



CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE TRES GENOTIPOS DE CANOLA (*Brassica napus* L.) PRODUCIDOS CON Y SIN APLICACIÓN DE BRASINOESTEROIDES

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF THREE CANOLA GENOTYPES (*Brassica napus* L.) PRODUCED WITH AND WITHOUT BRASSINOSTEROID APPLICATION

Eliseo Sosa-Montes¹, Esther Sosa-Montes¹, Arturo Pro-Martínez², Martha B. G. Irizar-Garza³, Sergio I. Mendoza-Pedroza², Joyce Sánchez-Olguín¹ y José I. Alejos-de la Fuente^{1*}

¹Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zootecnia, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. ³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, México.

*Autor de correspondencia (jalejosd@chapingo.mx)

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue caracterizar químicamente la respuesta de tres genotipos de canola (Monty, Hyola-401 e IMC-204) a la aplicación de brasinoesteroides en la planta. Mediante un diseño completamente al azar y un arreglo factorial se establecieron seis tratamientos (tres genotipos con y sin aplicación de brasinoesteroides). En muestras de semilla se determinaron las variables: extracto etéreo (EE), proteína cruda (PC), proteína cruda soluble (PCS), proteína cruda insoluble en detergente neutro (PCIDN) y proteína cruda insoluble en detergente ácido (PCIDA); todas expresadas como porcentaje en base seca. Los genotipos Hyola-401 y Monty mostraron los contenidos más altos de PCS (20.2 y 18.5 %, respectivamente) y PC (24.5 y 24.6 %, respectivamente). El genotipo Hyola-401 presentó los contenidos más bajos de PCIDA (4.4 %), de PCIDN (7.1 %) y de EE (42.0 %). La PC promedio de los tres genotipos aumentó con la aplicación de brasinoesteroides (22.7 a 24.8 %), principalmente en el genotipo Hyola-401 (21.7 a 26.3 %). En conclusión, el genotipo Hyola-401, que mostró valores bajos de EE, PCIDN y PCIDA, aumentó su contenido de proteínas mediante la aplicación de brasinoesteroides.

Palabras clave: *Brassica napus* L., brasinoesteroides, canola, caracterización química.

SUMMARY

The aim of this study was to chemically characterize the response of three canola genotypes (Monty, Hyola-401 and IMC-204) to the application of brassinosteroids in plant. By means of a completely randomized design and a factorial arrangement, six treatments were established (three genotypes with and without application of brassinosteroids). Seed samples were obtained to determine the variables: ether extract (EE), crude protein (CP), soluble crude protein (SCP), neutral detergent insoluble crude protein (NDICP) and acid detergent insoluble crude protein (ADICP); all expressed as percentage in dry basis. Hyola-401 and Monty genotypes showed the highest contents of SCP (20.2 and 18.5 %, respectively) and CP (24.5 and 24.6 %, respectively). The Hyola-401 genotype presented the lowest contents of ADICP (4.4 %), NDICP (7.1 %) and EE (42.0 %). The average CP of the three genotypes increased by the application of brassinosteroids (22.7 to 28.8 %), mainly in the Hyola-401 genotype (21.7 to 26.3 %). In conclusion, the Hyola-401 genotype, that showed low values of EE, NDICP and ADICP, increased its protein content by the application of brassinosteroids.

Index words: *Brassica napus* L., brassinosteroids, canola, chemical characterization.

INTRODUCCIÓN

La canola es un cultivo de rotación importante y proporciona beneficios agronómicos positivos a los granos pequeños tradicionales (Wilson y Dahl, 2010), por ejemplo, su adaptación a bajas temperaturas y resistencia a la sequía (Harker *et al.*, 2015; Ortegón *et al.*, 2006). Esta especie es cultivada en algunas regiones del norte y centro de México (Ortegón *et al.*, 2006). La canola es una fuente de aceite de alta calidad para los humanos y un ingrediente alimenticio para el ganado (Inzunza *et al.*, 2010) y su harina podría reemplazar totalmente la proteína de soya en las dietas para cerdos de finalización (Rojo *et al.*, 2001). La elevada producción de canola en el mundo ha promovido el desarrollo de híbridos y cultivares con adaptación a una amplia gama de ambientes (Ortegón *et al.*, 2006), genotipos que podrían tener diferentes características químicas.

Por otro lado, los brasinoesteroides son fitohormonas que poseen un amplio espectro de actividad antiestrés (Mousavi *et al.*, 2009) y promueven el crecimiento y el rendimiento en cultivos de grano (Ur Rehman *et al.*, 2013). Los brasinoesteroides han recibido menos atención como moduladores de resistencia (Santamaría *et al.*, 2013) y probablemente como mejoradores de la calidad nutritiva del grano. En algunos estudios se reporta que aumentan la materia seca (2.6 a 4.5 g) y el área foliar (1013.2 a 1633.8 cm²) de plántulas de frijol (Martínez *et al.*, 2018) y aumentan el rendimiento de grano 1.04 a 1.75 t ha⁻¹ en frijol ayocote (Vargas-Vázquez e Irizar-Garza, 2005). Respecto al efecto de la aplicación de brasinoesteroides en el contenido de proteína de las semillas de canola la información es escasa. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar químicamente la respuesta de tres genotipos de canola (Monty, Hyola-401 e IMC-204) a la aplicación de brasinoesteroides en planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tratamientos, diseño y parcela útil

Los genotipos Monty, Hyola-401 e IMC-204 se obtuvieron del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Forestales y Pecuarias (INIFAP), Texcoco, Estado de México, México. Se establecieron seis tratamientos mediante un arreglo factorial (tres genotipos con y sin aplicación de brasinoesteroides), los cuales fueron establecidos en un diseño completamente al azar. La fuente de brasinoesteroides fue Biobrass 16® (1 g L⁻¹ en agua), que contiene un análogo de brasinoesteroides producido en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de la Habana, Cuba (Borcioni y Bonato-Negrelle, 2012). Esta solución acuosa de brasinoesteroides se aplicó dos veces por aspersión a los 50 y 81 días después de la siembra (2 de julio de 2002). Al final del ciclo de cultivo se cosecharon todas las plantas de las hileras centrales de cada tratamiento. La parcela útil o unidad experimental para el ensayo agronómico fue de 19.2 m², misma que multiplicada por tres repeticiones por seis tratamientos da una superficie útil de 345.6 m².

Variables evaluadas

Una muestra conjunta de semillas de canola de cada tratamiento se separó, se molió, se secó (50 °C durante 48 h) y se almacenó en refrigeración (4 °C) para analizarla posteriormente. A partir de las muestras de semillas de cada genotipo se obtuvieron las variables del análisis proximal y del análisis de Van Soest por triplicado. El análisis proximal, que comprende al extracto etéreo (EE), la proteína cruda (PC) y la fibra cruda (FC), se realizó de acuerdo con la metodología de la AOAC (1990). Se analizaron las mismas muestras para fibra detergente neutro (FDN), proteína cruda soluble (PCS: PC-PCIDA), fibra detergente ácido (FDA), proteína cruda insoluble en detergente ácido (PCIDA) y proteína cruda insoluble en detergente neutro (PCIDN) según Goering y Van Soest (1970). Todas las variables se reportan como porcentaje en base seca, y una de las tres muestras de cada tratamiento se consideró la unidad experimental porque en ella se evaluaron las variables respuesta.

Análisis de varianza

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para detectar los efectos del genotipo y de los brasinoesteroides. Para evaluar la interacción de estos factores se analizó la variable PC bajo un arreglo factorial de tratamientos. Para todas las variables, las medias de los genotipos se compararon con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Analizando los efectos significativos ($P \leq 0.05$) del factor principal denominado genotipo, Hyola-401 mostró el valor más bajo de EE (42.0) (Cuadro 1). Resultados similares de extracto etéreo se encontraron en la literatura consultada (El Sabagh *et al.*, 2016; Colombini *et al.*, 2014; Ebrahimi *et al.*, 2009). Los genotipos Hyola-401 y Monty mostraron la PC más alta (24.5 y 24.6 %, respectivamente) y el mayor contenido de PCS (20.2 y 18.5 %, respectivamente) (Cuadros 1 y 2). Los valores de PC fueron inferiores al 22 % reportado por El Sabagh *et al.* (2016) y Ebrahimi *et al.* (2009).

El genotipo Hyola-401 (Cuadro 2) mostró menor valor de PCIDN (7.1 %) que Monty (9.8 %) y menor PCIDA (4.4 %) que Monty (6.1 %). Estos contenidos fueron superiores a los reportados por Colombini *et al.* (2014) para un cultivar comercial de canola (2.8 de PCIDN y 1.7 % de PCIDA). La PCS es importante ya que la PC de canola es de alta solubilidad, como se demuestra al comparar la PC del Cuadro 1 con la PCS del Cuadro 2: la PCS resulta mayor al 75 %. Se consideró a la PCIDA como completamente no disponible para humanos, con base en la siguiente afirmación: la fracción PC - PCIDA proporciona la proteína disponible para los animales (Jayanegara *et al.*, 2016); en este trabajo esta fracción se denominó PCS (Cuadros 2, 4 y 5).

La PC aumentó por efecto del factor principal brasinoesteroides (22.7 a 24.8 %) (Cuadro 3). Este incremento se debió principalmente al genotipo Hyola-401, que aumentó de 21.7 a 26.3 % (Figura 1).

La interacción altamente significativa ($P = 0.004$) genotipos \times brasinoesteroides sobre la variable PC significa que los genotipos Monty e IMC-204 no aumentaron su contenido de proteínas mediante la aplicación de brasinoesteroides; sin embargo, el genotipo Hyola-401 aumentó 4.6 unidades porcentuales (Figura 1).

Esta interacción indica que si bien los genotipos Monty e IMC-204 no cambiaron su contenido de proteínas mediante la aplicación de brasinoesteroides ($P > 0.05$), el genotipo Hyola-401 sí lo incrementó ($P \leq 0.05$). Debido a que las parcelas útiles donde se sembraron los tres genotipos se consideraron uniformes en cuanto a su fertilización, el contenido de proteína del genotipo Hyola-401 aumentó considerablemente del 21.7 al 26.3 %, debido principalmente a la aplicación de brasinoesteroides.

El contenido de PCIDN y PCIDA también aumentó ($P \leq 0.05$) de 7.7 a 9.3 % y de 4.9 a 6.4 %, respectivamente, por el efecto de los brasinoesteroides (Cuadro 4).

Cuadro 1. Medias de las variables del análisis proximal de semillas de tres genotipos de canola (efecto del genotipo).

Variables	Genotipos			Error estándar de la media
	Monty	Hyola-401	IMC-204	
Ceniza	4.4 a [†]	4.2 b	4.1 b	0.06
Materia orgánica	95.6 b	95.8 a	95.9 a	0.13
Proteína cruda	24.6 a	24.5 a	22.0 c	0.45
Fibra Cruda	12.3 a	11.3 b	9.4 c	0.75
Extracto etéreo (lípidos)	42.9 ab	42.0 b	45.9 a	2.25

[†]Medias con la misma letra en cada fila no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). Todos los valores se reportan como porcentaje en base seca.

Cuadro 2. Medias de las variables del análisis de Van Soest de semillas de tres genotipos de canola (efecto del genotipo).

Variables	Genotipos			Error estándar de la media
	Monty	Hyola-401	IMC-204	
FDN	37.9	37.6	35.1	2.26
CC	62.1	62.4	64.9	2.26
PCIDN	9.8 a [†]	7.1 b	8.3 ab	1.55
FDA	27.5 b	31.3 a	32.2 a	3.01
PCIDA	6.1 a	4.4 b	5.6 ab	1.28
HC	10.4 a	6.3 ab	2.9 b	3.10
LIG	15.1 b	28.8 a	26.9 a	4.96
PCS	18.5 a	20.2 a	16.3 b	1.34

[†]Medias con la misma letra en cada fila no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). Todos los valores se reportan como porcentaje en base seca. FDN: fibra detergente neutro, CC: contenido celular, PCIDN: proteína cruda insoluble en detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, PCIDA: proteína cruda insoluble en detergente ácido, HC: hemicelulosas, LIG: lignina, PCS: proteína cruda soluble.

Cuadro 3. Medias de las variables del análisis proximal de semillas de tres genotipos de canola (efecto de los brasinoesteroides).

Variables	Sin Brasinoesteroides	Con brasinoesteroides	Error estándar de la media
Ceniza	4.1	4.2	0.04
Materia orgánica	95.9	95.8	0.04
Proteína cruda	22.7 b [†]	24.8 a	1.71
Fibra cruda	10.9	11.1	2.53
Extracto etéreo (lípidos)	43.9	43.0	1.51

[†]Medias con la misma letra en cada fila no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). Todos los valores se reportan como porcentaje en base seca.

El alto incremento del contenido de proteínas del genotipo Hyola-401 (Figura 1) se produjo principalmente en las fracciones fibrosas de las semillas (Cuadro 5). La PCIDN de este genotipo aumentó ($P < 0.05$) de 5.4 a 8.6 % y la PCIDA de 3.8 a 6.5 %, por efecto de la aplicación de brasinoesteroides. El incremento de PC del genotipo Hyola-401 se explica principalmente por el incremento en estas fracciones insolubles, ya que la fracción soluble (PCS) no aumentó ($P > 0.05$).

Los brasinoesteroides son compuestos que promueven el crecimiento en las plantas y la translocación de fotoasimilados hacia el grano (Ur Rehman *et al.*, 2013). En

este estudio, el aumento en la concentración de proteínas por el efecto de los brasinoesteroides no es un efecto de concentración por reducción total de la biomasa, ya que estas hormonas aumentan la acumulación de biomasa y el rendimiento de los cultivos de grano (Díaz, 2003; Mousavi *et al.*, 2009). No se encontró información en la literatura consultada sobre el efecto de los brasinoesteroides en el contenido de proteína soluble o insoluble de la semilla de canola, por lo que, para corroborar estos resultados es importante realizar nuevos estudios sobre el efecto de los brasinoesteroides en el contenido de proteína de la semilla de canola.

Cuadro 4. Medias de las variables del análisis de Van Soest de semillas de tres genotipos de canola (efecto de los brasinoesteroides).

Variables	Sin brasinoesteroides	Con brasinoesteroides	Error estándar de la media
FDN	37.3	35.1	0.56
CC	62.7	64.9	0.56
PCIDN	7.7 b [†]	9.3 a	0.39
FDA	33.0 a	28.0 b	0.87
PCIDA	4.9 b	6.4 a	0.31
HC	4.3 b	7.1 a	1.03
LIG	24.5	23.5	1.76
PCS	17.9	17.3	0.41

[†]Medias con la misma letra en cada fila no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). Todos los valores se reportan como porcentaje en base seca. FDN: fibra detergente neutro, CC: contenido celular, PCIDN: proteína cruda insoluble en detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido, PCIDA: proteína cruda insoluble en detergente ácido, HC: hemicelulosas, LIG: lignina, PCS: proteína cruda soluble.

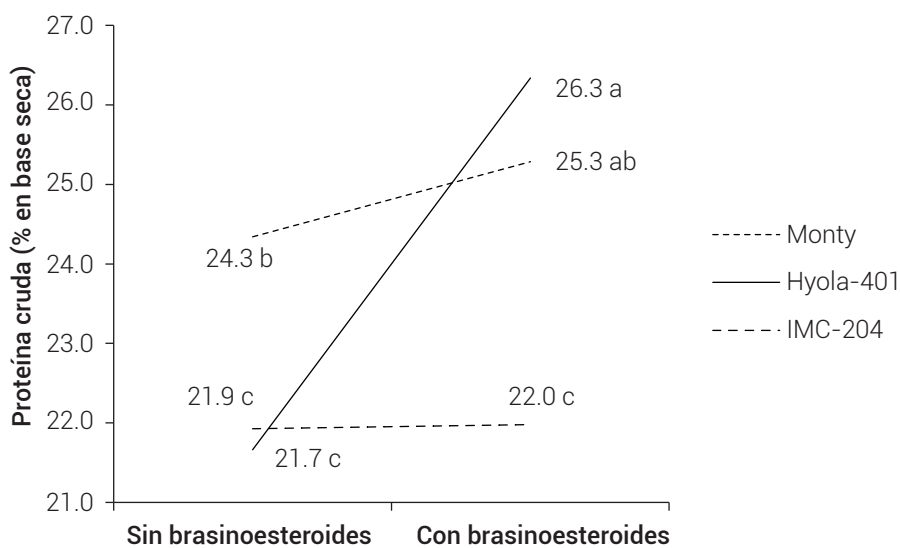


Figura 1. Interacción genotipos × brasinoesteroides sobre proteína cruda. Medias con la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 5. Variables PCIDN, PCIDA y PCS de la semilla de canola obtenidas para cada genotipo (efecto de los brasinoesteroides).

Variable y genotipos	Sin brasinoesteroides	Con brasinoesteroides	Error estándar de la media
PCIDN Monty	9.8 a [†]	9.2 ab	1.70
PCIDN Hyola-401	5.4 c	8.6 ab	
PCIDN IMC-204	7.1 bc	9.4 a	
PCIDA Monty	5.2 ab	7.1 a	1.32
PCIDA Hyola-401	3.8 b	6.5 a	
PCIDA IMC-204	5.3 ab	5.9 ab	
PCS Monty	19.1 ab	18.2 ab	1.40
PCS Hyola-401	17.8 ab	19.8 a	
PCS IMC-204	16.6 b	16.0 b	

[†]Medias con la misma letra en cada fila no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). Todos los valores se presentan como porcentaje en base seca. PC: proteína cruda, PCIDN: proteína cruda insoluble en detergente neutro, PCIDA: proteína cruda insoluble en detergente ácido, PCS: proteína cruda soluble.

CONCLUSIÓN

El contenido de proteína cruda (PC) de los genotipos estudiados aumentó debido a la aplicación de brasinoesteroides, incremento que se produjo principalmente en el genotipo Hyola-401, que presentó valores bajos de EE, PCIDN y PCIDA.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro agradecimiento a la Ing. Cristina Cruz Santiago, Dra. Guillermina Martínez Trejo y M.C. Patricia Vargas Vázquez, por su valiosa colaboración en la realización de la presente investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC, Association of Official Analytical Chemists (1990) Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. 1298 p.
- Borcioni E. e R. R. B. Negrelle (2012) Aplicação de análogo de brassinosteroides (Biobras 16[®]) sobre a germinação e crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bocaiuva. *Ciência Rural* 42:270-275, <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000200014>
- Colombini S., G. A. Broderick, I. Galasso, T. Martinelli, L. Rapetti, R. Russo and R. Reggiani (2014) Evaluation of *Camelina sativa* (L.) Crantz meal as an alternative protein source in ruminant rations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94:736-743, <https://doi.org/10.1002/jsfa.6408>
- Díaz S. H., R. Morejón and M. Núñez (2003) Effects of Biobras-16 on rice (*Oriza sativa* L.) yield and other characters. *Cultivos Tropicales* 24:35-40.
- Ebrahimi S. R., A. Nikkhah, A. A. Sadeghi and G. Raisali (2009) Chemical composition, secondary compounds, ruminal degradation and *in vitro* crude protein digestibility of gamma irradiated canola

seed. *Animal Feed Science and Technology* 151:184-193, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.01.014>

- El Sabagh A., A. E. Omar, C. Barutçular and H. Saneoka (2016) Role of integrated use of nitrogen fertilizer sources in improving seed quality of canola (*Brassica napus* L.). *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology* 4:73-78, <https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i2.73-78.514>
- Goering H. K. and P. J. Van Soest (1970) Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). Agricultural Handbook No. 379. Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture. Washington, D. C. 24 p.
- Harker K. N., J. T. O'Donovan, E. G. Smith, E. N. Johnson, G. Peng, C. J. Willenborg, ... and L. A. Grenkow (2015) Seed size and seeding rate effects on canola emergence, development, yield and seed weight. *Canadian Journal of Plant Science* 95:1-8, <https://doi.org/10.4141/cjps-2014-222>
- Inzunza I. M. A., E. A. Catalán V., M. Villa C., I. Sánchez C. y A. Román L. (2010) Respuesta de la canola al déficit hídrico del suelo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33:53-59, <https://doi.org/10.35196/rfm.2010.1.53>
- Jayanegara A., S. P. Dewi, N. Laylli, E. B. Laconi, N. Nahrowi and M. Ridla (2016) Determination of cell wall protein from selected feedstuffs and its relationship with ruminal protein digestibility *in vitro*. *Media Peternakan* 39:134-140, <file:///C:/Users/elise/Downloads/9524-Article%20Text-38378-1-10-20160829.pdf>
- Martínez G. L., Y. Reyes G., G. Pérez D., M. C. Nápoles G. y M. De la C. Núñez V. (2018) Influence of Biobras-16[®] and Quitomax[®] on bean plant biological aspects. *Cultivos Tropicales* 39:108-112.
- Mousavi A. E., K. M. Kalantari and S. R. Jafari (2009) Change of some osmolytes accumulation in water-stressed colza (*Brassica napus* L.) as affected by 24-epibrassinolide. *Iranian Journal of Science & Technology. Transaction A, Science* 33:1-11.
- Ortegón M. A. S., A. Díaz F., J. González Q. e I. Garza C. (2006) La temperatura en la etapa reproductiva del cultivo de canola (*Brassica napus* L.). *Agricultura Técnica en México* 33:259-265.
- Rojó G. A., V. G. Pérez M., A. Bayardo U., H. J. Correa C., J. A. Cuarón I. (2001) Pasta de canola como suplemento proteico en dietas para la finalización de cerdos. *Técnica Pecuaria en México* 39:179-192.
- Santamaría M. E., M. Martínez, I. Cambra, V. Grbic and I. Diaz (2013) Understanding plant defense responses against herbivore attacks: an essential first step towards the development of sustainable resistance against pests. *Transgenic Research*

22:697-708, <https://doi.org/10.1007/s11248-013-9725-4>

Ur Rehman M. W., M. Hussain, M. Ali, C. B. Mustafa, J. Shafi and F. Iqbal (2013) Allelopathy of *Brassica*. A review. *Scientia Agriculturae* 1:222-229.

Vargas-Vázquez P. y M. B. G. Irizar-Garza (2005) Efecto del brasinoesteroide y densidad de población en la acumulación de biomasa y

rendimiento de ayocote (*Phaseolus coccineus* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11: 269-272.

Wilson W. W. and B. Dahl (2010) Contracting for canola in the Great Plains States. Report No. 663. Department of Agribusiness & Applied Economics, Agricultural Experiment Station, North Dakota State University. Fargo, ND, USA. 57 p.