlmini	Gluc Tot
DN041667	DN023434/DN996738	56	116	3,0	5,0	3,0	72,3	16,9	1,8	6,2	53,3	48,0	-14,0	12,2
DN041709	DN023434/DN996738	57	116	3,0	5,0	4,0	70,7	18,0	2,5	6,1	46,4	45,1	-14,3	17,4
DN041718	DN023434/DN996738	57	116	3,0	3,0	3,0	69,8	19,3	2,1	6,3	52,3	46,7	-15,7	14,8
DN041768	DN023435/DN996738	59	114	3,0	3,0	2,5	69,0	19,5	2,1	6,4	51,0	46,6	-10,9	14,5

Exemplo 9 - Provas de produção - Ano 5

A progênie DH resumida nas Tabelas 17 e 18 foi selecionada para avanço para provas de produção replicada conduzidas no Ano 5. Vinte e um progênie DH junto com 2 linhagens BC1F6, e testes de semente amarela bem como de semente preta foram comparadas sob condições de pequeno lote usando um design de bloco completo randomizado de 4 replicatas (Randomized Complete Block). Quatro localizações (DAS Rosthern, DAS Saskatoon, DAS Moonlake, AAFC Saskatoon) foram plantadas no Ano 5.

Chuvas pesadas e inundação resultaram na perda completa da prova de Moonlake, e duas replicadas da localização de AAFC Saskatoon e plataforma de plantas inaceitáveis na localização de Rosthern resultaram em dados daquele sítio sendo descartados. Temperaturas abaixo da média foram experimentadas no Ano 5.

Foram feitas avaliações agronômicas sobre Dias para Florir (DTF), Dias para Maturidade (DTM), Altura (HGT), e Lodging (LDG). Os lotes foram colhidos usando equipamento de colheita de pequeno lote. A produção foi determinada medindo a quantidade de semente colhida de cada lote e expressando isto em uma base de quilogramas por hectare. Os parâmetros de qualidade da semente (Óleo DM, Proteína DM, Glucosinolatos Totais, %NDFdm, %ADFdm, %ADLdm, Clorofila) foram medidos usando NIR pelos laboratórios de química analítica das organizações respectivas. O conteúdo de proteína expressado em uma base de farinha grossa livre de óleo (% de DM de Proteína de farinha grossa) foi calculado. O Índice de Brancura (WI) foi medido por AAFC sobre amostras da localização de AAFC Saskatoon usando o Instrumento Analítico Hunter (Hunter Analytical Instrument). A composição de ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa, usando análise de éster metílico de ácido grax. Ácidos graxos individuais são reportados como uma percentagem do perfil total e total de saturados calculados adicionando todos os ácidos graxos saturados.

Dados confirmaram que linhagens com a combinação de um perfil de ácido graxo desejado similar às variedades de teste Nexera e nível reduzido de fibras similar às testes de canola de semente amarela foram desenvolvidas

das sementeiras no Ano 4. Os dados agronômicos adicionais sobre maturidade, altura, e lodging bem como a produção de sementes revela que várias das linhagens DH desenvolvidas são competitivas com padrões da indústria e variedades de teste Nexera. Vide as Tabelas 19 e 20.

- 5 As produções obtidas, conforme reportado nas Tabelas 19 e 20, são especialmente dignos de nota.

Tabela 19 Dados de qualidade e agronômicos médios para progênies BC1F6, progênies DH selecionadas e testes de uma prova de produção replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 5

EXPT	NOME	DTF	DTM	Pro- du- ção de Se- men- te kg/ha	C18:1	C18:2	C18:3	C22: 1	% de Satur- ados	% de Óleo DM	% de Se- mente de Prote- ína DM	% de Prote- ína de Fari- nha gros- sa DM	Gluc Tot	% de ADF dm	% de AD L dm	% de NDF dm	WI
05RYT28	Q2	43,5	96,0	2706	62,25	19,68	9,25	0,04	6,15	48,8	25,5	49,7	20,0	19,6	8,5	22,9	2,5
05RYT28	46A65	44,5	96,0	2064	60,03	20,04	10,54	0,09	6,72	47,5	24,9	47,4	7,8	16,4	5,9	21,7	2,8
05RYT28	Nex 705	44,0	101,5	2798	72,56	16,48	2,57	0,04	5,80	50,7	25,7	52,1	11,5	15,4	5,9	20,6	1,8
05RYT28	Nex 715	44,5	98,5	2482	74,18	14,34	2,81	0,04	6,07	46,7	26,6	49,8	23,8	18,8	8,6	22,9	1,3
	Nex 822																
05RYT28	CL	46,0	97,0	2492	71,19	17,32	2,32	0,03	5,98	47,2	28,4	53,8	11,0	13,9	4,5	18,9	1,7
05RYT28	YN97-262	44,5	96,5	3121	59,84	21,56	9,22	0,04	6,81	48,3	24,9	48,2	16,0	13,0	3,8	18,7	-17,0
05RYT28	YN01-429	46,0	101,0	2807	60,12	21,82	8,86	0,03	6,65	49,8	23,1	46,0	20,3	10,8	2,0	16,9	-27,5
	DN03-																
05RYT28	3746	47,0	101,5	2319	65,96	20,94	3,41	0,06	6,82	48,3	24,9	48,2	22,8	10,2	1,4	17,0	-24,5
	DN03-																
05RYT28	3748	46,0	99,0	2188	64,94	20,94	4,73	0,03	6,58	48,9	24,6	48,1	21,6	11,0	2,1	17,6	-21,4
	DN04-																
05RYT28	1667	44,5	100,0	1522	70,74	17,84	2,07	0,03	6,62	51,2	24,6	50,4	13,6	10,6	2,2	16,7	-17,1
	DN04-																
05RYT28	1709	44,0	98,5	2267	70,97	17,62	2,49	0,03	6,21	50,6	25,7	52,1	15,7	11,2	2,5	16,6	-16,5

Tabela 19 Dados de qualidade e agronômicos médios para progênie BC1F6, progênie DH selecionadas e testes de uma prova de produção replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 5

EXPT	NOME	DTF	DTM	Pro- du- ção de Se- men- te kg/ha	C18:1	C18:2	C18:3	C22: 1	% de Satur- ados	% de Óleo DM	% de Se- mente de Prote- ína DM	% de Prote- ína de Fari- nha gros- sa DM	Gluc Tot	% de ADF dm	% de AD L dm	% de NDF dm	WI
05RYT28	DN04- 1358	48,0	102,5	2291	70,77	17,49	2,20	0,04	6,78	49,6	26,2	52,0	17,8	10,4	1,9	15,9	-19,7
05RYT28	DN04- 1506	48,5	97,5	2805	69,36	18,76	2,26	0,03	6,83	49,7	25,4	50,5	10,6	13,1	3,5	18,8	-4,5
05RYT28	DN04- 1266	44,5	99,5	2319	68,69	19,59	2,42	0,06	6,32	48,5	25,6	49,7	28,3	11,7	2,6	17,8	-17,1
05RYT28	DN04- 1279	46,0	101,0	2396	70,09	17,86	2,17	0,09	7,02	50,1	25,3	50,7	14,4	11,5	2,5	17,3	-15,0
05RYT28	DN04- 1495	47,5	100,5	2414	69,46	19,00	2,40	0,04	6,40	48,8	25,7	50,3	22,1	11,1	2,3	17,3	-16,1
05RYT28	DN04- 1261	46,5	100,0	1938	68,71	19,44	2,49	0,03	6,56	47,9	26,1	50,0	18,1	11,6	2,6	17,4	-13,8
05RYT28	DN04- 1718	44,5	100,5	2028	68,43	19,76	2,29	0,03	6,66	49,1	25,6	50,3	18,5	11,3	2,3	17,3	-16,5
05RYT28	DN04- 1415	48,5	102,0	2185	68,55	18,86	2,79	0,04	7,01	49,3	24,0	47,3	24,8	11,1	1,8	17,6	-20,6
05RYT28	DN04- 1326	46,5	100,5	2207	70,23	18,23	2,15	0,07	6,66	49,9	25,7	51,4	12,9	12,4	3,5	18,4	-7,9

Tabela 19 Dados de qualidade e agronômicos médios para progênies BC1F6, progênies DH selecionadas e testes de uma prova de produção replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 5

EXPT	NOME	DTF	DTM	Pro- du- ção de Se- men- te kg/ha	C18:1	C18:2	C18:3	C22: 1	% de Satur- ados	% de Óleo DM	% de Se- mente de Prote- ína DM	% de Prote- ína de Fari- nha gros- sa DM	Gluc Tot	% de ADF dm	% de AD L dm	% de NDF dm	WI
05RYT28	DN04- 1768	46,0	99,0	2045	68,98	19,14	2,15	0,04	7,03	50,1	24,1	48,3	19,0	12,3	2,6	18,5	-13,3
05RYT28	DN04- 1247	45,5	99,0	2305	68,56	19,63	2,38	0,03	6,65	48,8	25,7	50,3	23,8	11,4	2,6	17,2	-15,7
05RYT28	DN04- 1516	47,0	101,0	2012	68,61	19,74	2,17	0,03	6,58	48,4	25,0	48,5	20,0	10,3	1,6	17,2	-19,7
05RYT28	DN04- 1524	49,0	102,0	1956	70,05	18,30	2,24	0,02	6,70	48,1	26,2	50,5	16,1	11,3	2,5	17,2	-13,5
05RYT28	DN04- 1317	46,5	100,0	1901	67,29	20,73	2,27	0,05	6,80	49,6	26,1	51,7	27,4	11,0	2,0	16,0	-23,5
05RYT28	DN04- 1371	48,0	102,0	2026	68,96	19,43	2,26	0,08	6,52	49,9	24,6	49,2	17,1	11,5	2,2	17,5	-14,5
05RYT28	DN04- 1273	46,5	100,5	2415	68,01	20,15	2,20	0,05	6,78	49,0	23,7	46,4	21,5	10,8	1,9	17,8	-21,6
05RYT28	DN04- 1593	49,0	101,0	2939	71,90	17,12	2,13	0,02	6,31	50,9	25,0	50,9	10,0	13,0	3,3	18,4	-7,1

Tabela 19 Dados de qualidade e agronômicos médios para progênies BC1F6, progênies DH selecionadas e testes de uma prova de produção replicada realizada em AAFC Saskatoon no Ano 5

EXPT	NOME	DTF	DTM	Pro- du- ção de Se- men- te kg/ha	C18:1	C18:2	C18:3	C22: 1	% de Satur- ados	% de Óleo DM	% de Se- mente de Prote- ína DM	% de Prote- ína de Fari- nha gros- sa DM	Gluc Tot	% de ADF dm	% de AD L dm	% de NDF dm	WI
DN04-																	
05RYT28	1510	46,0	99,0	2322	70,19	18,51	2,05	0,04	6,57	49,6	26,6	52,8	17,5	11,3	2,7	17,4	-14,5
DN04-																	
05RYT28	1537	47,5	99,0	3032	69,95	18,88	2,17	0,03	6,32	50,6	24,7	50,0	7,9	13,8	3,8	19,5	-4,5

Tabela 20 Dados de qualidade e agronômicos médios para progênies BC1F6, progênies DH selecionadas e testes de uma prova de produção replicada realizada em DAS Saskatoon no Ano 5

Nome de Campo	Nome	DTF	DTM	HGT	LDG	Produ- ção (Kg/Ha)	C18: 1	C18: 2	C18: 3	C22: 1	% de Sats	% de Óleo DM	% de Semente de Pro- teína DM	% de Proteína de Fari- nha grossa DM	Gluc Tot	% de NDF dm	% de ADF dm	Clo- rofila PPM
MSSAS:RYT	Q2	53,0	102,0	97	2,0	2209	60,6	19,0	10,4	0,2	6,9	47,6	24,1	46,0	13,4	24,9	15,0	16,2
MSSAS:RYT	46A65	51,3	100,0	100	2,0	2280	61,9	19,4	9,4	0,0	6,6	48,4	22,5	43,7	18,9	26,7	16,9	9,6
MSSAS:RYT	Nex 705	52,0	110,0	98	2,0	2151	72,2	16,2	2,8	0,0	6,2	51,0	22,1	45,2	11,1	25,5	14,1	13,3
MSSAS:RYT	Nex 715	52,7	99,3	93	2,7	2015	72,5	15,4	2,9	0,1	6,5	45,6	23,9	44,0	11,0	26,9	17,9	11,7

Tabela 20 Dados de qualidade e agrônômicos médios para progênie BC1F6, progênie DH selecionadas e testes de uma prova de produção replicada realizada em DAS Saskatoon no Ano 5

Nome de Campo	Nome	DTF	DTM	HGT	LDG	Produção (Kg/Ha)	C18: 1	C18: 2	C18: 3	C22: 1	% de Sats	% de Óleo DM	% de Semente de Pro-teína DM	% de Proteína de Farinha grossa DM	Gluc Tot	% de NDF dm	% de ADF dm	Clo-rofila PPM
MSSAS:RYT	Nex 822 CL	54,0	106,3	93	2,3	2047	70,9	17,5	2,4	0,0	6,2	46,3	24,1	44,8	13,4	22,0	11,8	10,5
MSSAS:RYT	YN97262	53,3	107,3	103	2,0	2622	59,9	21,5	8,9	0,0	7,0	50,1	25,2	50,5	13,5	18,7	9,4	4,6
MSSAS:RYT	YN01429	53,0	108,7	103	2,0	2263	60,1	21,3	8,8	0,0	6,9	49,6	26,0	51,5	11,2	20,0	10,3	9,9
MSSAS:RYT	DN033746	56,0	112,3	97	2,0	1821	66,7	20,7	2,4	0,0	7,1	48,4	25,8	50,0	7,7	21,8	10,9	25,1
MSSAS:RYT	DN033748	51,8	110,5	98	2,0	1734	66,9	20,4	3,0	0,0	6,5	48,2	25,5	49,2	11,0	20,1	10,4	14,6
MSSAS:RYT	DN041247	54,3	108,3	115	2,0	1756	68,7	19,0	2,2	0,2	7,1	49,4	24,9	49,2	9,4	21,3	11,3	13,0
MSSAS:RYT	DN041261	55,0	111,7	97	2,0	1480	67,7	20,3	2,4	0,1	6,4	48,0	25,0	48,1	12,5	21,1	10,9	13,1
MSSAS:RYT	DN041266	53,3	109,3	100	2,7	1483	69,0	19,1	2,3	0,0	6,6	48,4	25,0	48,5	9,9	22,7	11,3	21,1
MSSAS:RYT	DN041273	54,7	110,7	97	2,3	1885	68,5	19,6	2,2	0,0	6,8	49,2	25,5	50,1	8,2	22,1	10,9	23,7
MSSAS:RYT	DN041279	55,0	111,0	97	2,0	2273	69,8	17,8	2,4	0,0	7,2	50,8	24,8	50,3	6,3	23,1	12,2	17,9
MSSAS:RYT	DN041317	55,3	110,5	93	2,5	1680	67,1	20,6	2,4	0,0	7,0	48,9	25,3	49,6	10,3	21,6	10,6	21,0
MSSAS:RYT	DN041326	55,0	111,3	100	2,0	1720	67,2	20,1	2,6	0,0	7,2	48,0	25,3	48,6	10,9	21,0	11,0	19,8
MSSAS:RYT	DN041358	55,7	112,7	110	2,0	1810	69,9	17,7	2,4	0,0	7,1	47,3	25,4	48,3	8,9	19,4	10,2	16,7
MSSAS:RYT	DN041371	55,3	112,3	103	2,0	1839	69,1	18,6	2,5	0,0	7,0	49,3	25,0	49,3	10,8	22,7	12,5	18,5
MSSAS:RYT	DN041415	56,3	113,3	97	2,0	1896	68,1	18,9	2,6	0,0	7,3	47,2	26,1	49,4	6,9	21,5	11,1	37,8
MSSAS:RYT	DN041495	55,3	112,0	100	2,0	2331	69,4	19,1	2,3	0,0	6,4	50,2	24,7	49,7	12,8	22,4	11,1	20,6

Tabela 20 Dados de qualidade e agrônômicos médios para progênies BC1F6, progênies DH selecionadas e testes de uma prova de produção replicada realizada em DAS Saskatoon no Ano 5

Nome de Campo	Nome	DTF	DTM	HGT	LDG	Produção (Kg/Ha)	C18: 1	C18: 2	C18: 3	C22: 1	% de Sats	% de Óleo DM	% de Semente de Proteína DM	% de Proteína de Farinha grossa DM	Gluc Tot	% de NDF dm	% de ADF dm	Clo-rofila PPM
MSSAS:RYT	DN041506	55,3	107,7	110	1,7	2679	69,2	18,5	2,2	0,0	7,0	48,1	25,0	48,1	9,1	21,4	12,7	32,0
MSSAS:RYT	DN041510	55,0	109,0	110	2,0	2421	70,8	17,7	2,1	0,0	6,7	50,7	23,9	48,5	9,9	20,6	10,7	9,5
MSSAS:RYT	DN041516	55,7	112,0	98	2,0	2043	68,7	19,5	2,2	0,0	6,8	49,5	25,0	49,5	8,8	20,1	10,4	22,9
MSSAS:RYT	DN041524	56,0	112,3	97	2,0	1350	68,8	18,9	2,3	0,0	7,1	45,4	25,7	47,0	7,7	20,7	11,2	42,2
MSSAS:RYT	DN041537	55,7	110,7	103	2,0	2575	70,0	18,5	2,3	0,0	6,6	51,8	23,9	49,6	12,2	23,1	12,2	28,5
MSSAS:RYT	DN041593	54,7	111,7	105	1,3	2737	71,6	16,7	2,4	0,0	6,6	51,2	24,1	49,4	8,7	22,5	11,9	16,4
MSSAS:RYT	DN041667	53,3	108,0	97	2,0	2259	69,4	18,1	2,2	0,0	7,2	51,0	24,7	50,3	8,4	19,0	10,8	24,6
MSSAS:RYT	DN041709	52,7	108,3	90	2,0	2133	71,4	17,2	2,2	0,0	6,4	49,3	25,0	49,3	13,8	18,6	9,8	21,0
MSSAS:RYT	DN041718	52,7	111,0	93	2,0	1670	68,9	19,0	2,4	0,1	6,8	50,2	24,4	49,1	12,8	20,5	10,4	24,2
MSSAS:RYT	DN041768	55,0	110,0	90	2,0	1799	70,0	18,1	2,0	0,0	7,2	50,6	24,6	49,8	9,2	22,3	12,0	27,0

Exemplo 10 - Estudo Adicional de Alimentação

Sete das linhagens DH de maior produção bem como testes de sementes amarelas e pretas, observadas nas provas de produção replicada do Ano 5, foram selecionadas para uso em provas de alimentação de aves domésticas para avaliar a digestibilidade de aminoácidos e o teor de energia de farinha grossa de linhagens de semente amarela de menor teor de fibras em comparação com linhagens de canola de semente amarela e preta. Mil e quinhentos gramas de semente de cada linhagem selecionada para alimentação, colhida da primeira replicata das provas de produção de DAS Saskatoon do Ano 5 foi prensado a frio, usando uma prensa de rosca contínua (Komet, tipo CA59; IBG Monforts Ockotec GmbH & Co Alemanha), e foi extraído hexano. A extração de hexano foi obtida submergindo os sólidos remanescentes em hexano dentro de vaso selado em temperatura ambiente por 16 horas. Depois do período de contacto a massa do hexano foi decantada da amostra e a amostra foi colocada dentro de um funil grande revestido com um papel-toalha para permitir que o solvente remanescente seja drenado. As amostras foram deixadas para evaporar por 1 dia em uma panela rasa em uma coifa de modo que o hexano foi removido. O teor de óleo residual foi determinado sobre subamostras de 3 gramas usando um Goldfish Extractor com hexano como um solvente (modelo 22166B, Labconco Corp.; Kansas City, Missouri, 64132, U.S.A.), comparando o peso da amostra antes e depois de extração do solvente. O conteúdo de umidade residual foi determinado pesando subamostras de 1 grama de farinha grossa antes e depois de secagem com ar forçado a 130 graus Celsius por 2 horas.

Amostras de farinha grossa de canola trituradas foram testadas para teor de energia metabolizável verdadeira (TME_n) e digestibilidade de aminoácidos (AA) em aves domésticas. As técnicas sendo empregadas para medir TME_n e a digestibilidade de AA se baseiam na técnica da análise de regressão. Este método de bioensaio foi primeiro descrito por Sibbald (1976) para uso na medição da energia metabolizável verdadeira em materiais alimentares, e adicionalmente adaptado para calcular a energia retida na ave como nitrogênio (Sibbald, 1979). O método usado para este estudo para medir tanto a TME_n

quanto a digestibilidade de aminoácidos é descrito por Parsons et al. (1997). Depois de um período de 24 horas sem alimentação, as aves recebem porções de 30 gramas da dieta de teste através de intubação do papo, enquanto aves adicionais foram privadas de ração durante todo o período experimental para

5 medir a excreção endógena de matéria seca, energia, nitrogênio e aminoácidos. Uma bandeja plástica foi colocada sob a gaiola de cada ave, e o excreta foi coletado quantitativamente por 48 horas depois de intubação. As amostras de excreta foram em seguida liofilizadas, pesadas, e trituradas para passar a-

10 través de uma peneira de malha 60. A energia bruta, nitrogênio, e concentrações de aminoácido foram em seguida determinadas em no mínimo duas replicatas de cada amostra individual de excreta. As digestibilidades verdadeiras de aminoácidos são calculadas de acordo com o método descrito por Sibbald (1979), e a TME_n pelo método de Parsons et al. (1982). A TME_n foi corrigida para 0% de óleo usando uma conversão que 1% de óleo contribui 80 Kcal de

15 energia mas desloca 25 Kcal de energia de proteína, portanto cada 1% de óleo residual adiciona 55 Kcal de energia não proteína.

Os resultados são proporcionados nas Tabelas 21 e 22.

Tabela 21. Digestibilidade de Aminoácidos (Percentagem) para farinha grossa preparada a partir das linhagens DH, linhagens de canola de semente amarela, e linhagens de canola de semente preta

Linhagem	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Ala	Cys	Val	Met	Iso	Leu	Tyr	Phe	His	Lys	Arg	Try
DN041279	90,60	85,26	87,10	94,89	87,55	90,31	86,67	87,31	94,12	90,08	92,00	89,29	92,55	91,71	92,13	93,40	97,41
DN041495	90,64	86,56	88,24	94,86	86,92	90,27	86,57	86,61	94,86	89,53	92,82	90,06	93,58	92,97	92,08	95,18	97,19
DN041506	90,11	87,19	89,06	94,77	87,73	90,29	89,85	87,71	94,17	89,42	92,23	90,03	92,45	92,55	93,39	93,55	97,14
DN041510	90,60	86,51	89,29	94,49	87,32	89,51	86,08	87,03	93,84	89,08	92,29	89,54	92,75	91,63	92,02	91,87	97,18
DN041537	87,36	83,46	85,37	92,68	85,88	86,14	83,58	83,66	92,02	85,10	89,12	87,01	90,25	90,53	91,76	93,13	96,69
DN041593	90,22	87,48	90,03	94,57	89,01	90,03	88,03	87,73	93,95	88,79	92,14	90,12	92,78	91,03	93,32	94,36	96,83
DN041667	89,69	87,20	90,08	94,35	87,82	88,22	88,25	84,61	93,56	86,42	91,02	89,53	92,20	91,30	92,97	94,50	87,81
YN97262	87,81	83,68	86,97	93,51	86,06	86,63	84,78	84,32	92,19	85,81	89,05	87,21	90,44	90,35	91,23	91,01	96,95
YN01429	87,31	83,52	85,85	92,92	85,30	87,68	83,09	84,13	92,95	86,86	90,62	87,45	91,19	91,34	91,37	93,29	97,13
Testes Ama- relos	87,56	83,60	86,41	93,21	85,68	87,16	83,94	84,22	92,57	86,34	89,84	87,33	90,81	90,85	91,30	92,15	97,04
46A65	86,09	82,27	84,28	91,19	85,23	84,87	81,49	81,96	89,67	83,44	86,78	87,00	88,34	88,72	88,89	91,17	96,14
Q2	87,19	84,99	87,50	93,42	87,62	87,16	85,05	85,87	92,87	87,35	90,56	88,39	90,98	90,22	91,30	91,80	97,09
Testes Pretos	86,64	83,63	85,89	92,31	86,42	86,02	83,27	83,91	91,27	85,40	88,67	87,69	89,66	89,47	90,09	91,49	96,61
Nex 822 CL	92,50	89,39	91,12	95,90	90,09	92,94	89,64	90,60	95,87	92,52	94,68	91,25	94,63	93,57	94,12	93,38	97,31

Tabela 22. Energia Metabolizável Verdadeira Média de farinha grossa de canola corrigida para 0% de teor de óleo

Linhagem	TME _n Média Livre de Óleo
YN97262	2650
DN041593	2638
Nex 822 CL	2580
DN041279	2573
DN041506	2482
DN041510	2471
DN041495	2459
DN041537	2425
YN01429	2424
DN041667	2414
46A65	2248
Q2	2230

REFERÊNCIAS

- Bell, J.M., Shires, A. 1982. Composition and digestibility by pigs of hulls fractions from rapeseed cultivars with yellow or brown seed coats. Can. J. Animal Science 62:557-565.
- American Oil Chemists' Society (AOCS) Official Methods Am 2-92 Oil content in Oilseeds
- AOCS Official Methods Ba 4e-93 Combustion Method for the Determination of Crude Protein
- AOCS Official Method Ak 1-92 (93) Determination of glucosinolates content in rapeseed and canola by HPLC
- Bell, J.M. 1993. Feeding studies of yellow-seeded *Brassica*. Can. J. Animal Sci. 73:679-697.
- Bell, J.M. 1995. Meal and by-product utilization in animal nutrition, pp. 301-337. In: *Brassica* oilseeds, production and utilization. Ed. D. Kimber and D.I. McGregor. Cab International, Wallingford, Oxon, OX108DE, UK.
- Getinet, A., G. Rakow. 1997. Repression of seed coat pigmentation in Ethiopian mustard. Can. J. Plant Sci. 77:501-505.

Newkirk, R.W., H.L. Classen and M.J. Edney. 2003. The digestibility and content of amino acids in toasted and non-toasted canola meals. *Canadian Journal of Animal Sci.* 83:131-139

- 5 Rakow, G., Relf-Eckstein, J., Raney, P. and Gugel, R. 1999a. Development of high yielding, disease resistant, yellow-seeded *Brassica napus*. Proc. 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Austrália, 26 a 29 de setembro de 1999. Oral presentation, session C 07.

- 10 Rakow, G., Raney, P. and Relf-Eckstein, J. 1999b. Agronomic desempenho and seed quality of a new source of yellow-seeded *Brassica napus*. Proc. 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Austrália, 26 a 29 de setembro de 1999. Poster no. 9.

- 15 Rakow, G., J.P. Raney. 2003. Present status and future perspectives of breeding for seed quality in *Brassica* oilseed crops. Proc. 11th Int. Rapeseed Cong., Copenhagen, Dinamarca, 6 a 10 de julho de 2003, 1:181-185, discurso programático oral (convidado).

Rakow, G. (2004a). Canola meal quality improvement through the breeding of yellow-seeded varieties - an historical perspective. AAFC Sustainable Production Systems Bulletin. 2 pp.

- 20 Rakow, G. (2004b). Yellow-seeded *Brassica napus* canola for the Canadian canola Industry . AAFC Sustainable Production Systems Bulletin. 2 pp.

Rashid, A. and Rakow, G. 1995. Seed quality improvements in yellow seeded *Brassica napus*. Proc. 9th Int. Rapeseed Congress, Cambridge, Inglaterra, 4 a 7 de julho de 1995. Vol. 4: 1144-1146.

- 25 Rashid, A., Rakow, G. and Downey, R.K. 1994. Development of yellow-seeded *Brassica napus* L. through interspecific crosses. *Plant Breeding* 112: 127-134.

- 30 Relf-Eckstein, J., G. Rakow and J.P. Raney 2003. Yellow-seeded *Brassica napus* canola - a new generation of high quality canola for Canada. Proc. 11th Int. Rapeseed Congress, Copenhagen, Dinamarca, 6 a 10 de julho de 2003. Vol. 2: 458-460.

Shirzadegan, M., G. Röbbelen. 1985. Influence of seed color and

hull proportion on quality properties of seeds in *Brassica napus* L. Göttingen Fette Seifen Anstrichmittel 87:235-237.

- 5 Simbaya, J., Slominski, B.A., Rakow, G., Campbell, L.D., Downey, R.K. and Bell, J.M. 1995. Quality characteristics of yellow-seeded *Brassica* seed meals: protein, carbohydrate and dietary fiber compounds. J. Agr. Food Chem. 43: 2062-2066.

Slominski, B.A., Campbell L.D. and Guenter, W. 1994. Carbohydrates and dietary fiber components of yellow-seeded and brown-seeded canola. J. Agric Food Chem. 42:704-707

- 10 Stringham, G. D., McGregor, D.L. and Pawlowski, S.H. 1974. Chemical and morphological characteristics associated with seed coat color in rapeseed. In Proceedings of the 4th International Rapeseed Congress, Giessen, Alemanha pp. 99 a 108.

REIVINDICAÇÕES

1. Planta de canola, caracterizada pelo fato de que produz sementes revestidas de amarelo tendo, em média, no mínimo 68% de ácido oléico (C18:1) e menos de 3% de ácido linolênico (C18:3).
- 5 2. Planta de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as referidas sementes têm fibra de detergente ácida abaixo de 11% conforme determinado por NIR em uma base de massa a seco.
3. Planta de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as referidas sementes compreendem no mínimo 43% de óleo.
- 10 4. Planta de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as referidas sementes compreendem no mínimo 45% de proteína.
5. Planta de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as referidas sementes compreendem no mínimo 43% de óleo e no mínimo 45% de proteína em uma base de massa seca determinada usando NIR.
- 15 6. Planta de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a referida planta foi produzida sem engenharia genética e sem mutagenese.
7. Planta de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as referidas sementes têm componentes antinutricionais reduzidos.
- 20 8. Planta de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que as referidas sementes têm um teor de fitato de menos de 1,3%, um teor de lignina detergente ácida de menos de 2%, e um teor de fibra detergente neutra de menos de 17%.
9. Planta cultivada, caracterizada pelo fato de que é a partir da semente como definida na reivindicação 2.
- 25 10. Planta da progênie de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que a referida planta da progênie produz sementes revestidas de amarelo tendo, em média, no mínimo 68% de ácido oléico (C18:1) e menos de 3% de ácido linolênico (C18:3).
- 30 11. Campo de plantas como definidas na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as referidas plantas produzem uma média de no mínimo 1700 quilogramas de semente por hectare.

12. Semente, caracterizada pelo fato de que é produzida pela planta de canola como definida na reivindicação 1.

13. Semente produzida pela planta de canola como definida na reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a referida semente está disponível
5 sob um número de depósito ATCC selecionado entre PTA-6806 e PTA-6807.

14. Ração animal, caracterizada pelo fato de que compreende farinha de sementes como definidas na reivindicação 12.

15. Farinha de canola, caracterizada pelo fato de que é produzida a partir de sementes como definidas na reivindicação 1.

10 16. Farinha de canola de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que a referida farinha tem uma energia metabolizável verdadeira média de no mínimo 2400.

15 17. Farinha de canola de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que a referida farinha tem um perfil de digestibilidade por aminoácidos mostrado na Tabela 21.

18. Farinha de canola de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que a referida farinha compreende entre 47% a 54,7% de proteína.

20 19. Farinha de canola de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que a referida farinha compreende entre 43,6% a 48% de proteína.

20. Farinha de canola de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que a referida farinha compreende entre 46,4% a 52,8% de proteína.

25 21. Farinha de canola de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de que a referida farinha compreende entre 47% a 50,3% de proteína.

RESUMO

Patente de Invenção: **"SEMENTES DE CANOLA AMARELA DE BAIXO TEOR DE FIBRAS COMPREENDENDO ALTO TEOR OLÉICO, BAIXO TEOR DE ÓLEO LINOLÊNICO"**.

- 5 A presente invenção refere-se a canola de semente amarela, de baixo teor de fibras, e farinha grossa de canola e ração animal relacionadas. O óleo produzido a partir desta semente tem no mínimo 68% de ácido oléico e não mais de 3% de ácido linolênico, relativamente aos ácidos graxos totais no óleo. Também são proporcionadas linhagens de canola específicas apresentando estas características. Até o momento não foi proporcionada semente de
- 10 canola oferecendo as vantagens combinadas de excelente óleo junto com farinha grossa de alta qualidade.