

MICHELE JORGE DA SILVA

**INCORPORAÇÃO DO ALELO *bmr-6* “*BROWN MIDRIB*” E ANÁLISE DIALÉLICA EM
LINHAGENS ELITES DE SORGO BIOMASSA COM NERVURA MARROM**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S586i
2019
Silva, Michele Jorge da, 1987-
Incorporação do alelo *bmr-6* “*brown midrib*” e análise dialéctica em linhagens elites de sorgo biomassa com nervura marrom / Michele Jorge da Silva. – Viçosa, MG, 2019.
ix, 67 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. *Sorghum bicolor*. 2. Etanol. 3. Lignina. 4. Hibridação.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento.
II. Título.

CDD 22. ed. 633.174

MICHELE JORGE DA SILVA

INCORPORAÇÃO DO ALELO *bmr-6* “*BROWN MIDRIB*” E ANÁLISE DIALÉLICA EM LINHAGENS ELITES DE SORGO BIOMASSA COM NERVURA MARROM

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2019.

Cláudia Teixeira Guimarães

Antonio Carlos Baião de Oliveira

Rafael Augusto da Costa Parrella
(Coorientador)

Pedro Crescêncio Souza Carneiro
(Coorientador)

José Eustáquio de Souza Carneiro
(Orientador)

*A Deus,
Pelo teu cuidado em minha vida!*

OFEREÇO

*Aos meus pais, Carlos e Eliane
À minha irmã, Karla*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A caminhada foi longa e cheia de obstáculos, mas sem dúvida valeu a pena! Foram inúmeras as pessoas que estiveram ao meu lado, sem as quais dificilmente eu venceria esta etapa. Dentre elas gostaria de registrar meus agradecimentos:

Primeiramente a *Deus*, em nome de *Jesus Cristo*, que me iluminou todo esse tempo, sem nunca deixar que eu caísse no desânimo ou descrença.

A minha mãe Eliane Jorge da Silva, por ter sempre confiado em mim, por sua preocupação e pelo seu amor incondicional.

Ao meu pai Carlos Roberto Jorge (*in memoriam*) meu herói, obrigado por seu amor, por ter me oferecido a oportunidade de estudar e ter me ensinado os verdadeiros valores da vida.

A minha irmã Karla Jorge da Silva, por ser minha amiga, conselheira e companheira em todos os momentos.

Ao meu namorado Francismar Silva Siqueira, por ter preenchido minha vida com amor, carinho, companheirismo e incentivos diários, me mostrando que o amor pode ser intenso e verdadeiro.

À minha querida tia Maria de Fátima, pelas orações e carinho.

À Universidade Federal de Viçosa representada pelos seus professores e todos os funcionários, pelo ensino, pela excelência nos serviços prestados e pela assistência estudantil.

Ao meu orientador Prof. José Eustáquio de Souza Carneiro pelos ensinamentos, orientação e por ter me mostrado que para ser “grande” é preciso primeiro ser humilde.

Ao meu co-orientador Prof. Pedro Crescêncio Souza Carneiro, pelo brilhantismo, excelência nas aulas, pela amizade, inúmeros conselhos e puxões de orelha.

À Embrapa Milho e Sorgo, pela oportunidade, parceria e possibilidade de condução dos experimentos na unidade.

Ao Dr. Rafael Parrella, pela acolhida na Embrapa Milho e Sorgo, pelo apoio e conhecimentos a mim transmitidos sobre a cultura do sorgo.

À Dra. Cynthia Damasceno, pela parceria e pelos aprendizados moleculares.

Ao Dr. Robert Schaffert, por todo aprendizado que adquiri através da sua rica fonte de experiência e também pela ajuda financeira à incrível viagem para África do Sul (*International Sorghum Conference-2018*).

Ao Marcão, por todo suporte e ensinamento molecular no Laboratório de Seleção Assistida da Embrapa Milho e Sorgo.

Ao Prof. Antonio Policarpo Souza Carneiro pela amizade e por me iniciar na pesquisa ainda na graduação, me ajudando sempre a acreditar que eu sou capaz.

Ao Dr. Antônio Carlos Baião de Oliveira, pela consideração em participar da banca e pelas sugestões para a tese.

A Dra. Cláudia Teixeira Guimarães, também pela consideração em participar da banca e pelas diversos esclarecimentos sobre a condução do trabalho de seleção assistida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento da UFV, representado pelos colegas Marco Túlio e Odilon Junior, pela excelência nos serviços prestados.

Ao Grupo de Estudo em Genética e Melhoramento (GenMelhor) da UFV, pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

Aos colegas da Embrapa Milho e Sorgo, por não medirem esforços na condução dos experimentos e pela amizade, Magela, Rodrigo, Clarindo, Marcos André, Ruane, Pedro César, Álvaro, Vander, Karine, Isadora, Laiane, Cristiane Lanza e Bárbara.

Ao Edimilson e Arlindo, também da Embrapa Milho e Sorgo, por me auxiliarem na condução dos experimentos em casa de vegetação, obrigado por todo cuidado, atenção e boa vontade.

Aos colegas do Laboratório de Biometria: Jennifer, Juan, Profa. Erina, Larissa, Michelle Brandão, Prof. Leonardo B., Lidiane, pela amizade e “cafezinhos diários”.

Aos colegas do Programa de Melhoramento de Feijão: Micheli Possobom, Profa. Renata B., Lisandra e Prof. Leonardo C, Ramon e Adriel.

Aos pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, em especial à Dra. Maria Marta e ao Dr. Flávio Tardin pela amizade e confiança.

Aos colegas da “Agronomia 2008”: Andreia, Alexandre (“irmão”), Chico, Dênia, Elias, Helder, Fabiana, Lenise, Lílian, Natanael, Rafael dos Anjos, Rafael Mauri e Thamyres, pois vocês fazem parte desta história.

Ao meu querido “Grupo de Convivência”: Andrea, Daniela, Emily, Lucimar, Marília, Paula e Wagner pelas orações e pelos encontros cada vez mais acolhedores.

À minha amiga Ana Paula Monteiro por sua amizade duradoura, pelo seu companheirismo, apesar da distância que nos separa.

A todos que de alguma forma contribuíram com amizade, dedicação e apoio para que eu chegasse ao final dessa etapa da minha vida, deixo aqui meus sinceros e eternos agradecimentos.

MINHA GRATIDÃO!

BIOGRAFIA

MICHELE JORGE DA SILVA, filha de Carlos Roberto Jorge (*in memoriam*) e Eliane Jorge da Silva, nasceu na cidade de Matozinhos, Minas Gerais, Brasil, em 10 de outubro de 1987.

No município de Matozinhos, Minas Gerais, cursou o Ensino Primário e Fundamental na Escola Estadual Visconde do Rio das Velhas, de 1994 a 2002 e o Ensino Médio na Escola Estadual Bento Gonçalves, de 2003 a 2005.

Em fevereiro de 2006, iniciou o curso Técnico em Química, na Escola Técnica Municipal de Sete Lagoas, concluindo em dezembro de 2007.

Em março de 2008, iniciou o curso superior na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais e em abril de 2013 obteve o título de Engenheira Agrônoma.

Em março de 2013 ingressou no Mestrado em Genética e Melhoramento, na Universidade Federal de Viçosa. Desenvolveu seu projeto de mestrado em parceria com a Embrapa Milho e Sorgo, sob orientação dos professores José Eustáquio de Souza Carneiro e Pedro Crescêncio Souza Carneiro e do pesquisador Dr. Rafael Augusto da Costa Parrella. Defendeu a dissertação intitulada “Caracterização fenotípica e molecular de linhagens de sorgo sacarino visando produção de bioetanol” em 24 de fevereiro de 2015.

Em março de 2015 ingressou no Doutorado em Genética e Melhoramento, na Universidade Federal de Viçosa. Desenvolveu seu projeto de doutorado também em parceria com a Embrapa Milho e Sorgo, sob orientação dos professores José Eustáquio de Souza Carneiro e Pedro Crescêncio Souza Carneiro e dos pesquisadores Dr. Rafael Augusto da Costa Parrella e Dra. Cynthia Maria Borges Damasceno, concluindo-o em fevereiro de 2019.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	6
CAPÍTULO I.....	7
Introgessão do alelo <i>bmr6</i> em linhagens elites de sorgo biomassa para produção de bioenergia.....	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Materiais genéticos	13
2.2 O programa de retrocruzamento	13
2.2.1 Esquema de retrocruzamento assistido:	14
2.3 Isolamento de DNA	15
2.4 Utilização de marcadores CAPS específico para o loco <i>bmr</i> nas gerações de retrocruzamento..	15
2.5 Utilização de marcadores SNPs para acelerar a recuperação das linhagens recorrentes	16
2.6 Análise dos dados moleculares	17
2.7 Confirmação do genótipo predito pelo marcador CAPS.....	17
2.8 Multiplicação da linhagem <i>Brown midrib</i> e a obtenção dos híbridos experimentais.....	17
3. RESULTADOS	18
3.1 Distribuição física e genética dos marcadores	18
3.2 Genotipagem da primeira geração de retrocruzamento.....	19
3.3 Recuperação do genótipo recorrente na geração RC1F1	19
3.4 Genotipagem da segunda geração de retrocruzamento	22
3.5 Recuperação do genótipo recorrente na geração RC2F1	22
3.6 Produção de híbridos experimentais “Brown midrib”	24
4. DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÃO	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
CAPÍTULO II	34
Efeito de safra e local na análise dialélica em linhagens de sorgo biomassa para geração de bioenergia	34
RESUMO	35
ABSTRACT	36
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAL E MÉTODOS	39

2.1. Material genético.....	39
2.2. Delineamento experimental e avaliações de campo.....	40
2.3. Análises genético-estatísticas.....	42
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1 Efeito de Safra – Experimentos (I e III) e (II e IV).....	44
3.2 Efeito de Local – Experimentos (I e II) e (III e IV)	52
3.3 Linhagens A e R selecionadas e o desenvolvimento dos híbridos	61
4. CONCLUSÃO	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

RESUMO

SILVA, Michele Jorge da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Incorporação do alelo *bmr-6* “*brown midrib*” e análise dialélica em linhagens elites de sorgo biomassa com nervura marrom.** Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro. Coorientadores: Cynthia Maria Borges Damasceno, Pedro Crescêncio Souza Carneiro e Rafael Augusto da Costa Parrella.

O sorgo biomassa [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é considerado uma nova alternativa para produção de bioenergia. Neste sentido os principais objetivos dos programas de melhoramento do sorgo biomassa são a melhoria da qualidade e aumento da produtividade de biomassa verde. Alguns genótipos mutantes de sorgo biomassa, denominados *brown midrib* (*bmr*) - com menor teor de lignina - são favoráveis à etapa de pré-tratamento, e são capazes de facilitar a desorganização do complexo lignocelulósico. Além disso, outra característica de interesse são genótipos de sorgo biomassa com sensibilidade ao fotoperíodo. Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram realizar a incorporação do alelo *bmr-6* que controla a expressão nervura marrom em linhagens elites de sorgo biomassa e obtenção dos híbridos experimentais “*Brown midrib*”, estimar a capacidade combinatória de linhagens de sorgo biomassa com alto porte quando cruzadas com linhagens macho-estéreis e selecionar as melhores combinações híbridas. Para proceder à introgressão assistida visando o desenvolvimento de híbridos de sorgo biomassa com menor teor de lignina, foram utilizados três materiais genéticos pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo e para a realização do estudo de capacidade de combinação foram utilizados o total de quatro linhagens macho-estéreis (A) e 10 linhagens restauradoras de fertilidade (R). A partir da obtenção das sementes F₁'s, foram conduzidos quatro experimentos em diferentes safras e locais. Como resultados, foi possível realizar a introgressão do alelo *bmr6* e houve a obtenção de híbridos experimentais “*Brown midrib*”. Foi estimado a capacidade de combinação de linhagens A e R de sorgo biomassa, portadoras do alelo *bmr-6*, avaliando o efeito de safra e local, visando o potencial bioenergético para a produção de etanol de segunda geração. Dessa maneira, com a realização deste trabalho foi possível auxiliar o Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo no desenvolvimento de híbridos de sorgo biomassa com alto potencial para produção de etanol de segunda geração.

ABSTRACT

SILVA, Michele Jorge da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Incorporation of the *bmr-6* "brown midrib" allele and diallel analysis in elite lines of biomass sorghum with brown midrib.** Adviser: José Eustáquio de Souza Carneiro. Co-Advisers: Cynthia Maria Borges Damasceno, Pedro Crescêncio Souza Carneiro and Rafael Augusto da Costa Parrella.

Biomass sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] is considered a new alternative for the production of bioenergy. In this direction, the main objectives of biomass sorghum breeding programs are to improve the quality and increase the productivity of green biomass. Some mutant genotypes of biomass sorghum, called brown midrib (bmr) - with lower lignin content - are favorable to the pre-treatment stage, and are capable of facilitating the disorganization of the lignocellulosic complex. In addition, another characteristic of interest are genotypes of sorghum biomass with sensitivity to photoperiod. In this context, the objectives of this work were to incorporate the *bmr-6* allele that controls brown midrib expression in elite biomass sorghum lines and to obtain the experimental hybrid "Brown midrib", to estimate the combinatorial capacity of high biomass sorghum when crossed with male-sterile lines and select the best hybrid combinations. In order to proceed to assisted introgression aiming the development of hybrids of sorghum biomass with lower lignin content, three genetic materials belonging to the Embrapa Maize and Sorghum Breeding Program and the total of four male-sterile lines (A) and 10 fertility restorative lines (R), were used to perform the combination capacity study. From the F1 seeds, four experiments were conducted in different crops and environments. As results, it was possible to perform the introgression of the *bmr6* allele and the experimental hybrid "Brown midrib" was obtained. It was estimated the combining ability of biomass sorghum A and R lines, carrying the *bmr-6* allele, evaluating the crop and environments effect, aiming the bioenergetic potential for the production of second generation ethanol. Thus, with the accomplishment of this work, it was possible to assist the Embrapa Maize and Sorghum Breeding Program in the development of hybrids of sorghum biomass with high potential for the production of second generation ethanol.

INTRODUÇÃO GERAL

A escassez de combustíveis fósseis aliada ao crescimento do consumo de energia e à necessidade por fontes renováveis têm estimulado a busca pelo aproveitamento de outros insumos energéticos. Além disso, é grande o interesse por soluções que visam garantir a sustentabilidade das atividades agropecuárias e reduzir a dependência de petróleo como fonte energética. Atualmente, observa-se o crescente incentivo ao uso de fontes de energia mais limpas para o suprimento da demanda energética mundial. Segundo o Ministério de Minas e Energia (MME, 2018), a participação das fontes renováveis na matriz energética brasileira corresponde à cerca de 40% do total ofertado, deste total, a biomassa é responsável por 9%. A biomassa pode ser definida como matéria orgânica de origem vegetal ou animal passível de ser transformada em energia térmica ou elétrica (ANEEL, 2008), e pode ser classificada em dois grandes grupos: (1) biomassa tradicional, composta essencialmente pela lenha e resíduos naturais e (2) biomassa moderna, produzida a partir de processos tecnológicos avançados e eficientes, tais como biocombustíveis líquidos, briquetes e pellets, cogeração (bagaço de cana) e os cultivos dedicados de espécies como o das florestas plantadas e o da cana-de-açúcar (Marafon et al., 2016).

Dentre as fontes de energia renovável, o sorgo biomassa [*Sorghum bicolor* (L.) *Moench*] é considerado ideal como matéria-prima energética, fazendo com que este ocupe uma posição única como fonte de biomassa adaptável, economicamente viável, apto à finalidade tanto para obtenção de produtos tradicionais e avançados, biocombustíveis e tecnologias, bem como para os mercados emergentes, como a energia verde e produção de químicos renováveis (Carrillo et al., 2014). A grande vantagem da cultura reside na altíssima produção de biomassa em curto espaço de tempo, além do manejo da cultura totalmente mecanizável. A propagação por sementes, diferentemente de todas as demais espécies hoje existentes para a produção de biomassa para a queima direta, torna o cultivo do sorgo biomassa em larga escala uma alternativa mais barata que o cultivo extensivo de capim elefante, que, por sua vez, demanda uma enorme quantidade de material propagativo para a implantação de grandes projetos geradores de biomassa para a produção de energia elétrica (Parrella et al., 2010). A tecnologia para produção de etanol lignocelulósico, também denominada tecnologia de segunda geração de biocombustíveis, está em fase de desenvolvimento no mercado bioenergético. Nesse caso, a matéria-prima (biomassa vegetal) precisa passar por hidrólises para tornar os açúcares fermentáveis, com vista à produção de

biocombustível. Entretanto, o principal destino para o sorgo biomassa ainda tem sido a cogeração de energia através da queima da biomassa seca.

Um componente universal dos vegetais, e o segundo polímero mais abundante do planeta é a lignina. A conversão biológica da biomassa em combustíveis é limitada pela quantidade de lignina presente na biomassa de sorgo, portanto, é grande o interesse em aumentar a disponibilidade de energia dessa fonte, sendo que uma das formas mais efetivas de se alcançar esse aumento é por meio da redução ou alteração do seu conteúdo de lignina. A mutação *bmr* é uma das formas de se alterar a qualidade e a quantidade de lignina de forma a favorecer esse processo (Cherney et al., 1991).

A mutação *bmr* foi primeiro observada em 1924 em Saint Paul, Minnesota, Estados Unidos e ocorreu de forma espontânea em uma planta de milho (*Zea mays* L.) (Jorgenson, 1931). Esse autor notou que as plantas mutantes apresentavam menor conteúdo de lignina em relação à seus pares isogênicos convencionais. Uma característica fenotípica causada por essa mutação é a pigmentação de coloração vermelho amarronzada que é particularmente visível na nervura central das folhas e também nos colmos, na medida em que se tornam mais lignificados. A pigmentação está associada à lignina, persistindo no resíduo da parede celular após remoção da celulose e das hemiceluloses (Cherney et al., 1991). Desde então foram realizadas tentativas de se obter plantas mutantes *bmr* de forma artificial no milho e em outras espécies. De acordo com Cherney et al. (1991), quatro *loci* distintos relacionados à mutação *bmr* foram identificados no milho e chamados de *bm1*, *bm2*, *bm3* e *bm4*, sendo o *bm1* referente ao primeiro *locus*, descrito por Jorgenson (1931). Porter et al. (1978) utilizaram tratamento químico com dietil sulfato em sementes de sorgo e produziram 19 fenótipos com a mutação *bmr*. Dentre eles foram selecionados três fenótipos promissores (*bmr-6*, *bmr-12* e *bmr-18*) que posteriormente foram utilizados em cruzamentos com capim sudão, gerando híbridos interespecíficos mutantes logo na primeira geração (Fritz et al., 1981). Em 1985 e 1986, por meio de tratamento químico de sementes com etil-metil sulfonato e dietil sulfato, Cherney et al. (1988) obtiveram uma linhagem de milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) Leeke) mutante *bmr* e, desde então, essa mutação não foi observada em outras espécies (Sattler et al., 2010).

Os principais objetivos dos programas de melhoramento do sorgo biomassa é a melhoria da qualidade e aumento da produtividade de biomassa verde. As cultivares desenvolvidas, além de serem produtivas, também precisam ser estáveis quanto às variações ambientais e responsivas às melhorias no ambiente. Devido à estrutura e aos mecanismos naturais de polinização do sorgo a realização do cruzamento controlado entre dois indivíduos é uma tarefa difícil devido à dificuldade em realizar a emasculação. Porém, a exploração

comercial de híbridos se tornou possível a partir de 1954, com a descoberta do sistema de macho-esterilidade genético-citoplasmática (Stephens & Holland, 1954), que ocorre através da interação entre o gene Kafir e o citoplasma Milo. São necessários três diferentes linhagens para produção de um híbrido de sorgo. A primeira é denominada linhagem A, que possui citoplasma estéril e os alelos restauradores da fertilidade são recessivos, ou seja, é a linhagem macho-estéril. A segunda linhagem, denominada B, é conhecida como mantenedora, essa linhagem possui a mesma constituição genética da linhagem A, porém com citoplasma fértil, ou seja, essa linhagem é usada para a multiplicação da linhagem A. E a terceira linhagem é denominada R, conhecida como restauradora, essa deve ser homozigota dominante para que o gene possa restaurar a fertilidade. A linhagem R não é fenotipicamente similar a linhagem A, e a combinação delas deverá resultar em um híbrido de alto potencial de rendimento.

As estratégias adotadas nos programas do melhoramento dependem da análise genética dos caracteres de interesse, pois as mesmas levam a um melhor conhecimento das relações genéticas das linhagens envolvidas nos cruzamentos. Os cruzamentos dialélicos são úteis para a predição das melhores combinações entre os genitores e de populações segregantes (Valério et al., 2009; Baldissera et al., 2012). A análise dialélica é utilizada para estimar a capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) (Cruz et al., 2012), e a partir destas, estimar os parâmetros genéticos úteis na seleção de genitores para hibridação, como a identificação das ações gênicas do controle dos caracteres, identificando ainda as melhores combinações das linhagens a serem utilizadas como genitor masculino e genitor feminino (Vencovsky, 1987; Bernini e Paterniani, 2012).

Apesar das potencialidades do sorgo biomassa, poucas informações técnico-científicas estão disponíveis sobre a cultura em diversas áreas, incluindo as questões relativas ao manejo e desenvolvimento de cultivares (Albuquerque et al., 2011), sendo este um dos principais entraves para a adoção dos materiais de sorgo bioenergia. Logo, por se tratar de uma cultura em fase de expansão para cogeração energética (Parrella et al., 2014) há necessidade de desenvolvimento de trabalhos de melhoramento genético, visando a melhoria da qualidade e aumento da produtividade de biomassa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albuquerque CJB, Pinho RGV, Rodrigues JAS, Brant RS, Mendes MC. 2011. Espaçamento e densidade de semeadura para cultivares de sorgo granífero no semiárido. *Bragantia* 70, 2: 278-285.

ANEEL. Atlas de Energia Elétrica do Brasil. 3a. Edição. 2008. Disponível em: http://www.aneel.gov.br/documents/656835/14876406/2008_AtlasEnergiaEletricaBrasil3ed/297ceb2e-16b7-514d-5f19-16cef60679fb. Acesso em: 26/01/2019.

Baldissera JNC, Valentini G, Coan MMD, Almeida CB, Guidolin AF, Coimbra JLM. 2012. Capacidade combinatória e efeito recíproco em características agrônômicas do feijão. *Semina: Ciências Agrárias*. 33: 471-480.

Bernini CS, Paterniani MEAGZ. 2012. Estimativas de parâmetros de heterose em híbridos de populações F2 de milho. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 42: 56-62.

Carrillo MA, Staggenborg SA, Pineda JA. 2014. Washing sorghum biomass with water to improve its quality for combustion. *Fuel*. 116: 427-431.

Cherney JH, Cherney DJR, Akin DE, Axtell JD. 1991. Potential of brown midrib, low-lignin mutants for improving forage quality. *Advanced Agronomy*, 46:157-198.

Cherney JH, Axtell JD, Hassen MM. 1988. Forage quality characterization of a chemically induced brown-midrib mutant in pearl millet. *Crop Science*. 28, 5: 783-787.

Cruz CD, Regazzi AJ, Carneiro PCS. 2012. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, Imprensa universitária, v.1.

Fritz JO, Moore KJ, Jaster EH. 1988. In situ digestion kinetics and ruminal turnover rates of normal and brown midrib mutant sorghum x sudangrass hays fed to nonlactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 71, 12: 3345-3351.

Jorgenson LR. 1931. Brown midrib in maize and its linkage relations. *Journal of the American Society of Agronomy*. 23:549-557.

MME - MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Balanço Energético Nacional. Brasília, 2018. 293p.

Marafon AC, Santiago AD, Amaral AFC, Bierhals AN, Paiva HL, Guimarães VS. 2016. Uso da biomassa para a geração de energia. Documentos 211- Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Parrella RAC, Menezes CB, Rodrigues JAS, Tardin FD, Parrella NNLD, Schaffert RE. 2014. Cultivares. In: Borém, A., Pimentel, L. D., Parrella, R. A. C. (ed.). *Sorgo: do plantio à colheita*. Viçosa, MG: UFV. 7: 169-187.

Parrella RAC, Rodrigues JAS, Tardin FD, Damasceno CMB, Schaffert RE. 2010. Desenvolvimento de híbridos de sorgo sensíveis ao fotoperíodo visando alta produtividade de biomassa. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo.

Porter KS, Axtell JD, Lechtenberg VL. and Colenbrander V. 1978. Phenotype, Fiber Composition, and in Vitro Dry Matter Disappearance of Chemically Induced Brown Midrib (*bmr*) Mutants of Sorghum. *Crop Science*. 18: 205-208.

Sattler SE, Funnell-Harris DL, Pedersen JF. 2010. Brown midrib mutations and their importance to the utilization of maize, sorghum, and pearl millet lignocellulosic tissues. *Plant Sci*. 178: 229-238.

Stephens JC, Holland PF. 1954. Cytoplasmic male sterility for hybrid sorghum seed production. *Agron. J*. 46:20-23.

Valério IP, Carvalho FIF de, Oliveira AC de, Souza VQ, Benin G, Schmidt DAM, Ribeiro G, Nornberg R, Luch H. 2009. Combining ability of wheat genotypes in two models of diallel analysis. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 9:100-107.

Vencovsky, R. Herança quantitativa. 1987. In: Paterniani, E.; Viegas, G. P. *Melhoramento e produção do milho*. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill. p. 137-214.

OBJETIVOS

- a) Incorporação do alelo *bmr-6* que controla a expressão nervura marrom em linhagens elites de sorgo biomassa e obtenção dos híbridos experimentais “*Brown midrib*”.
- b) Estimar a capacidade combinatória de linhagens de sorgo biomassa com alto porte quando cruzadas com linhagens macho-estéreis de baixo porte (A e R).
- c) Seleção das melhores combinações híbridas, que vão gerar populações com potencial para o desenvolvimento de novas linhagens melhoradas.

CAPÍTULO I

Introgessão do alelo *bmr6* em linhagens elites de sorgo biomassa para produção de bioenergia

Introgessão do alelo *bmr6* em linhagens elites de sorgo biomassa para produção de bioenergia

RESUMO

O sorgo biomassa é uma cultura que apresenta potencial para produção de bioenergia a partir da biomassa lignocelulósica. A redução do conteúdo de lignina é importante para a conversão da biomassa de sorgo em açúcares simples, o que torna o processo de produção de etanol de segunda geração ou etanol celulósico mais eficiente. O objetivo deste trabalho foi realizar a introgessão do alelo *bmr6* em linhagens elites de sorgo biomassa e a obtenção de híbridos experimentais “*Brown midrib*”, a fim de auxiliar no desenvolvimento de híbridos de sorgo biomassa com menor teor de lignina e, portanto, com grande potencial para produção de etanol de segunda geração. Foram utilizados três materiais genéticos pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo. Dois programas de retrocruzamento foram conduzidos separadamente, no qual a linhagem CMSXS170 foi a doadora do alelo *bmr6* e as linhagens CMSXS652 e IS23777 foram as recorrentes. Através de marcadores moleculares específicos para o alelo *bmr6*, foi empregada a seleção assistida para a característica nervura-marrom nas gerações RC₁F₁ e RC₂F₁. Utilizaram-se marcadores SNPs polimórficos e distribuídos ao longo do genoma do sorgo para acelerar a recuperação do genoma recorrente. Após a confirmação da obtenção dos genótipos *bmr* procedeu-se o cruzamento destes com a linhagem A (fêmea), para que ocorresse a obtenção das sementes híbridas. Como resultados, foi possível realizar a introgessão do alelo *bmr6* em linhagens elites de sorgo biomassa. Os marcadores SNPs foram eficientes na identificação de indivíduos com maior proporção de recuperação do genoma recorrente. Houve a obtenção de híbridos experimentais “*Brown midrib*”, que irão auxiliar o Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo no desenvolvimento de híbridos de sorgo biomassa com alto potencial para produção de etanol de segunda geração.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor* (L.) Moench; lignina; etanol; SNPs; recorrente

Introgression of the *bmr6* allele in biomass sorghum elite lines for bioenergy production

ABSTRACT

Biomass sorghum is a crop that has potential as a biomass source for bioenergy generation. Reduction of lignin content is an important feature in the conversion efficiency of biomass sorghum into simple sugars, which makes the second generation ethanol production process more efficient. The main of this work was to introduce the introgression of the *bmr6* allele in elite lines of biomass sorghum and to obtain experimental hybrid "Brown midrib", in order to assist the development of hybrids of biomass sorghum with lower lignin content and, therefore, with large potential for second generation ethanol production. Three genetic materials belonging to the Embrapa Maize and Sorghum Breeding Program were used. Two backcross programs were conducted separately, in which the CMSXS170 line was the donor of the *bmr6* allele and the CMSXS652 and IS23777 lines were the recurrent ones. Molecular markers specific for the *bmr6* allele, the assisted selection was utilized for the brown midrib characteristic in the RC_1F_1 and RC_2F_1 generations. Polymorphic SNP markers were distributed throughout the genome of sorghum to accelerate the recovery of the recurrent genome. After the confirmation of the *bmr* genotypes, there was crossed with line A (female), in order to obtain the hybrid seeds. As results, it was possible to perform the introgression of the *bmr6* allele in elite lines of biomass sorghum. The SNPs markers were efficient in identifying individuals with a higher rate of recurrence of the recurrent genome. Experimental hybrids "Brown midrib" were obtained, which will help the Embrapa Maize and Sorghum Genetic Breeding Program in the development of hybrids of sorghum biomass with high potential for the production of second generation ethanol.

Keywords: *Sorghum bicolor* (L.) Moench; lignin; ethanol; SNPs; recurrent.

1. INTRODUÇÃO

A biomassa vegetal possui enorme potencial a ser explorado como fonte de geração de energia (Field et al., 2008). O uso crescente deste tipo de matéria viva no setor energético ocorre em função do desenvolvimento de tecnologias eficientes de conversão, principalmente em países industrializados, o que tem favorecido o reconhecimento das vantagens socioambientais do uso da biomassa na geração de energia.

O sorgo biomassa (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma cultura que apresenta grande potencial como fonte de material a ser utilizado para geração de bioenergia. É uma cultura que apresenta alto rendimento de biomassa (50 toneladas de matéria seca por hectare), porte alto, podendo chegar a 5 metros de altura, é mecanizável do plantio à colheita, propagada por sementes e a colheita realizada 5 a 8 meses após o plantio. Possui boa tolerância à seca, sistema de produção agrícola estabelecido, boa aptidão para as regiões tropicais e temperadas e sua biomassa pode ser utilizada na combustão direta (queima em fornos ou caldeiras) para gerar energia (Parrella et al., 2010).

A planta de sorgo é uma espécie autógama (House, 1985), mas a descoberta do sistema de macho-esterilidade genético citoplasmática (Stephens e Holland, 1954) possibilitou o desenvolvimento de sementes híbridas comerciais. Na geração de híbridos de sorgo são necessários três tipos de linhagens, denominadas A, B e R (House, 1985). As linhagens A e B são isogênicas e diferenciam-se apenas pelo citoplasma: a linhagem A possui citoplasma que confere o fenótipo de macho-esterilidade, quando associado aos genes nucleares recessivos para restauração da fertilidade, e a linhagem B possui citoplasma normal e, portanto, a planta apresenta a parte masculina fértil, mesmo com alelos recessivos nucleares para restauração de fertilidade (Smith e Frederiksen, 2000). Logo, o híbrido é obtido a partir do cruzamento entre uma linhagem A (fêmea) macho-estéril, com uma linhagem R (restauradora) que apresenta alelos dominantes para genes de restauração de fertilidade.

A produção de biocombustíveis lignocelulósicos envolve a produção e a coleta de biomassa, despolimerização dos polissacarídeos da parede celular em açúcares simples e fermentáveis, pelos processos de pré-tratamento e sacarificação, e conversão de açúcares simples em biocombustíveis pela fermentação (Li et al., 2010). Porém, uma das etapas mais caras nesse processo de produção de energia é o pré-tratamento, que pode ser químico, físico ou enzimático, e cuja função é reduzir a interação entre os carboidratos da parede celular e a lignina, que se trata de um composto polifenólico heterogêneo, encontrada na parede celular cuja função é de conferir rigidez, impermeabilidade, resistência à ataques microbiológicos e mecânicos (Wang et al. 2015; Bonello et al. 2003; Siegrist et al. 1994). Porém, a presença da

lignina afeta negativamente os processos subsequentes de sacarificação e fermentação (Guragain et al., 2011; Sims et al., 2010; Dauwe et al. 2007).

Alguns genótipos mutantes de sorgo biomassa, denominados *brown midrib (bmr)* ou nervura marrom apresentam menor teor de lignina e são mais favoráveis à etapa de pré-tratamento (Barrière et al., 2007; Saballos et al., 2009). A redução do conteúdo de lignina representa um impacto positivo na conversão da biomassa de sorgo *bmr* em açúcares simples, o que torna o processo de produção de etanol de segunda geração mais eficiente. Portanto, o desenvolvimento de cultivares de sorgo com menor acúmulo de lignina é uma importante estratégia para produção de bioenergia (Corredor et al., 2009; Anderson e Akin 2008).

A mutação *bmr* foi primeiro observada em 1924 em Saint Paul, Minnesota, Estados Unidos e ocorreu de forma espontânea em milho (*Zea mays* L.) (Ali et al. 2010). Em sorgo, a mutação foi provocada a partir da mutagênese química das sementes tratadas com dietil-sulfato (Porter et al., 1978). A partir deste tratamento foi gerado dezenove mutantes *bmr* de ocorrência independente, identificados em progênies segregadas. Dentre os dezenove mutantes, foram selecionados três de melhores características agrônômicas, *bmr6*, *bmr12* e *bmr18* (Bout e Vermerris 2003). O *bmr6* provoca redução da atividade da enzima cinamil álcool desidrogenase (CAD), enquanto que os *bmr12* e *bmr18* diminuem a atividade da enzima cafeato O-metiltransferase (COMT) na síntese de lignina da planta de sorgo (Oliver et al., 2005). Fenotipicamente, a pigmentação de coloração vermelho amarronzada, é visível na nervura central das folhas e também nos colmos, e se trata de uma característica causada por essa mutação à medida que os tecidos tornam-se menos lignificados (Sattler et al., 2010).

A sensibilidade ao fotoperíodo também é uma característica de interesse para o sorgo biomassa. Plantas de sorgo biomassa sensíveis ao fotoperíodo, quando semeadas nos meses de setembro ou outubro em regiões com fotoperíodo maior que 12 horas e 20 minutos, irão iniciar o desenvolvimento da gema floral apenas a partir de 21 de março do ano seguinte, ampliando o ciclo vegetativo e, concomitantemente, possibilitando maior produção de biomassa por hectare/ciclo em comparação a cultivares insensíveis ao fotoperíodo (Rooney; Aydin, 1999; Parrella et al., 2010).

O método do retrocruzamento é utilizado para melhorar genótipos elites, nas características em que são deficientes, por meio do cruzamento com genótipos portadores das características que se deseja introgridir. Para acelerar o processo de retrocruzamento, a seleção assistida por marcadores moleculares é uma estratégia que tem sido amplamente utilizada, consistindo no uso de marcadores para acompanhar a introgressão do loco de interesse. Dessa maneira, os marcadores moleculares apresentam-se como uma ferramenta importante para aumentar a eficiência desse processo, uma vez que também possibilitam a

identificação de indivíduos com maior proporção do genoma recorrente (Bouchez et al., 2002; Hospital, 2001; Berloo, 1999; Openshaw et al., 1994).

No melhoramento genético convencional, os melhoristas usam principalmente o fenótipo como base para a escolha dos genótipos superiores, porém a seleção dos indivíduos através do fenótipo em uma população segregante pode ser um componente crítico dentro dos programas de melhoramento devido principalmente à interação genótipo x ambiente. Além disso, os procedimentos de seleção fenotípica são frequentemente mais trabalhosos, consomem maior tempo, e apresentam um menor ganho de seleção no valor da característica, especialmente para características com herança complexa (Fritsche-Neto et al., 2012). Devido a essas limitações, tornou-se necessário contornar a seleção fenotípica com a utilização de marcadores moleculares que são confiáveis para a seleção indireta de caracteres alvo (Bernardo, 2013). Dessa maneira, ganhos genéticos acelerados podem ser alcançados se a seleção for baseada em marcadores de DNA (Bernardo, 2013; Collins et al., 2008).

A genotipagem molecular dos indivíduos permite a seleção daqueles mais semelhantes ao genótipo recorrente e com melhor conversão na região próxima ao gene introduzido. Dentre as metodologias mais atuais, tem-se a de PCR competitiva alelo específica (KASP, Kompetitive Allele Specific PCR), a qual permite a genotipagem com marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism, Polimorfismos de Nucleotídeo Único), cuja análise apresenta alta especificidade e sensibilidade (Semagn et al., 2014). A tecnologia KASP utiliza dois *primers forward* alelo específicos contendo uma cauda específica para cada um deles, um *primer reverse* comum, e sondas específicas para anelar na sequência complementar à cauda dos *primers*, contendo diferentes fluorófilos (geralmente FAM e HEX). Após a síntese das fitas, são geradas regiões complementares às caudas dos *primers* alelo específicos. As sondas, que normalmente estão ligadas a um quencher, se ligam a estas regiões complementares, possibilitando que emitam fluorescência (LGC Group). Essa tecnologia vem sendo empregada no mapeamento de QTLs (Zaidi et al., 2015; Ladejobi et al., 2018). Desse modo, o número de ciclos de retrocruzamentos necessários para a recuperação do genótipo recorrente é reduzido de forma acentuada, acelerando o desenvolvimento de cultivares melhoradas (Openshaw et al., 1994). Avanços em tecnologias de genotipagem baseadas em marcadores SNPs estão revolucionando os estudos de genômica em plantas e levando ao rápido desenvolvimento de marcadores moleculares relacionados a características de interesse no melhoramento vegetal (Devran et al., 2016; He et al., 2014; Semagn et al., 2014; Deschamps et al., 2012).

Portanto, a aplicação de marcadores moleculares vem ganhando maior importância no melhoramento genético da cultura do sorgo. Vários sistemas de marcadores estão sendo desenvolvidos e utilizados para marcação e mapeamento de genes de efeito principal e

características quantitativas de importância econômica tais como rendimento de grãos, resistência a pragas, doenças, seca, salinidade, frio, quantidade nutricional e composicional, como é o caso da lignina (Hufnagel et al., 2018; Silva et al., 2017; Oliveira et al., 2018; Uttam et al., 2017).

Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi realizar a introgressão do alelo *bmr6* por marcadores moleculares em linhagens elites de sorgo biomassa e a obtenção de híbridos experimentais “nervura marrom”, a fim de auxiliar no desenvolvimento de híbridos de sorgo biomassa com menor teor de lignina e, portanto, com grande potencial para produção de etanol celulósico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais genéticos

Para proceder à introgressão assistida visando o desenvolvimento de híbridos de sorgo biomassa com menor teor de lignina, foram utilizados três materiais genéticos pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo. Foram conduzidos separadamente dois programas de retrocruzamento, no qual a linhagem CMSXS170 foi a doadora do alelo *bmr6*, e se trata de uma linhagem insensível ao fotoperíodo, de baixo porte e do tipo granífero, já as linhagens CMSXS652 e IS23777 foram as recorrentes, pois são materiais elites, com alta produção de biomassa e sensíveis ao fotoperíodo. Devido ao fato das linhagens recorrentes serem sensíveis ao fotoperiodismo, o florescimento somente ocorreu quando o comprimento do dia tornou-se menor que 12 horas e 20 minutos. Para assegurar o florescimento durante o período de verão na latitude de Sete Lagoas, foi utilizado em algumas gerações de plantio tambores de plástico para o controle do fotoperiodismo e indução floral, no interior da casa de vegetação.

2.2 O programa de retrocruzamento

Os cruzamentos entre o parental doador (PD) CMSXS170 e os dois parentais recorrentes (PR), CMSXS652 e IS23777 foram realizados para a obtenção dos híbridos F₁, que foram retrocruzados com o respectivo parental recorrente para obtenção da primeira

geração de retrocruzamento (RC₁F₁). Foi realizado um segundo ciclo de retrocruzamento (RC₂F₁), seguido por um ciclo de autofecundação, obtendo-se a geração RC₂F₂. Foram utilizados marcadores moleculares para identificar os indivíduos heterozigotos e mais semelhantes com o parental recorrente nas gerações RC₁F₁ e RC₂F₁. O esquema a seguir foi utilizado para obter as linhagens R modificadas, ou seja, com a introgressão do alelo *bmr6*.

2.2 1 Esquema de retrocruzamento assistido:

1ª Geração (Jun-Out/2015) Pai recorrente (%)

PR normal (*BmrBmr*) x PD *Brown midrib* (*bmrbmr*)



F₁ (*Bmrbmr*) Normal

50

2ª Geração (Dez-Jul/2016)

F₁ (*Bmrbmr*) normal x PR (*BmrBmr*) Normal



RC₁F₁ (1/2 : *BmrBmr*) Normal

75

(1/2 : *Bmrbmr*) Normal (Seleção marcador CAPS)

3ª Geração (Ago/2016 – Jun/2017)

RC₁F₁ (*Bmrbmr*) x PR (*BmrBmr*)



RC₂F₁ (1/2 : *BmrBmr*) Normal

87,5

(1/2 : *Bmrbmr*) Normal (Seleção marcador CAPS)

4ª Geração (Jul-Nov/2017)

RC₂F₁ (1/2 : *Bmrbmr*)



RC₂F₂ (1/4 : *BmrBmr*) Normal

87,5

(1/2 : *Bmrbmr*) Normal

(1/4 : *bmrbmr*) *Brown midrib* (LR' modificada)

2.3 Isolamento de DNA

Após a obtenção das gerações RC₁F₁ e RC₂F₁ amostras de plantas foram coletadas na casa de vegetação. As sementes de sorgo foram esterilizadas com hipoclorito de sódio a 0,525% por 10 minutos, sob agitação constante. Em seguida as sementes germinaram em placas de petri contendo papel de germinação umedecido em água destilada e armazenadas em câmara de crescimento com temperatura diurna média de 27±3°C, noturna de 20±3°C, e fotoperíodo de 12 horas. Após dois dias, as plântulas obtidas foram transplantadas para bandejas de isopor contendo substrato, em casa de vegetação. Após duas semanas, foram coletados 04 discos de tecidos foliares de 0,5 cm que foram submetidos à liofilização por 48 horas, para logo em seguida serem utilizados para o isolamento do DNA genômico, segundo o método descrito por Saghai-Marooft et al., (1984). Em seguida o DNA foi quantificado por NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) e diluído para a concentração de uso de 30 ng/uL.

2.4 Utilização de marcadores CAPS específico para o loco *bmr* nas gerações de retrocruzamento

Através de marcadores moleculares específicos para o alelo *bmr6*, foi empregada a seleção assistida para a característica nervura-marrom nas gerações RC₁F₁ e RC₂F₁. Após a extração do DNA, foi feita uma reação de PCR, segundo Sattler et al. (2009), com os *primers* específicos para o alelo *bmr6*. Os produtos de amplificação foram então clivados com uma

enzima de restrição específica (*Bsa*AI) para o sítio de mutação *bmr6*. Os fragmentos de DNA amplificados e clivados foram posteriormente separados por eletroforese em gel de agarose e visualizados para identificação do genótipo analisado *Bmr6/Bmr6*; *Bmr6/bmr6*; *bmr6/bmr6*.

2.5 Utilização de marcadores SNPs para acelerar a recuperação das linhagens recorrentes

O DNA extraído de cada planta foi diluído para a concentração de uso de 10 ng/ μ L. Utilizaram-se marcadores SNPs polimórficos e distribuídos ao longo do genoma do sorgo para acelerar a recuperação do genoma recorrente. Para isso, um *screening* com o total de 99 marcadores SNPs do tipo KASP (*Kompetitive Allele-Specific – PCR*, LGC Genomics foi realizado entre as linhagens parentais para identificação dos marcadores polimórficos. Para a linhagem CMSXS652 foram identificados 42 *primers* polimórficos e para a linhagem IS23777 foram identificados 40 *primers* polimórficos. Para a análise dos indivíduos da geração RC₁F₁, foram selecionados 16 marcadores polimórficos entre a linhagem genitora CMSXS652 e 14 marcadores polimórficos entre a linhagem genitora IS23777. Para a geração RC₂F₁, foram selecionados 11 marcadores polimórficos entre a linhagem genitora CMSXS652 e 9 marcadores polimórficos entre a linhagem IS23777. Dessa forma, totalizando 27 marcadores para a linhagem CMSXS652 e 23 para a linhagem IS23777, distribuídos homogeneamente no genoma do sorgo, com uma média de 2,7 e 2,3 marcadores por cromossomo para cada genitor recorrente utilizado. Os marcadores em heterozigose nas plantas da geração RC₁F₁ foram reavaliados nos indivíduos RC₂F₁.

Após a seleção dos marcadores polimórficos em cada geração de retrocruzamento foi realizada a genotipagem entre os genitores e as plantas híbridas, baseando-se no ensaio KASP (*Kompetitive Allele-Specific - PCR*) desenvolvido pela empresa LGC Genomics (LGC Group). A reação de amplificação foi realizada com 3 μ L de Kasp Master Mix, 30 ng de DNA e 0,084 μ L de Kasp Assay Mix contendo os *primers*. Os ciclos de amplificação foram: desnaturação inicial a 94°C durante 15 minutos, seguidos por 10 ciclos a 94°C durante 20 segundos, 61 °C durante 1 minuto reduzindo 0,6 °C por ciclo, seguido de mais 26 ciclos de 94°C durante 20 segundos e 55°C durante 1 minuto. A intensidade da fluorescência das amostras foi quantificada por meio do leitor de microplacas FLUOstar Omega Filter-based multi-mode microplate reader (BMG Labtech, Ortenberg, Alemanha) utilizando ROX na

normalização do sinal. A genotipagem foi realizada utilizando o software KlusterCaller 1.1 (LGC Genomics, Teddington, Inglaterra).

2.6 Análise dos dados moleculares

Para avaliação da segregação genotípica das populações em RC₁F₁ e RC₂F₁ as proporções obtidas foram comparadas com proporções esperadas (1:2:1) pelo teste de qui-quadrado (X^2).

Em seguida, para verificar a proporção de recuperação do genitor recorrente, os dados moleculares foram organizados codificando-se os loci em homozigose para a linhagem recorrente como ‘A’ e os em heterozigose como ‘H’ (Benchimol et al, 2005). Dessa forma, a % de recuperação do genitor recorrente (RR) foi calculada utilizando a seguinte expressão:

$$\%RR = [A + (0,5H) / (A + H)] \times 100$$

2.7 Confirmação do genótipo predito pelo marcador CAPS

Os genótipos heterozigotos (*Bmr6/bmr6*) identificados na geração de RC₂F₁ foram autofecundados para obtenção dos indivíduos RC₂F₂, altamente similares à linhagem original no restante do seu genoma e fixadas para o alelo *bmr6*. Dessa maneira foi possível realizar a confirmação do genótipo observado pela classificação como segregantes (provenientes de uma planta heterozigota *Bmr6bmr6*) e não segregantes (provenientes de uma planta homozigota *Bmr6Bmr6*).

2.8 Multiplicação da linhagem *Brown midrib* e a obtenção dos híbridos experimentais

Após a confirmação da obtenção dos genótipos com nervura marrom (*bmr6/bmr6*), procedeu-se o cruzamento destes com a linhagem A (BR008A *bmr*), para obtenção das sementes híbridas, ou seja materiais com a introgressão do alelo *bmr6*. Foram realizados ensaios para comparação entre híbridos normais e “*Brown midrib*”, com avaliação de diversas características agrônômicas de interesse, como florescimento, altura de plantas, estande final,

diâmetro do colmo, acamamento, produção de massa verde total e produção de massa seca total.

3. RESULTADOS

3.1 Distribuição física e genética dos marcadores

A obtenção das posições físicas e genéticas dos marcadores SNPs disponíveis no genoma do sorgo foi o primeiro passo para a seleção visando à maximização da recuperação do genoma recorrente (Figura 1).

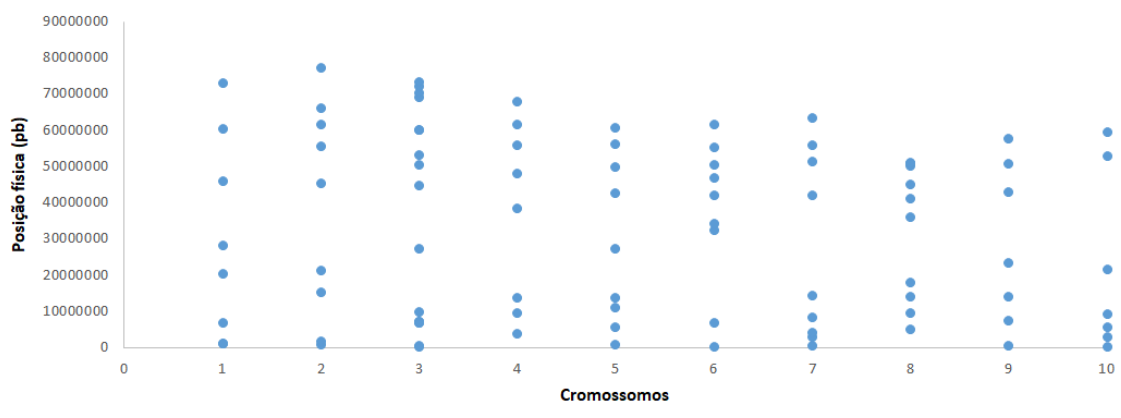


Figura 1. Distribuição física dos marcadores SNPs do tipo KASP utilizados para seleção *background* no genoma do sorgo. As posições foram obtidas por análise de similaridade de sequência (BLAST) dos *primers* SNPs com o genoma do sorgo (<http://www.phytozome.net/sorghum>).

A figura 1 indica uma boa distribuição dos marcadores SNPs ao longo do genoma do sorgo. O monitoramento do genoma recorrente requer um número maior de marcadores aleatórios no genoma, reduzindo o número de ciclos para a recuperação adequada do parental recorrente. Foram então compiladas todas as informações de posições genéticas disponíveis para esses marcadores utilizando-se como base o mapa consenso de sorgo publicado por Mace et al. (2009). As distâncias genéticas para marcadores com informações indisponíveis foram inferidas com base nas distâncias físicas e genéticas de loci vizinhos. Após o *screening* de *primers*, os marcadores polimórficos para cada linhagem foram selecionados de maneira que o genoma do sorgo fosse coberto de maneira uniforme.

3.2 Genotipagem da primeira geração de retrocruzamento

Em relação à primeira geração de retrocruzamento, parte do resultado de genotipagem para o alelo mutante *bmr6* (CMSXS170 retrocruzado com a linhagem recorrente CMSXS652) está ilustrado na Figura 2, no qual 14 das 60 plantas do retrocruzamento RC₁F₁ podem ser visualizados após análise eletroforética em gel de agarose. Na população RC₁F₁ proveniente da linhagem CMSXS652, foram identificadas 30 indivíduos heterozigotas em um total de 60 indivíduos. Já para a linhagem recorrente IS23777 foram identificadas 31 indivíduos heterozigotos na RC₁F₁, também em um total de 60 indivíduos. Cada um dos dois retrocruzamentos apresentou segregação muito próxima do esperado, proporção de 1:1 de plantas dominantes homozigotas (*Bmr6/Bmr6*) para plantas heterozigotas (*Bmr6/bmr6*), não havendo diferença significativa pelo teste de qui-quadrado (X^2) a 5% de significância.

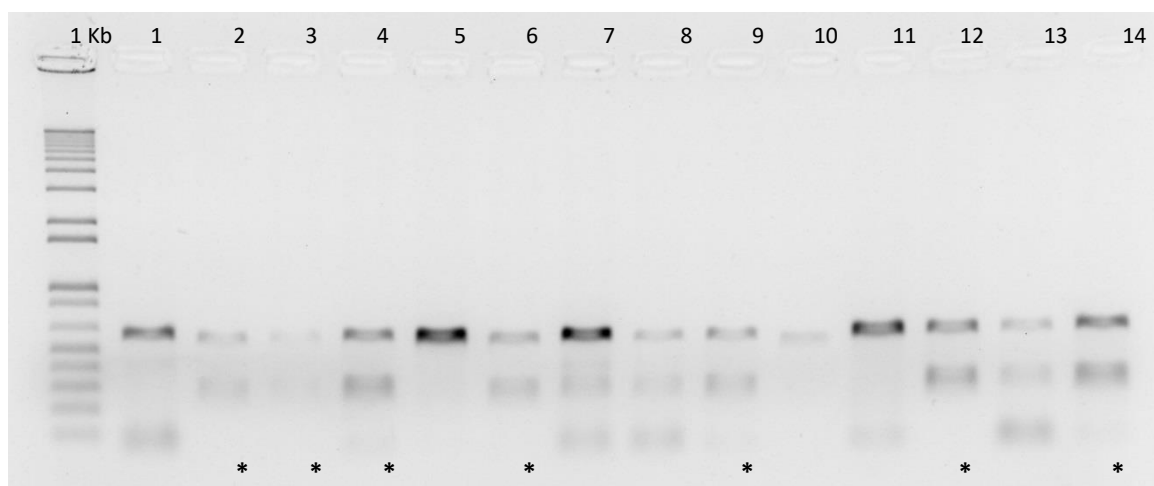


Figura 2. Genotipagem de plantas RC₁F₁, com o marcador CAPS para o alelo *bmr6*. Os fragmentos amplificados por PCR foram clivados com a enzima *Bsa*AI e analisados por eletroforese em gel de agarose (1,2%, TAE 1X). Os *primers* CAPS *bmr6* amplificaram um fragmento de 613 pb do alelo *bmr6*. Após clivagem com *Bsa*AI, apenas o fragmento do alelo mutante *bmr6* resultou em dois fragmentos de 333 e 280 pb, permanecendo o alelo não mutante intacto. Plantas heterozigotas estão identificadas por um asterisco.

3.3 Recuperação do genótipo recorrente na geração RC₁F₁

A genotipagem entre as linhagens parentais e os indivíduos heterozigotos, baseando-se no ensaio KASP (*Kompetitive Allele-Specific - PCR*) foi eficiente para acelerar a recuperação do genoma recorrente. Um exemplo está ilustrado na Figura 3, no qual um dos marcadores

polimórficos (SB_07057) para ambas linhagens recorrentes foi utilizado. Notou-se que foi possível a identificação das classes de indivíduos homocigotos e heterocigotos, permitindo verificar a proporção de recuperação do genitor recorrente (Figura 3).

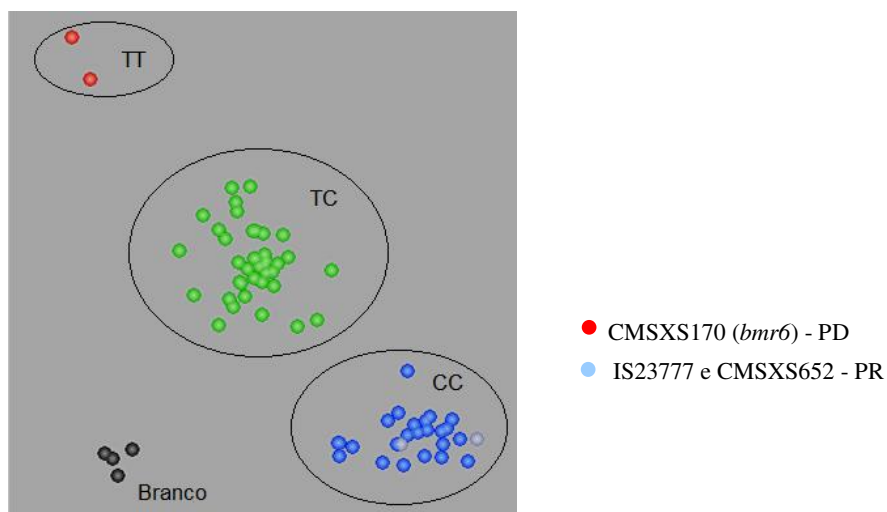


Figura 3. Genotipagem dos indivíduos RC_1F_1 com o marcador KASP (SB_07057). Em azul estão representados os indivíduos homocigotos com alelos C, derivado dos parentais IS23777 e CMSXS652, em verde estão representados os indivíduos heterocigotos com alelos T:C (H); em vermelho está representado o parental CMSXS170 utilizado como controle homocigoto com alelos T (B) e em preto está representado o controle negativo (mix de reação adicionado de água).

A média de recuperação do genoma recorrente (RC_1F_1) referente à linhagem CMSXS652 foi de 75,81% e para a linhagem IS23777 a média de recuperação apresentada foi de 74,20% (Figura 4).

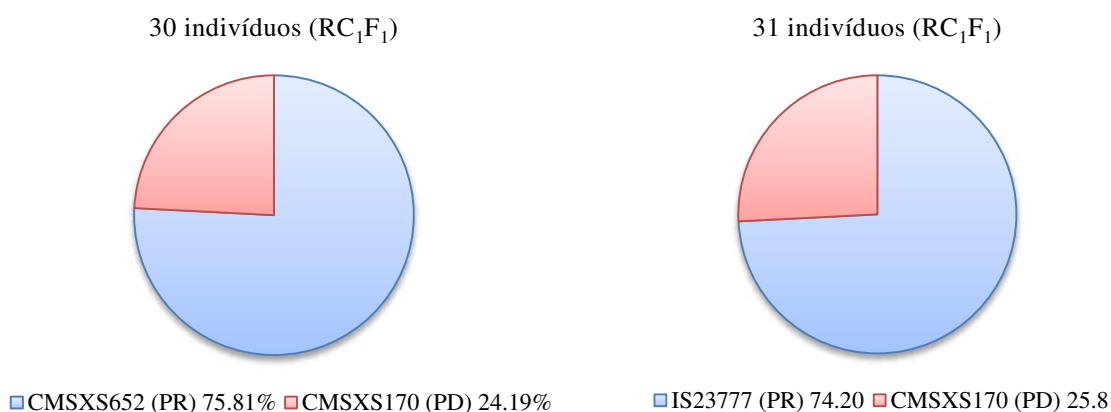


Figura 4. Média de recuperação do genoma recorrente das 30 indivíduos RC_1F_1 (CMSXS652) e das 31 indivíduos RC_1F_1 (IS23777). Em azul está representada a proporção do genoma em homocigose para o genitor recorrente e em cinza a proporção do genoma em heterocigose.

O resultado obtido está em concordância com a média esperada na geração RC₁F₁, que é de 75%. Em termos de recuperação individual máxima do genoma recorrente, a progênie 201632B057 apresentou 86,67% do genoma da linhagem CMSXS652, e a progênie 201632B032 apresentou 84,62% de recuperação do genoma da linhagem IS23777. Esses indivíduos apresentaram um avanço de 9,62% e 11,7% em relação ao cruzamento convencional e portanto, foram selecionadas para o próximo ciclo de retrocruzamento. A recuperação individual do genoma recorrente bem como a recuperação média em RC₁F₁ esta mostrada na Tabela 1. A partir dos indivíduos selecionadas, cuja recuperação foi superior que as demais, foi realizado a segunda geração de retrocruzamento com o respectivo parental recorrente para obtenção da geração RC₂F₁.

Tabela 1. Porcentagem de recuperação do genoma recorrente na geração RC₁F₁ nos 30 indivíduos derivados da linhagem CMSXS652 e nos 31 indivíduos derivados da linhagem IS23777.

Indivíduos (RC ₁ F ₁) derivados da linhagem CMSXS652	Proporção do Genoma Recorrente (%)	Indivíduos (RC ₁ F ₁) derivados da linhagem IS23777	Proporção do Genoma Recorrente (%)
201632B057_P6E*	86,67	201632B032_P11A*	84,62
201632B051_P5B	84,62	201632B001_P1G	82,14
201632B049_P4F	84,38	201632B004_P2G	82,14
201632B059_P6H	84,38	201632B008_P4D	82,14
201632B068_P10F	84,38	201632B023_P8B	82,14
201632B058_P6G	82,14	201632B027_P10C	82,14
201632B066_P10C	82,14	201632B005_P3B	78,57
201632B067_P10D	82,14	201632B013_P5F	78,57
201632B035_P1G	78,13	201632B018_P7E	78,57
201632B041_P2H	76,92	201632B031_P10H	78,57
201632B042_P3B	76,67	201632B034_P11C	78,57
201632B044_P3G	76,67	201632B006_P3D	75,00
201632B050_P5A	76,67	201632B007_P4A	75,00
201632B065_P10A	76,67	201632B017_P7B	75,00
201632B038_P2D	75,00	201632B026_P9G	75,00
201632B043_P3C	75,00	201632B011_P5A	73,08
201632B055_P6B	75,00	201632B012_P5B	73,08
201632B056_P6C	75,00	201632B002_P2A	71,43
201632B039_P2E	73,33	201632B009_P4F	71,43
201632B047_P4C	71,88	201632B014_P5H	71,43
201632B061_P7D	71,88	201632B015_P6B	71,43
201632B040_P2F	71,43	201632B022_P8A	71,43
201632B054_P6A	70,00	201632B025_P8G	71,43
201632B037_P2C	68,75	201632B010_P4G	70,83
201632B045_P4A	68,75	201632B021_P7H	70,83
201632B052_P5C	68,75	201632B029_P10E	69,23
201632B062_P7E	68,75	201632B030_P10G	69,23
201632B046_P4B	66,67	201632B024_P8C	67,86

Continuação Tabela 1.

201632B053_P5G	65,63	201632B020_P7G	64,29
201632B060_P7A	64,29	201632B028_P10D	64,29
-	-	201632B033_P11B	60,71
Média Geral	75,81	Média Geral	74,20

* Indivíduos selecionados em RC₁F₁.

A partir dos indivíduos selecionados, cuja recuperação foi superior que as demais, foi realizado a segunda geração de retrocruzamento com o respectivo parental recorrente para obtenção da geração RC₂F₁.

3.4 Genotipagem da segunda geração de retrocruzamento

Na segunda geração de retrocruzamento foi obtido o total de 60 indivíduos para cada população retrocruzada. Para a população proveniente da linhagem recorrente CMSXS652 foram identificadas 27 indivíduos heterozigotos e em relação à linhagem recorrente IS23777 foram identificadas 26 indivíduos heterozigotos. A segregação também foi próxima do esperado (1:1), conforme ocorreu na geração de retrocruzamento anterior.

3.5 Recuperação do genótipo recorrente na geração RC₂F₁

Em relação à recuperação do genitor recorrente, observou-se a média de recuperação em RC₂F₁ foi de 93,86% (CMSXS652) e de 89,93% (IS23777), conforme figura 5. O resultado obtido foi bastante satisfatório, pois a média esperada neste caso é de 87,5%. A recuperação máxima individual neste ciclo foi de 99,98% para a linhagem CMSXS652 e de 95,45% para a linhagem IS23777.

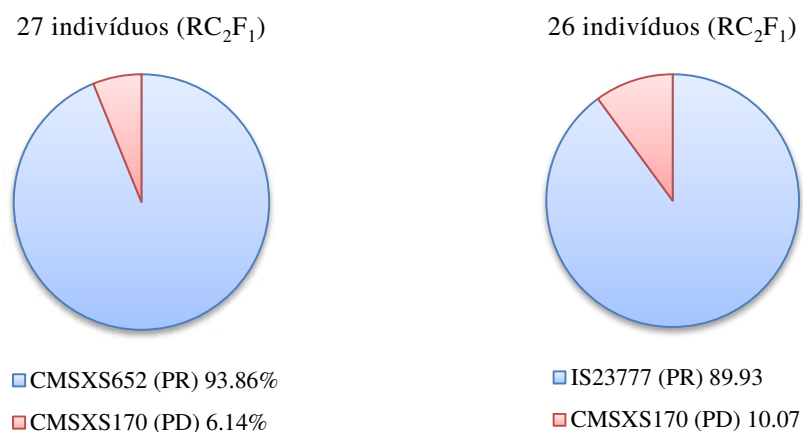


Figura 5. Média de recuperação do genoma recorrente dos 27 indivíduos RC₂F₁ (CMSXS652) e dos 26 indivíduos RC₂F₁ (IS23777). Em azul está representada a proporção do genoma em homocigose para o genitor recorrente e em cinza a proporção do genoma em heterocigose.

A recuperação individual do genoma recorrente bem como a recuperação média em RC₂F₁ está mostrada na Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagem de recuperação do genoma recorrente na geração RC₂F₁ nos 27 indivíduos derivados da linhagem CMSXS652 e nas 26 indivíduos derivados da linhagem IS23777.

Indivíduos (RC ₂ F ₁) derivados da linhagem CMSXS652	Proporção do Genoma Recorrente (%)	Indivíduos (RC ₂ F ₁) derivados da linhagem IS23777	Proporção do Genoma Recorrente (%)
201725B024_P24A*	99.98	201725B005_P5B*	95.45
201725B027_P27A*	99.97	201725B006_P6A*	95.45
201725B023_P23A*	98.15	201725B001_P1A	93.18
201725B027_P27B	98.15	201725B004_P4B	93.18
201725B040_P40B	98.08	201725B007_P7C	93.18
201725B028_P28A	97.92	201725B008_P8A	93.18
201725B021_P21C	96.30	201725B008_P8C	93.18
201725B022_P22C	96.30	201725B014_P14C*	93.18
201725B027_P27C	96.30	201725B003_P3B	90.91
201725B037_P37C	96.15	201725B004_P4C	90.91
201725B028_P28B	93.75	201725B019_P19B	90.91
201725B035_P35B	93.48	201725B011_P11A	90.48
201725B021_P21A	92.59	201725B006_P6C	88.64
201725B023_P23C	92.59	201725B007_P7A	88.64
201725B025_P25A	92.59	201725B009_P9B	88.64
201725B025_P25C	92.59	201725B010_P10A	88.64
201725B026_P26C	92.59	201725B016_P16C	88.64
201725B040_P40C	92.31	201725B018_P18A	88.64
201725B039_P39C	92.00	201725B018_P18C	88.64
201725B038_P38A	91.30	201725B020_P20A	88.64
201725B024_P24C	90.74	201725B020_P20C	88.64
201725B025_P25B	90.74	201725B008_P8B	86.36

Continuação Tabela 2.

201725B029_P29B	90.74	201725B016_P16A	86.36
201725B029_P29C	90.74	201725B016_P16B	86.36
201725B039_P39B	90.38	201725B011_P11B	84.09
201725B030_P30B	88.89	201725B012_P12A	84.09
201725B033_P33A	88.89	-	-
Média Geral	93.86	Média Geral	89.93

* Indivíduos selecionados em RC₂F₁.

Após a identificação dos genótipos heterozigotos (*Bmr6/bmr6*) na geração RC₂F₁, ocorreu a autofecundação destes indivíduos, obtendo-se os indivíduos RC₂F₂. Em seguida, selecionaram-se três indivíduos em RC₂F₂ de cada população das linhagens recorrentes CMSXS652 e IS23777, que apresentaram média de recuperação do genoma recorrente maior que 93,86% e 89,93%, indicando uma superioridade em relação à média geral (Tabela 2).

3.6 Produção de híbridos experimentais “Brown midrib”

Após obtenção das linhagens restauradoras da macho esterilidade com introgressão do alelo *bmr6* (LR' modificada), realizou-se o cruzamento manual com a linhagem fêmea (LA) BR008A *bmr* obtendo-se os híbridos experimentais “*Brown midrib*”, ou seja, os híbridos CMSXS652 *bmr* e IS23777 *bmr*.

4. DISCUSSÃO

De maneira geral, as gramíneas C4, incluindo principalmente o sorgo, representam fontes promissoras de materiais lignocelulósicos renováveis que são adequados para utilização como forragem para alimentação animal e como fonte de matéria-prima para geração de bioenergia (Sarath et al. 2008). Em relação ao teor de lignina, uma característica importante é que o sorgo apresenta naturalmente menores teores de lignina que a cana-de-açúcar, além de já possuir mutantes de lignina que podem apresentar até 50% menos lignina que a cultivar original dependendo do background genético (Barrière et al., 2007; Saballos et al., 2009; Damasceno et al., 2010). No entanto, o baixo rendimento de produção representa o principal obstáculo para a utilização bem sucedida dos materiais lignocelulósicos para a obtenção do etanol de segunda geração. (Abramson et al. 2010; Oliver et al. 2005; Jung e

Allen 1995). Oliver et al. (2005) relataram que ao longo de um estudo de 3 anos, o rendimento médio de linhagens *bmr* foi em média 12% menor quando comparado com as próprias linhagens isogênicas. Zuber et al. (1977) já haviam relatado maior incidência de acamamento e quebra do colmo em plantas *bmr* ao atingirem a fase de maturidade. Porém esses fatores agrícolas negativos associados à mutação *bmr* podem ser aprimorados através do melhoramento genético de plantas (Sattler et al., 2010). Por outro lado, alguns autores demonstram que não observaram diferenças significativas no acamamento entre os mutantes *bmr* e o sorgo convencional, e que essa característica depende fortemente das interações entre o gene *bmr* e o *background* genético do material (Bean et al. 2013). Dessa maneira o Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo está buscando desenvolver materiais de sorgo biomassa que sejam mais produtivos e resistentes ao acamamento, através da seleção de linhagens com maior potencial agrônomo para introgridir a mutação *bmr* que é de grande importância para o desenvolvimento de cultivares com melhor desenvolvimento para a produção do etanol de segunda geração.

A utilização de marcadores moleculares em programas de retrocruzamento tem sido bastante evidenciada. Além de monitorar a introgressão do gene de interesse, a genotipagem molecular dos indivíduos permite a seleção daqueles mais semelhantes ao genótipo recorrente e com melhor conversão na região próxima ao gene introduzido (Duarte et al., 2003). Deste modo, o número de ciclos de retrocruzamentos necessários para a recuperação do genótipo recorrente é reduzido, acelerando o desenvolvimento de variedades melhoradas (Openshaw et al., 1994). A utilização do ensaio KASP em retrocruzamento assistido por marcadores em sorgo e em outras cultivares, visa acelerar o desenvolvimento de linhas quase isogênicas para 3 anos em comparação com 5-6 anos usando o método convencional de retrocruzamento, sendo capaz de melhorar a eficiência geral, tanto no custo quanto na precisão da introgressão (Rosas et al., 2014; Semagn et al., 2013). Neste trabalho, a aplicação do ensaio KASP foi eficiente na identificação de indivíduos com maior proporção de recuperação do genoma recorrente nas gerações iniciais de retrocruzamento, havendo um ganho de até três ciclos, se comparado com aquele esperado no retrocruzamento convencional. E a partir deste resultado foi possível selecionar novos genótipos R de sorgo biomassa contendo o alelo *bmr6*, que foram utilizadas para produção de híbridos experimentais.

O programa de melhoramento de sorgo da Embrapa desenvolve híbridos com alta produção de biomassa e alta qualidade visando a produção de etanol celulósico (Silva et al., 2018). Almeida et al., 2019 trabalharam com seis híbridos de sorgo de biomassa, todos sensíveis ao fotoperíodo. Dentre os materiais utilizados, cinco linhagens são pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo (201556B001,

201556B002, 201556B003, CMSXS7027 e CMSXS7016) dos quais os três primeiros são híbridos bmr experimentais e uma linhagem é comercial (BRS 716). Os genótipos de sorgo foram avaliados quanto ao potencial agrônomico e composição química favorável à produção de etanol de segunda geração. Os autores confirmaram que os híbridos mutantes de sorgo bmr estão associados à redução do teor de lignina, fazendo com que esses genótipos sejam mais promissores para os processos de conversão enzimática da biomassa. Além disso, a biomassa de sorgo apresentou alto potencial em termos de produção de biomassa, com um rendimento médio de matéria seca de 26,57 Mg ha⁻¹, e os híbridos de sorgo com nervura marrom apresentaram teores significativamente mais baixos de lignina que os híbridos convencionais e demonstraram potencial para a produção de etanol celulósico. Parrella et al., 2018, desenvolveram o trabalho de identificar linhagens restauradoras (R) de fertilidade de sorgo biomassa com nervura marrom e tolerantes ao Al, através do cruzamento manual entre a linhagem IS14351 com a linhagem CMS S023R. Foram identificadas duas linhagens de sorgo biomassa, 201820B001 e 201820B003, que possuem tanto o alelo *bmr6*, que confere o fenótipo nervura marrom, quanto o alelo tolerante ao alumínio do gene *SbMATE*.

Outro ponto chave a ser considerado é em relação ao número de marcadores e de indivíduos a serem utilizados nos programas de retrocruzamento assistido. Vários critérios a respeito dessa questão têm sido propostos para definição da melhor amostragem possível do genoma (Guimarães et al., 2009; Morris et al., 2003; Frisch et al., 1999; Openshaw et al., 1994). No entanto, o importante é que a utilização desses marcadores seja otimizada em função dos custos e da sua operacionalização para as condições de rotina do laboratório.

Há alguns anos a alteração do material genético, ou mutação têm sido amplamente utilizadas em programas de melhoramento genético de sorgo em todo o mundo. Um exemplo clássico dessa aplicação foi realizado nos Estados Unidos na década de 1960, quando as características nanismo - *Dw3dw3* e *Dw4dw4* (Quinby, 1974) e insensibilidade ao fotoperíodo - *Ma5Ma5ma6ma6* e *ma5ma5Ma6Ma6* (Rooney; Aydin, 1999) foram incorporadas no germoplasma exótico de sorgo através de uma série de retrocruzamentos usando o melhoramento convencional. Dessa forma, atualmente a maior parte do sorgo cultivado nos EUA é de porte baixo e insensível ao fotoperíodo, com exceção do sorgo utilizado para a produção de bioenergia.

Scully et al., 2016 identificaram e caracterizaram nove novos alelos em linhagens de sorgo pertencentes à população BTX623, através do processo de mutação induzida com etilmetanossulfonato (EMS). Os autores concluíram que estes novos alelos *bmr* são alélicos para o previamente caracterizado alelo *bmr6*. Foi visualmente identificado o menor teor de lignina pela presença da nervura central marrom e todas as linhagens foram testadas para a

capacidade de reduzir os níveis de atividade da enzima CAD e de aumentar o teor de glicose produzido após a sacarificação. Além disso, algumas dessas linhagens foram associadas a maiores reduções de lignina em detergente ácido em comparação com linhagens que abrigam o alelo *bmr6*. As novas linhagens *bmr6* desenvolvidas representam novas ferramentas para manipular a composição de biomassa e melhorar a qualidade da matéria-prima para produção de energia.

Gorthy et al., 2017 realizaram um trabalho de introgressão de três QTLs associados à resistência genética contra a mosca (*Atherigona soccata* L. Moench), através do retrocruzamento assistido em duas cultivares elite de sorgo. Os autores concluíram que o desenvolvimento de linhagens utilizando retrocruzamento assistido com marcadores SSR foi comparativamente mais rápido do que o melhoramento convencional. A recuperação do pai recorrente genoma foi próximo de 90%. Ouedraogo et al., 2017 também utilizaram o retrocruzamento assistido com a utilização de marcadores SSRs para introgridir QTLs relacionados à característica “*stay-green*” em cultivares elites de sorgo. Os autores encontraram duas linhagens com alto nível de recuperação do genoma recorrente e propuseram que essas linhagens são promissoras para desenvolvimento de cultivares tolerantes à seca, que serão capazes de garantir a melhor produção da cultura em regiões semi-áridas do oeste da África. Além disso, cultivares de sorgo com maior digestibilidade na alimentação animal foram desenvolvidas no Japão por introgressão dos genes *bmr*. Variedades Hazuki (lançado em 2002), Akidachi (lançado em 2004), Kazetaka (lançado em 2009) e Suzukaze (lançado em 2009) foram desenvolvidos pelo introgressão do alelo *bmr18* (Tsuruta et al., 2015).

Souza et al., 2018, desenvolveram um trabalho semelhante de caracterização de genótipos de milho quanto à resistência a virose mosaico-comum causada pelo SCMV e de introgressão da resistência em linhagens-elites suscetíveis empregando RCs assistidos por marcadores moleculares, encontraram resultados satisfatórios e promissores. Os ciclos de retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares, seguidos de inoculações artificiais e seleções fenotípicas para resistência ao mosaico-comum, permitiram o uso de linhagens-elites de mesmo grupo heterótico, como fonte de resistência ao mosaico-comum para as linhagens recorrentes. Os retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares aceleraram o processo em relação aos ganhos em tempo e eficiência na identificação dos indivíduos com maior percentagem de recuperação do parental recorrente.

5. CONCLUSÃO

Foi possível realizar a introgressão do alelo *bmr6* em linhagens elites de sorgo biomassa utilizando-se um marcador alelo-específico do tipo CAPS. A genotipagem com SNPs do tipo KASP foi eficiente para identificação de indivíduos com maior proporção de recuperação do genoma recorrente nas gerações iniciais de retrocruzamento, havendo um ganho de até três ciclos, se comparado com aquele esperado no retrocruzamento convencional.

Com a obtenção mas rápida e eficiente de híbridos experimentais “*Brown midrib*”, será possível auxiliar o Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo no desenvolvimento de híbridos de sorgo biomassa com alto potencial para produção de etanol de segunda geração.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abramson M, Shoseyov O, Shani Z. 2010. Plant cell wall reconstruction toward improved lignocellulosic production and processability. *Plant Science*. 178:61-72.

Ali F, Scott P, Bakht J, Chen Y, Lübberstedt T. 2010. Identification of novel *brown midrib* genes in maize by tests of allelism. *Plant Breeding*. 129:724-726.

Almeida Luciana Gomes Fonseca de, Parrella Rafael Augusto da Costa, Simeone Maria Lúcia Ferreira, Ribeiro Pedro César de Oliveira, dos Santos Alexandre Soares, da Costa Alexandre Sylvio Vieira, Guimarães Amanda Gonçalves, Schaffert Robert Eugene. 2019. Composition and growth of sorghum biomass genotypes for ethanol production. *Biomass & Bioenergy*. 122: 343-348.

Anderson WF, Akin DE. 2008. Structural and chemical properties of grass lignocelluloses related to conversion for biofuels. *J. Ind. Microb. Biotechnol.* 35:355-366.

Barrière Y, Riboulet C, Méchin V, Maltese S, Pichon M, Cardinal AJ, Lapierre C, Lübberstedt T, Martinant JP. 2007. Genetics and genomics of lignification in grass cell walls based on maize as a model system. *Genes, Genomes and Genomics*. 1, 3:133-156.

Bean BW, Baumhardt RL, McCollum FT. e McCuistion KC. 2013. Comparison of sorghum classes for grain and forage yield and forage nutritive value. *Field Crops Res*. 142: 20-26.

Benchimol LL, Souza Jr. CL e Souza AP. 2005. Microsatellite-assisted backcross selection in maize. *Genetics and Molecular Biology*. 28:789-797.

Berloo RV e Stam P. 1999. Comparison between marker-assisted selection and phenotypic selection in a set of *Arabidopsis thaliana* recombinant inbred lines. *Theoretical and applied genetics*. 98:113-118.

Bernardo AN, RL Bowden, MN Rouse, MS Newcomb, DS Marshall, e G Bai. 2013. Validation of molecular markers for new stem rust resistance genes in U.S. hard winter wheat. *Crop Sci*. 2013, 53:755-764.

Bonello P, Storer AJ, Gordon TR, Wood DL, Heller W. Systemic effects of *Heterobasidion annosum* on ferulic acid glucoside and lignin of presymptomatic ponderosa pine phloem, and potential effects on bark-beetle-associated fungi. *J. Chem. Ecol.* 2003, 29:1167-1182.

Bouchez A, Hospital F, Causse M, Gallais A e Charcosset A. 2002. Marker-assisted introgression of favorable alleles at quantitative trait loci between maize elite lines. *Genetics*. 162: 1945-1959.

Bout S e W Vermerris. 2003. A candidate-gene approach to clone the sorghum Brown midrib gene encoding caffeic acid O-methyltransferase. *Mol. Genet. Genomics*. 269:205-214.

Collins NC, Tardieu F, Tuberosa R. 2008. Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: where do we stand? *Plant Physiology*. 147:469-486.

- Corredor, DY, Salazar JM, Hohn KL, Bean S, Bean B and Wang D. 2009. Evaluation and characterization of forage sorghum as feedstock for fermentable sugar production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 158:164-179.
- Damasceno CMB, Sousa SM de, Noda RW, Parrella RA da C, Schaffert RE, Magalhaes JV de. 2010. A importância da lignina para a produção de etanol de segunda geração. *Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Documentos*, 108, 35 p.
- Devran Z, Goknur A, Mesci L. 2016. Development of molecular markers for the Mi-1Gene in tomato using the KASP genotyping assay. *Hortic Environ Biotechnol.* 57:156-60.
- Dauwe R, Morreel K, Goeminne G, Gielen B, Rohde A, VanBeeumen J, Ralph J, BoudAM, Kopka J, Rochange SF. 2007. Molecular phenotyping of lignin-modified tobacco reveals associated changes in cell-wall metabolism, primary metabolism, stress metabolism and photorespiration. *Plant J.* 52:263-285.
- Deschamps S, Llaca V, May GD. 2012. Genotyping-by-sequencing in plants. *Biology.* 1:460-83.
- Field CB, Campbell JE, Lobell DB. 2008. Biomass energy: the scale of the potential resource. *Trends in ecology & evolution.* 23:65-72.
- Frisch M, Bohn M and Melchinger AE. 1999. Minimum sample size and optimum positioning of flanking markers in marker-assisted backcrossing for transfer of a target gene. *Crop Sci.* 39:967-975.
- Fritsche-Neto R, Resende MDV, Miranda GV, DoVale JC. 2012. Seleção genômica ampla e novos métodos de melhoramento do milho. *Rev. Ceres.* 59(6): 794-802.
- Gorthy S, Narasu L, Gaddameedi A, Sharma HC, Kotla A, Deshpande SP, & Are AK. 2017. Introgression of Shoot Fly (*Atherigona soccata* L. Moench) resistance QTLs into elite post-rainy season sorghum varieties using marker assisted backcrossing (MABC). *Frontiers in plant Science.* 8, 1494.
- Guimarães CT, Magalhães, JV de, Lanza MA, Schuster, I. 2009. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. *Informe Agropecuário, Belo Horizonte.* 30, 253.
- Guragain YN, Coninck JD, Husson F, Durand A, Rakshit SK. 2011. Comparison of some new pretreatment methods for second generation bioethanol production from wheat straw and water hyacinth. *Bioresour Technol.* 102:4416-4424.
- He J, Zhao X, Laroche A, Lu Z, Liu H, Li Z. 2014. Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Front Plant Sci.* 5, 484.
- Hospital F. 2001. Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. *Genetics.* 158 (3):1363-1379.
- House LR. 1985. A guide to sorghum breeding. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 2 ed. Patancheru. Andhra Pradesh, India. 206 p.

- Hufnagel B, Guimaraes CT, Craft EJ, Shaff JE, Schaffert RE, Kochian LV, Magalhães JV. 2018. Exploiting sorghum genetic diversity for enhanced aluminum tolerance: Allele mining based on the *AltsB* locus. *Nature*. 8:10094.
- Jung HG, Allen MS. 1995. Characteristics of plant cell wall affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73:2774-2790.
- Ladejobi O, Salaudeen MT, Kumar PL, Menkir A, Adesoye A, Atiri G, Gedil M. 2018. Mapping of QTLs associated with recovery resistance to streak virus disease in maize. *Annals of Agricultural Sciences*. 63: 115-121.
- Li X, Kim TH, Nghiem NP. 2010. Bioethanol production from corn stover using aqueous ammonia pretreatment and two-phase simultaneous saccharification and fermentation (TPSSF). *Bioresource Technology*.p. 5910-5916.
- Mace ES, Rami JF, Bouchet S, Klein PE, Klein RR, Kilian A, Wenzl P, Xia L, Halloran K, Jordan DR. 2009. A consensus genetic map of sorghum that integrates multiple component maps and high-throughput Diversity Array Technology (DArT) markers. *BMC Plant Biol.* 9:13.
- Morris M, Dreher K, Ribaut JM e Khairallah M. 2003. Money matters (II): Costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and marker-assisted selection. *Molecular Breed.* 11:235-247.
- Oliveira AA de, Pastina MM, Souza VF de, Parrella RA da C, Noda RW, Simeone MLF, Schaffert RE, Magalhães JV de, Damasceno CMB, Margarido GRA. 2018. Genomic prediction applied to high-biomass sorghum for bioenergy production. *Mol. Breeding* 38:49.
- Oliver AL, JF Pedersen, RJ Grant e TJ. Klopfenstein. 2005. Comparative effects of the sorghum *bmr6* and *bmr12* genes: I. Forage sorghum yield and quality. *Crop Sci.* 45:2234-2239.
- Openshaw SJ, Jarboe SG, Beavis WD. 1994. Marker assisted selection in backcross breeding. In: *Symposium Analysis of Molecular Marker Data*, Corvallis, Oregon. Proceedings. Corvallis: American Society for Horticultural Science/ Crop Science of America. 41-43.
- Ouedraogo N, Sanou J, Gracen V e Tongoona P. 2017. Incorporation of stay-green Quantitative Trait Loci (QTL) in elite sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) variety through marker-assisted selection at early generation. *J. Appl. Biosci.* 111:10867-10876.
- Parrella RAC, Rodrigues JAS, Tardin FD, Damasceno CMB, Schaffert RE. 2010. Desenvolvimento de híbridos de sorgo sensíveis ao fotoperíodo visando alta produtividade de biomassa. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo.
- Porter KS, Axtell JD, Lechtenberg VL. e Colenbrander V. 1978. Phenotype, Fiber Composition, and in Vitro Dry Matter Disappearance of Chemically Induced Brown Midrib (*bmr*) Mutants of Sorghum. *Crop Science*. 18:205-208.
- Quinby JR. 1974. Sorghum improvement and the genetics of growth. College Station: Texas A&M University.

- Rooney, WL, Aydin S. 1999. Genetic control of a photoperiod-sensitive response in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Crop Science*, Madison. 39:397-400.
- Saballos A, Ejeta G, Sanchez E, Kang C, Vermerris W. 2009. A genomewide analysis of the cinnamyl alcohol dehydrogenase family in Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] identifies SbCAD2 as the *Brown midrib 6* gene. *Genetics*. 181:783-795.
- Saghai-Marouf MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci*. 81:8014-8019.
- Sarath G, Mitchell RB, Sattler SE, Funnell D, Pederson JF, Graybosch RA e Vogel KP. 2008. Opportunities and roadblocks in utilizing forages and small grains for liquid fuels. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*. 35:343-354.
- Sattler SE, DL Funnell-Harris, e JF Pedersen. 2010. Efficacy of singular and stacked brown midrib 6 and 12 in the modification of lignocellulose and grain chemistry. *J. Agric. Food Chem*. 58:3611-3616.
- Sattler SE, Saathoff AJ, Haas EJ, Palmer NA, Funnell-Harris DL, Sarath G e Pedersen JF. 2009. A nonsense mutation in a cinnamyl alcohol dehydrogenase gene is responsible for the sorghum *brown midrib 6* phenotype. *Plant Physiol*. 150:584-595.
- Scully ED, Gries T, Funnell-Harris DL, Xin Z, Kovacs FA, Vermerris W. 2016. Characterization of novel Brown midrib 6 mutations affecting lignin biosynthesis in sorghum. *J. Integr. Plant Biol*. 58:136-149.
- Semagn K, Babu R, Hearne S, Olsen M. 2014. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): Over view of the technology and its application in crop improvement. *Mol Breed*. 33:1-14.
- Siegrist J, Jeblick W, Kauss H. 1994. Defense responses in infected and elicited cucumber (*Cucumis sativus* L.) hypocotyl segments exhibiting acquired resistance. *Plant Physiol*. 105:1365-1374.
- Silva MJ, Pastina MM, Souza VF de, Scaffert RE, Carneiro PCS, Noda RW, Carneiro JE de S, Damasceno CMB, Parrella RA da C. 2017. Phenotypic and molecular characterization of sweet sorghum accessions for bioenergy production. *PLoS ONE* 12(8): e0183504.
- Sims REH, Mabee W, Saddler JN, Taylor, M. 2010. An overview of second generation biofuel technologies. *Bioresource Technol*. 101(6):1570-1580.
- Smith CW, Frederiksen RA. 2000. Sorghum: origin, history, technology, and production. *Wile Series in Crop Science*, Series Editor Texas A & M University. 824p.
- Stephens JC, Holland PF. 1954. Cytoplasmic male sterility for hybrid sorghum seed production. *Agron. J*. 46:20-23.
- Souza IRP de, Pinto M de O, Paula ALSP de, Guimarães PE de O, Moreira LJ, Roberto dos Santos Trindade. 2018. Seleção e Introgessão da Resistência ao Mosaico-Comum em Milho via Retrocruzamento Assistido por Marcadores Moleculares. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 174.

Tsuruta S, Shimoda S, Kouki K e Ebina M. 2015. The Present Status of C4 Tropical Grasses Breeding and Molecular Approaches. Japan Agricultural Research Quarterly. 49:203-215.

Uttam GA, Praveen M, Rao YV, Tonapi VA, Madhusudhana R. 2017. Molecular mapping and candidate gene analysis of a new epicuticular wax locus in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). Theor Appl Genet. 130:2109.

Wang W, Zhu Y, Du J, Yang Y, Jin Y. 2015. Influence of lignin addition on the enzymatic digestibility of pretreated lignocellulosic biomasses. Bioresour. Technol. 181:7-12.

Zaidi PH, Rashid Z, Vinayan MT, Almeida GD, Phagna RK, Babu R. 2015. QTL Mapping of agronomic waterlogging tolerance using recombinant inbred lines derived from tropical maize (*Zea mays* L) germplasm Plos One, v. 10, n. 4, e0124350.

Zuber MS, Colbert TR. e Bauman LF. 1977. Effect of brown-midrib-3 mutant in maize (*Zea mays* L.) on stalk strength. Z. Pflanzenzuchtg. 79:310-314.

CAPÍTULO II

Efeito de safra e local na análise dialéctica em linhagens de sorgo biomassa com nervura marrom para geração de bioenergia

Efeito de safra e local na capacidade combinatória de linhagens de sorgo biomassa com nervura marrom para geração de bioenergia

RESUMO

O sorgo biomassa [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] possui potencial para geração de bioenergia, tanto para a obtenção do etanol de segunda geração, quanto para a co-geração de energia por meio da combustão da massa vegetal seca. O etanol lignocelulósico é produzido a partir da hidrólise ou quebra da biomassa em açúcares simples, os quais podem ser utilizados para produção de etanol a partir da fermentação. Alguns genótipos mutantes de sorgo biomassa, denominados *brown midrib (bmr)* - com menor teor de lignina - são favoráveis à produção de bioenergia. O objetivo deste trabalho foi estimar a capacidade de combinação de linhagens A e R de sorgo biomassa, portadoras do alelo *bmr-6*, avaliando o efeito de safra e local, visando o potencial bioenergético para a produção de etanol de segunda geração. Para a realização deste trabalho foram utilizados o total de quatro linhagens macho-estéreis (A) e 10 linhagens restauradoras de fertilidade (R). A partir da obtenção das sementes F₁'s, foram conduzidos quatro experimentos em diferentes safras e locais. Os dados foram submetidos à análise dialélica individual de acordo com o modelo 4 proposto por Griffing (1956), adaptados para cruzamentos dialélicos parciais por Geraldi e Miranda Filho (1988). Para auxiliar na seleção dos híbridos que reúnam simultaneamente caracteres favoráveis entre as safras e locais, foi utilizado o Índice de Seleção FAI-BLUP. Foram identificadas linhagens promissoras para melhorarem os grupos A e R, visando a obtenção de novas linhagens melhoradas para a obtenção de híbridos superiores para a produção de etanol de segunda geração. O uso da análise dialélica parcial é promissor para o programa de melhoramento de sorgo biomassa para a produção de etanol de segunda geração. Há existência de variabilidade genética tanto entre as linhagens A quanto R que pode ser explorada através da piramidação de seus alelos favoráveis; cruzamentos múltiplos devem ser realizados visando reunir os alelos favoráveis para os caracteres avaliados em novas linhagens macho-estéreis e restauradoras de fertilidade. Os híbridos H₁₋₅, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₃₋₂ e H₃₋₈ se destacaram entre os quatro experimentos avaliados, observando-se o efeito de safra e local.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor* (L.) Moench; Híbridos; *bmr6*; dialélico parcial; piramidação

Effect of harvests and environments on combinatory capacity in biomass sorghum lines with brown midrib for bioenergy generation

ABSTRACT

Biomass sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] has potential for bioenergy generation, both for the production of second-generation ethanol and for the co-generation of energy by dry biomass combustion. Lignocellulosic ethanol is produced from the hydrolysis or breaking of the biomass into simple sugars, which can be used to produce ethanol from the fermentation. Some mutant genotypes of biomass sorghum, brown midrib (*bmr*) - with lower lignin content - are favorable to the production of bioenergy. The objective of this work was to estimate the combining capacity of A and R lines of sorghum biomass, carrying *bmr-6* allele, evaluating the effect of harvests and environments, aiming to production of second generation ethanol. Four male-sterile lines (A), and 10 fertility restorative lines (R) were used, obtaining 40 hybrids *bmr* and sensitive to the photoperiod. From the F₁ seeds, four experiments were conducted in different harvests and environments. The data were submitted to individual diallel analysis according to IV model proposed by Griffing (1956), adapted for partial diallel design by Geraldi and Miranda Filho (1988). For the selection of hybrids that simultaneously meet favorable characteristics between harvests and environments, the FAI-BLUP selection Index was used. Promising lines were identified to breeding lines groups A and R, aiming to obtain new lines breeding to obtain superior hybrids for the production of second generation ethanol. The use of partial diallel analysis is promising for the biomass sorghum breeding program for the production of second generation ethanol. There is genetic variability between the A and R lines that can be explored through the pyramiding of their favorable alleles; multiple crosses should be performed to bring together the favorable alleles for the traits evaluated in new male-sterile and fertility-restoring lines; Hybrids H₁₋₅, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₃₋₂ e H₃₋₈ stood out among the four experiments evaluated, observing the harvests and environments effects.

Keywords: *Sorghum bicolor* (L.) Moench; Hybrids; *bmr6*; Partial diallel; Pyramiding.

1. INTRODUÇÃO

O interesse por culturas destinadas à produção de biocombustíveis tem se expandido, apontando a biomassa lignocelulósica como uma das alternativas mais promissoras e ambientalmente sustentáveis para a substituição dos combustíveis fósseis. Entre as culturas anuais, o sorgo biomassa [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é considerado matéria-prima de grande potencial para geração de bioenergia (Rooney et al., 2007) tanto para a obtenção do etanol de segunda geração (etanol lignocelulósico) (Amaducci et al., 2000; Davila-Gomez et al., 2011) quanto para a co-geração de energia por meio da combustão da massa vegetal (Bennett e Anex, 2009; Zegada-Lizarazu e Monti, 2012). O sorgo biomassa possui vantagens como, rápido crescimento, alto potencial produtivo, relativamente tolerante à seca e ao calor, totalmente mecanizável, propagação através de sementes e grande diversidade genética (Rooney et al., 2007; Venuto e Kindiger, 2008; Murray et al., 2008).

O etanol lignocelulósico é produzido a partir da hidrólise ou quebra da biomassa em açúcares simples, os quais podem ser utilizados para produção de etanol a partir da fermentação (Damasceno et al., 2012). Uma das etapas do processo é o pré-tratamento, capaz de desorganizar o complexo lignocelulósico, reduzindo o teor de lignina para que ocorra a conversão dos polissacarídeos em açúcares fermentáveis. Alguns genótipos mutantes de sorgo biomassa, denominados *brown midrib (bmr)* - com menor teor de lignina - são favoráveis à etapa de pré-tratamento (Barrière et al., 2007; Dien et al., 2009; Saballos et al., 2009; Sattler et al., 2010). Estes mutantes apresentam pigmentos amarronzados na nervura foliar central e no colmo, bem como maior digestibilidade animal (Sattler et al., 2010).

Os primeiros mutantes *bmr* foram identificados em milho por mutações recessivas espontâneas e, no caso do sorgo, esses mutantes foram induzidos por mutagênese em sementes tratadas com dietil sulfato (Porter et al., 1978). Foram gerados 19 mutantes *bmr* e a partir destes foram selecionados três de maiores potenciais agronômicos (*bmr-6*, *bmr-12* e *bmr-18*). Diversos trabalhos têm demonstrado que os genes responsáveis pela mutação *bmr* atuam reduzindo a atividade de enzimas que participam do processo de biossíntese das ligninas (Halpin et al., 1998; Provan et al., 1997; Sattler et al., 2009). O alelo *bmr-6* provoca redução da atividade da enzima cinamil álcool desidrogenase (CAD), enquanto *bmr-12* e *bmr-18* diminuem a atividade da enzima O-metiltransferase (OMT) na síntese de lignina da planta de sorgo (Oliver et al., 2005; Saballos et al., 2009; Sattler et al., 2009). Godin et al. (2016), ao comparar mutantes *bmr* portadores dos alelos *bmr-6* e *bmr-12* com linhagens não mutantes de sorgo biomassa, concluíram que o rendimento na conversão da celulose em açúcares fermentáveis foi maior para os genótipos mutantes, demonstrando que a redução do conteúdo

de lignina apresenta impacto positivo na eficiência de conversão da biomassa em açúcares simples.

Além da introgressão do alelo *bmr-6*, outra característica de interesse são genótipos de sorgo biomassa com sensibilidade ao fotoperíodo. Plantas de sorgo biomassa, sensíveis ao fotoperíodo, semeadas nos meses de setembro ou outubro em regiões com fotoperíodo maior que 12 horas e 20 minutos, apenas irão iniciar o desenvolvimento da gema floral a partir de 21 de março do ano seguinte, ampliando o ciclo vegetativo e, concomitantemente, possibilitando maior produção de biomassa por hectare/ciclo em comparação a cultivares insensíveis ao fotoperíodo. O controle da indução de floração em sorgo está associado ao efeito de dois alelos em seis genes: *Ma₁,ma₁*; *Ma₂,ma₂*; *Ma₃,ma₃*; *Ma₄,ma₄*; *Ma₅,ma₅*; e *Ma₆,ma₆* (Rooney e Aydin, 1999; Mullet et al., 2010; Olson et al., 2012). Os genes *Ma₁*, *Ma₅* e *Ma₆* são fortemente responsáveis pela sensibilidade ao fotoperiodismo (Rooney e Aydin, 1999). Os genótipos *Ma₅Ma₅ma₆ma₆*; *ma₅ma₅Ma₆Ma₆* são insensíveis ao fotoperíodo e florescem entre 60 e 70 dias após germinação, independente do comprimento do dia. Os híbridos derivados de cruzamentos entre linhagens com estes genótipos são sensíveis (*Ma₅ma₅Ma₆ma₆*) ao fotoperíodo e têm indução floral somente em períodos em que os dias apresentam menos de 12 horas e 20 minutos de luz. Contudo, Quinby e Schertz (1970) relatam que genótipos com constituição genética *Ma₁__* são sensíveis ao fotoperíodo, independentemente dos demais genes. E ainda, genótipos com constituição genética *ma₁ma₁* são insensíveis ao fotoperíodo. Dessa forma, genótipos com alta produção de biomassa e menores teores de lignina, se destacam para a produção do etanol lignocelulósico.

A planta de sorgo é uma espécie autógama (House, 1985), mas a descoberta do sistema de macho-esterilidade genético citoplasmática (Stephens e Holland, 1954) possibilitou o desenvolvimento de sementes híbridas comerciais. Na geração de híbridos de sorgo são necessários três tipos de linhagens, denominadas A, B e R (House, 1985). As linhagens A e B são isogênicas e diferenciam-se apenas pelo citoplasma: a linhagem A possui citoplasma que confere o fenótipo de macho-esterilidade, quando associado aos genes nucleares recessivos para restauração da fertilidade, e a linhagem B possui citoplasma normal e, portanto, a planta apresenta a parte masculina fértil, mesmo com alelos recessivos nucleares para restauração de fertilidade (Smith e Frederiksen, 2000). Logo, o híbrido é obtido a partir do cruzamento entre uma linhagem A (fêmea) macho-estéril, com uma linhagem R (restauradora) que apresenta alelos dominantes para o gene de restauração de fertilidade. Assim, linhagens A portadoras de genes *bmr* e de porte reduzido cruzadas com linhagens R de elevado porte e de ciclo tardio potencializam a obtenção de híbridos visando a produção de bioetanol (McCollum et al., 2005; Feltus e Vandenbrink, 2012).

O sucesso de qualquer programa de melhoramento de híbridos passa necessariamente pelo melhoramento das linhagens genitoras, que no caso do sorgo são as linhagens A e R. Nesse sentido destacam-se os cruzamentos dialélicos entre esses tipos de linhagens (A e R), pois além da seleção das melhores combinações híbridas, visando a recomendação, permitem a escolha das combinações parentais, tanto A quanto R, que vão gerar populações com potencial para o desenvolvimento de novas linhagens melhoradas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estimar a capacidade de combinação de linhagens A e R de sorgo biomassa, portadoras do alelo *bmr-6*, avaliando o efeito de safra e local, visando o potencial bioenergético para a produção de etanol de segunda geração.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material genético

Para a realização deste trabalho foram utilizadas quatro linhagens macho-estéreis (linhagens A), portadoras do alelo *bmr-6*, de porte baixo e insensíveis ao fotoperíodo, e 10 linhagens restauradoras de fertilidade (linhagens R), que também possuem o alelo *bmr-6*, de porte alto, excelente produção de biomassa e sensíveis ao fotoperíodo. Estas linhagens foram cruzadas em esquema de dialelo parcial, no qual as linhagens A (utilizadas como fêmeas) compuseram o grupo I e as linhagens R (utilizadas como machos) o grupo II (Tabela 1), obtendo-se o total de 40 híbridos portadores da nervura marrom e sensíveis ao fotoperíodo. As sementes F_1 's foram obtidas através de cruzamentos manuais (em campo), na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, localizada no município de Sete Lagoas. O plantio ocorreu em 18 de abril de 2016, em fileiras de três metros de comprimento e espaçadas em 0,7 metros. Obteve-se as panículas de cada cruzamento, que foram colhidas após atingirem a fase de maturação fisiológica. A partir da obtenção das sementes F_1 's, foram conduzidos quatro diferentes experimentos (Tabela1).

Tabela 1. Relação dos genitores e híbridos de sorgo biomassa utilizados no dialelo parcial nos experimentos I, II, III e IV.

Experimentos I e II				
Grupo II (Linhagens R)	Grupo I (Linhagens A)			
	BR007A bmr (1) *	CMSXS156A bmr (2)	CMSXS157A bmr (3)	
201635B004 bmr (1)	H ₍₁₋₁₎	H ₍₂₋₁₎	H ₍₃₋₁₎	
201635B005 bmr (2)	H ₍₁₋₂₎	H ₍₂₋₂₎	H ₍₃₋₂₎	
201635B006 bmr (3)	H ₍₁₋₃₎	H ₍₂₋₃₎	H ₍₃₋₃₎	
201635B007 bmr (4)	H ₍₁₋₄₎	H ₍₂₋₄₎	H ₍₃₋₄₎	
201635B008 bmr (5)	H ₍₁₋₅₎	H ₍₂₋₅₎	H ₍₃₋₅₎	
201635B009 bmr (6)	H ₍₁₋₆₎	H ₍₂₋₆₎	H ₍₃₋₆₎	
201635B010 bmr (7)	H ₍₁₋₇₎	H ₍₂₋₇₎	H ₍₃₋₇₎	
201635B011 bmr (8)	H ₍₁₋₈₎	H ₍₂₋₈₎	H ₍₃₋₈₎	
201635B012 bmr (9)	H ₍₁₋₉₎	H ₍₂₋₉₎	H ₍₃₋₉₎	
201635B013 bmr (10)	H ₍₁₋₁₀₎	H ₍₂₋₁₀₎	H ₍₃₋₁₀₎	

Experimentos III e IV				
Grupo II (Linhagens R)	Grupo I (Linhagens A)			
	BR007A bmr (1) *	CMSXS156A bmr (2)	CMSXS157A bmr (3)	TX635A bmr (4)
201635B004 bmr (1)	H ₍₁₋₁₎	H ₍₂₋₁₎	H ₍₃₋₁₎	H ₍₄₋₁₎
201635B005 bmr (2)	H ₍₁₋₂₎	H ₍₂₋₂₎	H ₍₃₋₂₎	H ₍₄₋₂₎
201635B006 bmr (3)	H ₍₁₋₃₎	H ₍₂₋₃₎	H ₍₃₋₃₎	H ₍₄₋₃₎
201635B007 bmr (4)	H ₍₁₋₄₎	H ₍₂₋₄₎	H ₍₃₋₄₎	H ₍₄₋₄₎
201635B008 bmr (5)	H ₍₁₋₅₎	H ₍₂₋₅₎	H ₍₃₋₅₎	H ₍₄₋₅₎
201635B009 bmr (6)	H ₍₁₋₆₎	H ₍₂₋₆₎	H ₍₃₋₆₎	H ₍₄₋₆₎
201635B010 bmr (7)	H ₍₁₋₇₎	H ₍₂₋₇₎	H ₍₃₋₇₎	H ₍₄₋₇₎
201635B011 bmr (8)	H ₍₁₋₈₎	H ₍₂₋₈₎	H ₍₃₋₈₎	H ₍₄₋₈₎
201635B012 bmr (9)	H ₍₁₋₉₎	H ₍₂₋₉₎	H ₍₃₋₉₎	H ₍₄₋₉₎
201635B013 bmr (10)	H ₍₁₋₁₀₎	H ₍₂₋₁₀₎	H ₍₃₋₁₀₎	H ₍₄₋₁₀₎

*Os valores entre parênteses referem-se às 3 linhagens do grupo I, 10 linhagens do grupo II e os 30 híbridos oriundos dos cruzamentos entre essas linhagens para os experimentos I e II; e para 4 linhagens do grupo I, 10 linhagens do grupo II e os 40 híbridos oriundos dos cruzamentos entre essas linhagens para os experimentos III e IV.

2.2. Delineamento experimental e avaliações de campo

Para a realização deste trabalho, quatro experimentos foram conduzidos em diferentes safras e locais, conforme descrito a seguir:

Experimento I: 30 híbridos juntamente com as linhagens genitoras e seis testemunhas não mutantes para o gene *bmr* (201636B005, 201636B006, 201636B008, 201636B019, 201636B004 e BRS 716) foram avaliados, em um experimento delineado em látice triplo (7x7), na safra de 2016/2017. Este foi conduzido na unidade experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Nova Porteirinha, no Norte de Minas, à latitude de 15° 48' S e longitude 43° 18'. O plantio do experimento ocorreu em 27 de outubro de 2016.

Experimento II: 30 híbridos juntamente com as linhagens genitoras e as mesmas seis testemunhas não mutantes para o gene *bmr*, foram também avaliados em um experimento delineado em látice triplo (7x7), na safra de 2016/2017, na unidade experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG, à latitude de 19° 27' S e longitude 44° 15' O. O plantio do experimento ocorreu em 21 de novembro de 2016.

Experimentos III: 40 híbridos juntamente com as linhagens genitoras e duas testemunhas não mutantes para o gene *bmr* (BRS 716 e N52K1009) foram avaliados, em um experimento delineado em alfa-látice (7x8), na safra 2017/2018. Este foi conduzido na unidade experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Nova Porteirinha. O plantio do experimento ocorreu em 28 de outubro de 2017 em Nova Porteirinha.

Experimento IV: 40 híbridos juntamente com as linhagens genitoras e duas testemunhas não mutantes para o gene *bmr* (BRS 716 e N52K1009) foram avaliados, em um experimento delineado em alfa-látice (7x8), na safra 2017/2018. Este foi conduzido na unidade experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG. O plantio do experimento ocorreu 26 de outubro de 2017 em Sete Lagoas.

As parcelas dos quatro experimentos foram constituídas por duas fileiras de 3 m de comprimento e espaçamento de 0,70 m. Duas semanas após a emergência das plântulas, efetuou-se o desbaste, mantendo-se uma população de aproximadamente 110.000 plantas ha⁻¹. A adubação de plantio foi de 450 kg.ha⁻¹ da formulação 08-28-16 (NPK) nos sulcos de plantio, além da aplicação de 200 kg.ha⁻¹ de uréia em cobertura após 20-25 dias de semeadura. As parcelas foram mantidas livres de plantas invasoras, mediante aplicação de Atrazine e complementação com capinas manuais. Os demais tratos culturais relacionados com o controle de pragas e doenças foram realizados seguindo o recomendado para a cultura em cada região (EMBRAPA, 2015). A colheita foi realizada quando as plantas atingiram a maturidade fisiológica do grão.

Em todos os experimentos foram avaliadas as características: dias para florescimento (DPF, dias), que se trata do número de dias decorridos da semeadura até o início da liberação de pólen em 50% das plantas da parcela; altura de plantas (AP, m) que é a altura média das plantas de cada parcela, medidas da superfície do solo ao ápice da panícula; produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), dada pela pesagem por balança de suspensão digital, de todas as plantas completas da área útil da parcela; matéria seca total (MS, %) a fim de quantificar o teor de matéria seca, em que amostras de cada tratamento foram pesadas determinando-se o peso verde (PV), em seguida acondicionadas em sacos de papel e levadas para estufa de ventilação de ar forçado (65°), por cerca de 72 horas, determinando-se o peso seco (PS). Em seguida, utilizou-se a seguinte expressão: $MS = (PS/PV) \times 100$. Além disso,

a produção de matéria seca (PMS, t.ha⁻¹) também foi mensurada através da expressão: $PMS = MS \times PMV$.

Além das características agronômicas mencionadas acima, nos experimentos I, III e IV foram avaliadas as características relacionadas à composição centesimal da biomassa de sorgo. As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas de Plantas (LAQP) da Embrapa Milho e Sorgo. Uma amostra do material seco em estufa a 65°C e moído em peneira de 1 mm foi utilizado para determinar as porcentagens de Fibra em Detergente Neutro (FDN), as porcentagens de Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Lignina em Detergente Ácido, pelo método de Van Soest (1963). A concentração de Hemicelulose foi obtida por diferença entre os teores de FDN e FDA, e a concentração de Celulose pela diferença entre FDA e Lignina.

2.3. Análises genético-estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância segundo o modelo em látice. A decisão de analisar os experimentos delineados em látice como intrabloco do látice, ou como blocos completos ao acaso foi feita conforme as recomendações de Federer (1955) e Silva et al. (2000). De acordo com Silva et al. (2000), o modelo de análise intrabloco de experimentos em látice, para estimar componentes da variância, deve ser utilizado quando a eficiência relativa do delineamento em látice for superior a 100%, em comparação ao delineamento em blocos completos ao acaso. Caso contrário, deve-se optar pelo modelo de análise em blocos. Federer (1955) recomenda que a análise dos dados seja realizada em látice somente se a eficiência for superior a 110%. Dessa maneira, procedeu-se à análise de variância para cada local e ano com base nas médias das parcelas para cada característica avaliada, considerando-se fixos todos os efeitos, com exceção do erro experimental, utilizando-se o seguinte modelo estatístico: $y_{ij} = \mu + b_j + g_i + e_{ij}$, em que: y_{ij} é o valor fenotípico observado do i -ésimo genótipo no j -ésimo bloco; μ é média geral; b_j é o efeito do j -ésimo bloco; g_i é o efeito do i -ésimo genótipo; e_{ij} erro aleatório.

Antes de realizar a análise conjunta, verificou-se a homogeneidade das variâncias residuais entre as análises de cada local, conforme a relação entre variâncias, sugerida por Pimentel-Gomes (1985). Em seguida foi desdobrada a interação tripla Tratamento x Safra x Local em interação Tratamento x Safra e interação Tratamento x Local, para que tornasse possível a análise e interpretação do efeito de safra e local. Foi realizada a análise de variância conjunta dos experimentos para avaliar o efeito de safra, experimentos: (I e III), (II e IV) e

efeito de local, experimentos: (I e II) e (III e IV) e os respectivos desdobramentos das fontes de variação, considerando fixos os efeitos de tratamentos, safra e local, através dos modelos: $y_{ijk} = \mu + g_i + l_j + gl_{ij} + b/l_{jk} + \bar{\varepsilon}_{ijk}$, em que: y_{ijk} é o valor fenotípico observado do i -ésimo genótipo, no k -ésimo bloco, dentro do j -ésimo local; g_i é o efeito do i -ésimo genótipo; l_j é o efeito do j -ésimo local; gl_{ij} efeito da interação do i -ésimo genótipo com o j -ésimo local; b/l_{jk} efeito do k -ésimo bloco, dentro do j -ésimo local; $\bar{\varepsilon}_{ijk}$ erro aleatório. E $y_{ijk} = \mu + g_i + s_j + gs_{ij} + b/s_{jk} + \bar{\varepsilon}_{ijk}$, em que: y_{ijk} é o valor fenotípico observado do i -ésimo genótipo, no k -ésimo bloco, dentro da j -ésimo safra; g_i é o efeito do i -ésimo genótipo; s_j é o efeito da j -ésimo safra; gs_{ij} efeito da interação do i -ésimo genótipo com a j -ésima safra; b/s_{jk} efeito do k -ésimo bloco, dentro da j -ésima safra; $\bar{\varepsilon}_{ijk}$ erro aleatório.

Os dados foram submetidos à análise dialélica individual de acordo com o modelo 4 proposto por Griffing (1956), adaptado para cruzamentos dialélicos parciais por Geraldi e Miranda Filho (1988), conforme o modelo a seguir: $y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + e_{ij}$, em que: y_{ij} é o valor médio da combinação híbrida entre o i -ésimo genitor do grupo I e o j -ésimo genitor do grupo II; μ é média geral das combinações híbridas; g_i é o efeito da capacidade geral de combinação do i -ésimo genitor do grupo I; g_j é o efeito da capacidade geral de combinação do j -ésimo genitor do grupo II; s_{ij} é o efeito da capacidade específica de combinação; e e_{ij} é o erro experimental médio. A significância dos efeitos presentes no modelo dialélico foi verificada pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

Para auxiliar na seleção dos híbridos que reúnam simultaneamente caracteres favoráveis entre as safras e locais, foi utilizado o Índice de Seleção FAI-BLUP (Rocha et., 2017) baseado na análise de fatores. Este índice permite a seleção de genótipos que apresentam menor distância em relação a um ideótipo de interesse, conforme fórmula a seguir:

$$P_{ij} = \frac{1/d_{ij}}{\sum_{i=1; j=1}^{i=n; j=m} 1/d_{ij}},$$

em que: P_{ij} é a probabilidade do i -ésimo genitor ($i = 1, 2, \dots, n$) ser similar ao j -ésimo ideótipo ($j = 1, 2, \dots, m$); d_{ij} é a distância euclidiana média padronizada entre o i -ésimo genitor e o j -ésimo ideótipo.

As análises dos dados foram realizadas como auxílio do Software R (R Core Team 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito de Safra – Experimentos (I e III) e (II e IV)

A eficiência do delineamento em látice triplo, em comparação ao de blocos casualizados foi baixa, portanto optou-se pelas análises segundo o modelo de blocos ao acaso. Nas Tabelas 2 e 3 são apresentados os quadrados médios das análises conjuntas de variância e dialélica conjunta para avaliar o efeito de safra em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, experimentos: (I e III), (II e IV). As estimativas dos coeficientes de variação (CV %) foram baixas para todas as características, indicando adequada precisão experimental.

Tabela 2. Resumo da análise de variância e dialélica conjunta para as variáveis dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), para os híbridos e genitores de sorgo biomassa, nas safras 2016/2017 e 2017/2018 em Nova Porteirinha.

FV	Quadrado Médio					
	GL	DPF	AP	PMV	MS	PMS
Safra (S)	1	3354,09**	0,27**	36859,02**	526,72**	8736,78**
Tratamentos (Trat)	43	3085,41**	4,49**	4241,96**	79,56**	588,96**
Genitores (G)	12	6990,69**	12,52**	4859,48**	188,73**	679,94**
Grupo I (GI)	2	177,38*	0,33**	102,43 ^{ns}	5,69 ^{ns}	5,06 ^{ns}
Grupo II (GII)	9	568,58**	0,32**	1365,19**	30,68**	114,67**
GI vs GII	1	78416,29**	146,83**	45822,11**	1977,23**	7117,16**
Híbridos (H)	29	1534,57**	0,31**	1233,48**	31,47**	173,64**
CGC (GI)	2	1037,43**	0,34**	3035,34**	28,44**	422,91**
CGC (GII)	9	2303,06**	0,13**	1795,59**	51,62**	223,57**
CEC	18	1205,56**	0,33**	752,23**	21,73**	120,98**
Trat x S	43	772,85**	0,31**	1000,94**	100,19**	175,22**
G x S	12	141,53*	0,04**	456,32**	12,65*	80,56**
H x S	29	729,56**	0,04**	920,41**	24,43**	121,96**
CGC (GI) x S	2	666,13 ^{ns}	0,005 ^{ns}	102,58 ^{ns}	4,70*	26,11**
CGC (GII) x S	9	290,97*	0,06**	490,57**	12,41**	62,78**
CEC x S	18	172,29**	0,04**	237,61**	6,39**	31,20**
Resíduo	172	25,86	0,007	48,09	4,56	7,77
Média (H)		132,89	4,16	104,20	37,67	31,44
Média (G)		127,87	3,80	83,87	8,83	33,28
Média Geral		131,69	4,11	100,74	31,96	36,30
CV(%)		3,86	5,14	6,88	8,09	6,54

** , * e ns: significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F.

Tabela 3. Resumo da análise de variância e dialélica conjunta para as variáveis dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %), produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), fibra em detergente ácido (FDA, %), fibra em detergente neutro (FDN, %), lignina (LIG, %), celulose (CEL, %) e hemicelulose (HEM, %) para os híbridos e genitores de sorgo biomassa, nas safras 2016/2017 e 2017/2018 em Sete Lagoas.

FV	GL	Quadrado Médio									
		DPF	AP	PMV	MS	PMS	FDA	FDN	LIG	CEL	HEM
Safra (S)	1	2310,46**	3,19**	2583,0**	334,69**	11,99 ^{ns}	2711,07**	6447,78**	117,56**	6448,78**	911,66**
Tratamentos (Trat)	43	1662,7**	5,16**	3797,85**	44,79**	318,5**	351,75**	718,97**	3,33**	718,97**	66,32**
Genitores (G)	12	3895,84**	14,06**	4383,67**	118,60**	483,43**	925,73**	1835,99**	7,28**	1835,99**	154,76**
Grupo I (GI)	2	26,05 ^{ns}	0,86**	528,13**	40,94**	18,78*	0,88 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,66 ^{ns}	0,11 ^{ns}
Grupo II (GII)	9	357,35**	0,8**	356,34**	32,12**	61,19**	10,13 ^{ns}	21,75 ^{ns}	0,70**	21,75**	2,7 ^{ns}
GI vs GII	1	43481,87**	159,88**	48340,71**	1052,25**	5212,9**	11015,79**	21834,76**	81,10**	21834,76**	1832,68**
Híbridos (H)	29	660,49**	0,59**	1962,67**	17,25**	151,18**	58,32**	129,48**	1,16**	129,48**	15,27**
CGC (GI)	2	623,9**	1,53**	6392,91**	32,18**	193,74**	18,17 ^{ns}	13,64 ^{ns}	1,06 ^{ns}	13,64 ^{ns}	0,32 ^{ns}
CGC (GII)	9	790,36**	0,28**	2329,40**	20,42**	187,36**	58,54 ^{ns}	132,23**	1,03 ^{ns}	132,23**	16,95**
CEC	18	599,62**	0,65**	1287,06**	14,0**	128,36**	62,67**	140,97**	1,24*	140,97**	16,08**
Trat x S	43	466,79**	0,13**	1085,58**	106,65**	80,37**	242,41**	596,43**	3,18**	596,43**	79,02**
G x S	12	230,08*	0,05 ^{ns}	1016,59**	15,14**	87,03**	629,80*	1579,0**	8,20**	1579,0*	214,83**
H x S	29	417,53**	0,16**	747,74**	10,83**	88,52**	64,74**	148,92**	1,25**	148,92**	17,85**
CGC (GI) x S	2	311,33 ^{ns}	0,09**	1306,0**	0,66 ^{ns}	58,48**	28,29*	56,18*	0,21 ^{ns}	56,18*	4,74 ^{ns}
CGC (GII) x S	9	133,30*	0,05**	236,69**	2,95**	23,63**	23,61**	56,91**	0,47*	56,91**	7,30**
CEC x S	18	122,98**	0,05**	138,11**	4,27**	29,22**	19,82**	45,28**	0,41*	45,28**	5,41**
Resíduo	172	35,43	0,05	19,43	2,87	4,45	24,38	51,84	0,61	51,84	5,58
Média (H)		133,97	4,25	88,46	26,58	27,35	49,46	73,98	4,97	26,02	24,53
Média (G)		119,85	3,64	58,03	30,23	18,11	50,68	76,61	5,34	23,39	25,93
Média Geral		131,43	4,15	83,34	26,92	26,0	49,48	74,12	5,01	27,87	24,67
CV(%)		4,52	5,57	5,28	7,93	6,38	9,97	9,71	15,53	27,83	9,58

** , * e ns: significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F.

De acordo com as Tabelas 2 e 3, para os efeitos de tratamentos (genitores e híbridos) houve significância ($p < 0,01$) para todos os caracteres, em ambos os locais evidenciando ampla variabilidade entre os genótipos. Com o desdobramento do efeito de tratamentos, observou-se que os genitores e híbridos apresentaram efeitos significativos para todos os caracteres. Também se observou efeito significativo para o contraste GI *vs* GII, indicando que a média das linhagens do grupo I difere da média das linhagens do grupo II para todas as características avaliadas. O efeito de safra também foi significativo para a maioria das características, com exceção de PMS em Sete Lagoas (Tabela 3). Este efeito está relacionado principalmente às variações climáticas, como temperatura e pluviosidade, que têm influência na expressão dos genes envolvidos no controle das características avaliadas. Os efeitos de CGC para o grupo I (linhagens A) e para o grupo II (linhagens R) foram significativos para todos os caracteres em Nova Porteirinha, já em Sete Lagoas os caracteres de composição centesimal no grupo I não foram significativos, além de FDA e LIG no grupo II (Tabela 3). Essas estimativas fornecem informações sobre a concentração de genes (frequência de alelos favoráveis) com efeitos aditivos presentes nos genitores. Os efeitos aditivos são responsáveis pela proporção da variação fenotípica que pode ser transmitida para as sucessivas gerações, sendo, portanto, responsável pelo desempenho das linhagens puras obtidas em cada população quando a homozigose é alcançada (Ramalho et al., 1988). Diversos autores relatam que a herança de caracteres agrônômicos no sorgo é governada tanto por efeitos aditivos quanto não-aditivos (Premalatha et al., 2006; Menezes et al., 2014; Mohammed et al. 2015). Os efeitos da capacidade específica de combinação (CEC) foram significativos para todos os caracteres, em ambas as safras, indicando a presença de efeitos não aditivos além do grau de complementaridade entre os genitores envolvidos nos cruzamentos.

Houve efeito significativo ($p < 0,01$) na interação Tratamentos x Safra (Trat x S) para todas as características (DPF, AP, PMS, MS e PMS), em ambas as safras, o que indica comportamento diferenciado dos genótipos nos diferentes anos agrícolas. A interação Trat x S quando desdobrada apresentou efeitos significativos para G x S e H x S para quase todos os caracteres com exceção apenas para AP na interação G x S, em Sete Lagoas. Observou-se significância para a interação CGC x S para a maioria das características, em ambos os grupos, com exceção de DPF, AP e PMV, no grupo I em Nova Porteirinha e de DPF, MS, LIG e HEM, no grupo I em Sete Lagoas, que foi não significativa. Estes resultados revelam que as linhagens parentais não exibem o mesmo comportamento e ocorre expressão diferencial de seus genes nas diferentes safras. O efeito da interação CEC x S também foi significativo para todas as características, demonstrando que os híbridos também não apresentaram o mesmo comportamento nas diferentes safras, o que indica diversidade dos

genitores cruzados. Assim, a escolha dos potenciais genitores, bem como das combinações híbridas superiores, deve considerar as estimativas dos efeitos em cada ano agrícola plantado.

Nos programas de melhoramento de sorgo biomassa visando à geração de etanol celulósico, buscaram-se materiais com maior produção de biomassa (DPF, AP, PMV, PMS e MS) e maior qualidade da mesma (FDA, FDN, CEL e HEM). Informações sobre a capacidade de combinação são necessárias para identificar os pais e híbridos potencialmente superiores, e também para auxiliar na definição acerca do padrão dos efeitos genéticos na expressão de caracteres quantitativos (Goyal e Kumar, 1991). Dessa maneira, considerando as estimativas dos efeitos de CGC (Tabela 4) para os genitores do grupo I (\hat{g}_i) em Nova Porteirinha, nas safras 2016/2017 e 2017/2018 a linhagem BR007A bmr apresentou os maiores valores positivos e significativos para DPF (10,33) e PMV (7,31), na safra 2016/2017 e para PMV (7,81) e MS (3,12), na safra 2017/2018. A linhagem CMSXS156A bmr apresentou valor significativo e positivo apenas para AP na safra 2016/2017 e a linhagem CMSXS157A bmr para DPF (7,46) e PMS (1,19), na safra 2017/2018.

Tabela 4. Estimativas da capacidade geral de combinação dos grupos I (\hat{g}_i) e II (\hat{g}_j), quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Nova Porteirinha nas safras 2016/2017 e 2017/2018.

Genótipo	Safrá 2016/2017					Safrá 2017/2018				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
BR007A bmr (1)	10,33**	0,02 ^{ns}	7,31**	0,14 ^{ns}	2,79**	-0,24 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	7,81**	3,12**	-0,16 ^{ns}
CMSXS156A bmr (2)	-5,97**	0,11**	-3,37**	-0,29 ^{ns}	-1,56**	-0,51**	0,04 ^{ns}	-9,08**	-3,15**	-1,13**
CMSXS157A bmr (3)	-4,37**	-0,09**	-3,95**	0,15 ^{ns}	-1,23**	7,46**	-0,06 ^{ns}	-0,84**	1,73**	1,19**
201635B004 bmr (1)	-5,23**	-0,03 ^{ns}	-6,23**	-0,73 ^{ns}	-2,89**	-0,91**	0,10 ^{ns}	-9,91**	-1,71**	0,98**
201635B005 bmr (2)	26,21**	0,21**	19,43**	-1,44 ^{ns}	5,02**	-1,91**	-0,14 ^{ns}	-9,31**	-3,43**	-2,13**
201635B006 bmr (3)	5,10**	0,17**	20,81**	0,13 ^{ns}	7,74**	-5,49**	-0,06 ^{ns}	-5,78**	0,00 ^{ns}	-0,96**
201635B007 bmr (4)	5,77**	0,08 ^{ns}	20,74**	0,46 ^{ns}	8,13**	4,51**	0,11 ^{ns}	20,24**	1,31**	-2,63**
201635B008 bmr (5)	8,66**	-0,12**	3,69**	0,38 ^{ns}	1,86**	-5,08**	-0,03 ^{ns}	8,46**	0,62**	-0,65*
201635B009 bmr (6)	-32,79**	0,01 ^{ns}	-19,83**	-0,03 ^{ns}	-7,21**	16,66**	-0,26 ^{ns}	-1,92**	-4,98**	-4,06**
201635B010 bmr (7)	-13,79*	-0,20**	-9,50**	-0,16 ^{ns}	-3,59**	8,42**	0,15 ^{ns}	0,92**	2,06**	1,02**
201635B011 bmr (8)	6,88**	-0,29**	6,32**	0,23 ^{ns}	2,69**	8,09**	0,08 ^{ns}	-3,72**	-1,64**	2,65**
201635B012 bmr (9)	-3,57**	0,06 ^{ns}	-10,79**	-0,14 ^{ns}	-4,24**	2,84**	-0,04 ^{ns}	-4,48**	-0,39 ^{ns}	1,99**
201635B013 bmr (10)	2,77**	0,12**	-24,64**	1,29 ^{ns}	-7,50**	6,17**	0,10 ^{ns}	5,49**	8,15**	3,79**

** , * e ns: significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($H_0: \hat{g}_i = 0; \hat{g}_j = 0$).

Já para os efeitos de CGC (Tabela 5) para os genitores do grupo I (\hat{g}_i) em Sete Lagoas, nas safras 2016/2017 e 2017/2018, a linhagem BR007A bmr também apresentou os melhores resultados, sendo que houve maiores valores positivos e significativos para DPF

(6,16), AP (0,19) e PMV (2,99), na safra 2016/2017 e para PMV (22,83) e MS (4,29), na safra 2017/2018. A linhagem CMSXS156A bmr apresentou maior valor positivo e significativo apenas para PMS (0,61), na safra 2016/2017 e a linhagem CMSXS157A bmr para MS (0,45), na safra 2016/2017 e para DPF (6,69) na safra 2017/2018. Dessa maneira, observou-se que as linhagens BR007A bmr e CMSXS156A bmr se destacaram dentre as três linhagens genitoras do grupo I em Sete Lagoas e em Nova Porteirinha, ao avaliar-se o efeito de safra.

Tabela 5. Estimativas da capacidade geral de combinação dos grupos I (\hat{g}_i) e II (\hat{g}_j), quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Sete Lagoas nas safras 2016/2017 e 2017/2018.

Genótipo	Safra 2016/2017					Safra 2017/2018				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
BR007A bmr (1)	6,16**	0,19**	2,99**	-0,71**	0,14 ^{ns}	0,59**	0,05 ^{ns}	22,83**	4,29**	-1,37**
CMSXS156A bmr (2)	-2,84**	0,06**	1,17**	0,27 ^{ns}	0,61**	-2,88**	-0,09 ^{ns}	-10,49**	-1,84**	-0,49*
CMSXS157A bmr (3)	-3,31**	-0,24**	-4,16**	0,45**	-0,75**	6,69**	-0,15 ^{ns}	-6,36**	-1,48**	0,36 ^{ns}
201635B004 bmr (1)	-3,68 ^{ns}	-0,23**	-11,11**	0,66 ^{ns}	-2,63**	-2,74**	-0,15 ^{ns}	-25,27**	-6,47**	0,61 ^{ns}
201635B005 bmr (2)	4,99**	0,05 ^{ns}	12,30**	-0,33 ^{ns}	3,35**	-0,74 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-5,05**	-1,85**	0,74 ^{ns}
201635B006 bmr (3)	8,66**	0,05 ^{ns}	11,28**	-0,87**	2,43**	10,41**	0,03 ^{ns}	-11,16**	-3,60**	-0,09 ^{ns}
201635B007 bmr (4)	1,10 ^{ns}	0,23**	5,26**	-1,08**	0,51 ^{ns}	9,43**	0,03 ^{ns}	19,61**	2,82**	-3,79**
201635B008 bmr (5)	3,32 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	22,60**	1,60**	8,47**	-1,91**	0,29 ^{ns}	9,02**	3,64**	0,98**
201635B009 bmr (6)	-6,34**	-0,04 ^{ns}	-2,22**	0,67 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	13,24**	-0,06 ^{ns}	3,17**	-0,83*	0,08 ^{ns}
201635B010 bmr (7)	-1,46 ^{ns}	0,30**	-12,40**	-0,98**	-4,52**	8,34**	-0,04 ^{ns}	-7,00**	-1,70**	0,07 ^{ns}
201635B011 bmr (8)	2,99**	-0,12**	-2,32**	-0,05 ^{ns}	-0,73 ^{ns}	3,59**	0,00 ^{ns}	5,35**	2,43**	1,54**
201635B012 bmr (9)	-9,68**	-0,10**	-8,97**	0,65 ^{ns}	-2,17**	0,59 ^{ns}	0,03 ^{ns}	8,80**	3,98**	-0,34 ^{ns}
201635B013 bmr (10)	0,10 ^{ns}	-0,00 ^{ns}	-14,41**	-0,26 ^{ns}	-4,60**	7,09**	0,01 ^{ns}	2,54**	1,58**	0,19 ^{ns}

** , * e ns: significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($H_0: \hat{g}_i = 0; \hat{g}_j = 0$).

Em relação à capacidade de combinação das linhagens do grupo II (\hat{g}_j), algumas linhagens apresentaram maior contribuição na frequência de alelos favoráveis (Tabelas 4 e 5). Em Nova Porteirinha (Tabela 4), destacou-se para a característica DPF a linhagem 201635B005 bmr, pois esta apresentou alto valor de CGC positivo e significativo para a safra 2016/2017, já para a safra 2017/2018, destacou-se a linhagem 201635B009 bmr. As linhagens do grupo II são sensíveis ao fotoperíodo, e dessa forma, espera-se que genótipos que apresentem maior DPF, tenham também maior PMV e PMS. Para AP as linhagens 201635B005 bmr e 201635B006 bmr apresentaram o maior efeito positivo e significativo na safra 2016/2017 apesar de ser não significativa na safra 2017/2018. Em relação a variável PMV, destacou-se a linhagem 201635B007, pois esta apresentou alto valor de CGC positivo e significativo nas safras 2016/2017 e 2017/2018, com contribuição de alelos favoráveis em

ambas as safras. Para MS nenhuma linhagem destacou-se na safra 2016/2017 e as linhagens 201635B007 bmr, 201635B008 bmr e 201635B013 bmr apresentaram valor positivo e significativo na safra 2017/2018. E para a variável PMS, a linhagem 201635B011 bmr apresentou contribuição satisfatória para a frequência de alelos favoráveis em relação ao aumento de produção de massa seca para as duas safras. A partir destes resultados, observou-se que as linhagens 201635B005 bmr, 201635B006 bmr e 201635B007 bmr apresentaram a melhor capacidade geral de combinação entre as linhagens do grupo II para a maioria das variáveis em Nova Porteirinha, para as duas safras. Em Sete Lagoas (Tabela 5), destacou-se para a característica DPF a linhagem 201635B006 bmr, pois esta apresentou alto valor de CGC positivo e significativo nas duas safras. Para AP as linhagens 201635B007 bmr e 201635B010 bmr apresentaram o maior efeito positivo e significativo na safra 2016/2017 apesar de serem não significativas na safra 2017/2018. Em relação a variável PMV, MS e PMS destacou-se a linhagem 201635B008 bmr, pois esta apresentou alto valor de CGC positivo e significativo nas safras 2016/2017 e 2017/2018. Observou-se que as linhagens 201635B006 bmr, 201635B007 bmr e 201635B008 bmr apresentaram a melhor capacidade geral de combinação entre as linhagens do grupo II para a maioria das variáveis em Sete Lagoas, em ambas as safras.

Quanto às estimativas de CEC para Nova Porteirinha (Tabela 6) se destacaram para DPF os cruzamentos H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₇, H₃₋₁ e H₃₋₆ na safra 2016/2017, enquanto que na safra 2017/2018, se destacaram os cruzamentos H₁₋₃, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₅ e H₃₋₆. Para AP na safra 2016/2017, H₁₋₅, H₁₋₇, H₂₋₆, e H₃₋₈. Para PMV na safra 2016/2017, H₁₋₇, H₁₋₉, H₂₋₂ e H₃₋₈ e em 2017/2018, H₁₋₄, H₁₋₇, H₂₋₂, H₂₋₃ e H₃₋₂. Para MS na safra 2016/2017, apenas os cruzamentos H₁₋₄, H₁₋₁₀ e H₂₋₁₀ e na safra 2017/2018, H₁₋₂, H₁₋₄, H₁₋₉, H₂₋₂, H₃₋₂, e H₃₋₆. E para PMS na safra 2016/2017, H₁₋₁, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₈ e H₃₋₃, e na safra 2017/2018 H₁₋₁, H₁₋₉, H₂₋₈, H₃₋₃, e H₃₋₆.

Tabela 6. Estimativa da capacidade específica de combinação ($\hat{\sigma}_{ij}$) quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Nova Porteirinha, nas safras 2016/2017 e 2017/2018.

Híbridos	Safr 2016/2017					Safr 2017/2018				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
H ₍₁₋₁₎	-9,67**	0,11 ^{ns}	6,73**	1,82 ^{ns}	4,58**	9,57**	0,08 ^{ns}	5,50**	-5,93**	2,90**
H ₍₁₋₂₎	0,56 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-4,11*	-0,19 ^{ns}	-1,76 ^{ns}	-51,09**	-0,89 ^{ns}	-37,48**	15,78**	-5,53**
H ₍₁₋₃₎	-3,33 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-4,78*	-2,42*	-5,19**	25,49**	0,34 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	6,05**	2,32**
H ₍₁₋₄₎	7,00*	-0,05 ^{ns}	-10,99**	3,22**	0,64 ^{ns}	2,16**	0,16 ^{ns}	25,25**	10,21**	2,26**
H ₍₁₋₅₎	2,11 ^{ns}	0,23**	3,60*	-0,16 ^{ns}	1,19 ^{ns}	-20,08**	0,37 ^{ns}	6,41**	3,27**	1,51*

Continuação Tabela 6.

H ₍₁₋₆₎	-23,11**	-0,42**	-2,32 ^{ns}	-0,59 ^{ns}	-1,44 ^{ns}	-28,34**	-0,43 ^{ns}	-8,69**	-3,42**	-1,48*
H ₍₁₋₇₎	22,89**	0,44**	11,28**	-0,60 ^{ns}	3,34**	9,24**	0,02 ^{ns}	22,38**	-8,72**	-1,71**
H ₍₁₋₈₎	1,56**	-0,38**	-18,86**	-1,10 ^{ns}	-8,17**	-3,09**	0,03 ^{ns}	4,64**	-1,03*	-3,85**
H ₍₁₋₉₎	-7,67 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	14,51**	-2,54**	2,08**	3,16**	0,05 ^{ns}	-40,38**	7,14**	3,09**
H ₍₁₋₁₀₎	9,67**	0,14**	4,95*	2,57**	4,72**	12,83**	0,25 ^{ns}	-13,63**	-3,65**	0,51 ^{ns}
H ₍₂₋₁₎	-3,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-10,73**	-1,13 ^{ns}	-5,03**	-9,16**	0,04 ^{ns}	-4,01**	-2,85**	0,34 ^{ns}
H ₍₂₋₂₎	0,52 ^{ns}	0,00 ^{ns}	13,82**	0,63 ^{ns}	5,66**	22,18**	0,34 ^{ns}	18,73**	9,57**	0,89 ^{ns}
H ₍₂₋₃₎	8,63*	-0,04 ^{ns}	0,46 ^{ns}	2,21 ^{ns}	0,75**	11,76**	0,37 ^{ns}	11,93**	1,06*	-0,49 ^{ns}
H ₍₂₋₄₎	-7,03*	-0,06 ^{ns}	8,19**	-0,10 ^{ns}	2,83 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-14,30**	-3,98**	-0,51 ^{ns}
H ₍₂₋₅₎	4,08**	0,02 ^{ns}	-8,69**	-2,56 ^{ns}	-1,38**	11,01**	0,20 ^{ns}	-1,11**	4,93**	3,40*
H ₍₂₋₆₎	-12,14*	0,27**	-6,06**	-1,05 ^{ns}	-3,24 ^{ns}	-14,41**	-0,67 ^{ns}	3,65**	-3,96**	-6,98**
H ₍₂₋₇₎	16,86**	-0,12 ^{ns}	-11,66**	-3,96 ^{ns}	-4,69**	-2,49**	-0,05 ^{ns}	4,02**	2,12**	1,53**
H ₍₂₋₈₎	-0,48 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	8,49*	2,30 ^{ns}	3,02**	-1,16**	0,09 ^{ns}	-2,42**	-1,55**	3,49**
H ₍₂₋₉₎	1,97 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-3,20*	1,41 ^{ns}	0,94 ^{ns}	-3,24**	-0,36 ^{ns}	-16,73**	-5,10**	-0,98 ^{ns}
H ₍₂₋₁₀₎	-9,37*	-0,17**	9,38**	0,92*	4,49 ^{ns}	-14,24**	0,18 ^{ns}	0,24 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,70**
H ₍₃₋₁₎	12,70**	-0,14**	4,0*	0,45 ^{ns}	1,73 ^{ns}	0,21 ^{ns}	-0,22 ^{ns}	1,80**	-1,48**	-0,86 ^{ns}
H ₍₃₋₂₎	-1,08 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-9,71*	-3,90 ^{ns}	-1,25**	9,54**	0,25 ^{ns}	19,11**	6,31**	1,28**
H ₍₃₋₃₎	-5,30**	-0,01 ^{ns}	4,32*	2,98 ^{ns}	3,69*	4,79**	0,10 ^{ns}	-14,47**	-3,28**	3,89**
H ₍₃₋₄₎	0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	2,80**	-0,74 ^{ns}	-3,25 ^{ns}	-8,87**	-0,17 ^{ns}	-11,18**	-0,46 ^{ns}	-4,30**
H ₍₃₋₅₎	-6,19 ^{ns}	-0,25**	5,09*	1,37 ^{ns}	1,92 ^{ns}	4,04**	-0,13 ^{ns}	-2,85**	-6,20**	1,22*
H ₍₃₋₆₎	35,26**	0,15**	8,38**	2,49 ^{ns}	2,29**	13,63**	0,47 ^{ns}	6,30**	6,46**	3,32**
H ₍₃₋₇₎	-39,74**	-0,32**	0,38 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-10,46**	-0,01 ^{ns}	6,52**	0,24 ^{ns}	-0,71 ^{ns}
H ₍₃₋₈₎	-1,08 ^{ns}	0,39**	10,37**	5,87 ^{ns}	5,21**	-0,79 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,29 ^{ns}	4,71**	1,37**
H ₍₃₋₉₎	5,70**	-0,06 ^{ns}	-11,31*	-3,49 ^{ns}	-4,30**	-6,21**	0,21 ^{ns}	-11,27**	-5,77**	-3,85**
H ₍₃₋₁₀₎	-0,30 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-14,33**	-5,64 ^{ns}	-6,10**	-5,87**	-0,32 ^{ns}	5,76**	-0,53**	-1,36**

** , * e ns: significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($\hat{\sigma}_{ij} = 0$).

Para as estimativas de CEC em Sete Lagoas (Tabela 7), para a característica DPF, na safra 2016/2017, os híbridos que se destacaram foram H₂₋₇, H₃₋₁, H₃₋₆ e H₃₋₁₀, e na safra 2017/2018 os híbridos H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₅, H₂₋₈, H₃₋₂, H₃₋₃ e H₃₋₆. Para a característica AP, apenas na safra 2016/2017 houve híbridos com valores positivos e significativos, sendo, H₁₋₁, H₁₋₃, H₁₋₇, H₃₋₂, H₃₋₆, H₃₋₈ e H₃₋₉. Para PMV na safra 2016/2017 destacou-se os híbridos H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₁₋₆, H₁₋₇, H₂₋₁, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₈, H₃₋₅, H₃₋₆, H₃₋₈ e H₃₋₉, e para a safra 2017/2018 os híbridos H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₁, H₂₋₂, H₂₋₄, H₂₋₈, H₂₋₁₀, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₅, H₃₋₆ e H₃₋₉. Para MS, na safra de 2016/2017 apenas três híbridos apresentaram valor positivo e significativo, H₂₋₁, H₃₋₅ e H₃₋₉ e na safra 2017/2018 destacou-se H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₁₋₇, H₂₋₈, H₂₋₁₀, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₅ e H₃₋₆. E para PMS, destacou-se na safra 2016/2017 os híbridos H₁₋₃, H₁₋₆, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₁, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₈, H₃₋₅, H₃₋₆, H₃₋₈ e H₃₋₉, e na safra 2017/2018 os híbridos H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₈, H₂₋₁ e H₂₋₂. Dessa maneira, considerando simultaneamente os

caracteres e as duas safras avaliadas em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, destacaram-se os cruzamentos H₁₋₁, H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₅, H₂₋₈, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₆ e H₃₋₈.

Tabela 7. Estimativa da capacidade específica de combinação ($\hat{\sigma}_{ij}$) quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Sete Lagoas, nas safras 2016/2017 e 2017/2018.

Híbridos	Safrá 2016/2017					Safrá 2017/2018				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
H ₍₁₋₁₎	-0,82 ^{ns}	0,22 ^{**}	-7,40 ^{**}	0,67 ^{ns}	-1,78 ^{**}	-10,91 ^{**}	0,01 ^{ns}	-8,66 ^{**}	-0,47 ^{ns}	-0,18 ^{ns}
H ₍₁₋₂₎	-0,49 ^{ns}	-0,32 ^{**}	-14,30 ^{**}	0,58 ^{ns}	-3,67 [*]	-51,76 ^{**}	-0,96 ^{ns}	-35,62 ^{**}	-13,33 ^{**}	-6,79 ^{**}
H ₍₁₋₃₎	0,51 ^{ns}	0,13 ^{**}	6,69 ^{**}	0,02 ^{ns}	1,92 ^{**}	14,58 ^{**}	0,29 ^{ns}	22,80 ^{**}	4,10 ^{**}	1,26 ^{**}
H ₍₁₋₄₎	1,73 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	2,75 [*]	-0,32 ^{ns}	0,50 ^{ns}	4,07 ^{**}	0,00 ^{ns}	13,26 ^{**}	13,18 ^{**}	4,42 ^{**}
H ₍₁₋₅₎	-2,16 ^{ns}	0,03 ^{ns}	2,02 ^{**}	-1,69 ^{**}	-1,33 ^{**}	21,08 ^{**}	0,04 ^{ns}	29,04 ^{**}	5,20 ^{**}	-1,61 ^{**}
H ₍₁₋₆₎	-5,16 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	4,44 ^{**}	0,76 ^{ns}	2,13 ^{**}	-11,26 ^{**}	0,29 ^{ns}	-5,64 ^{**}	-3,28 ^{**}	1,26 ^{ns}
H ₍₁₋₇₎	0,62 ^{ns}	0,23 ^{**}	13,42 ^{**}	0,55 ^{ns}	4,47 ^{**}	8,16 ^{**}	0,55 ^{ns}	10,31 ^{**}	4,34 ^{**}	-0,30 ^{ns}
H ₍₁₋₈₎	1,84 ^{ns}	-0,16 ^{**}	-20,55 ^{**}	0,03 ^{ns}	-5,92 ^{**}	-7,43 ^{**}	-0,20 ^{ns}	-18,66 ^{**}	-1,83 ^{**}	1,45 [*]
H ₍₁₋₉₎	1,84 ^{ns}	0,25 ^{**}	-4,10 ^{**}	-1,02 ^{ns}	-1,92 ^{**}	-1,76 ^{**}	-0,09 ^{ns}	-20,63 ^{**}	-5,42 ^{**}	0,80 ^{ns}
H ₍₁₋₁₀₎	2,07 ^{ns}	-0,30 ^{**}	17,07 ^{**}	0,43 ^{ns}	5,58 ^{**}	13,41 ^{**}	0,08 ^{ns}	13,79 ^{**}	-2,49 ^{**}	-0,32 ^{ns}
H ₍₂₋₁₎	-5,49 ^{**}	0,35 ^{**}	17,50 ^{**}	1,94 ^{**}	6,96 ^{**}	-6,29 ^{**}	0,26 ^{ns}	3,34 ^{**}	0,26 ^{ns}	1,47 [*]
H ₍₂₋₂₎	0,18 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	13,76 ^{**}	0,43 ^{ns}	4,59 [*]	17,71 ^{**}	0,28 ^{ns}	9,71 ^{**}	-0,53 ^{ns}	2,50 ^{**}
H ₍₂₋₃₎	2,18 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	11,82 ^{**}	0,16 ^{ns}	3,66 ^{**}	14,38 ^{**}	-0,09 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,28 ^{ns}	-1,45 [*]
H ₍₂₋₄₎	2,40 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,21 ^{ns}	1,01 ^{ns}	1,01 ^{ns}	-1,13 ^{ns}	0,27 ^{ns}	8,87 ^{**}	-0,41 ^{ns}	-1,35 ^{**}
H ₍₂₋₅₎	-1,49 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-12,45 ^{**}	0,10 ^{ns}	-3,80 ^{**}	16,21 ^{**}	0,08 ^{ns}	-17,37 ^{**}	-4,97 ^{**}	0,39 ^{ns}
H ₍₂₋₆₎	-7,49 ^{**}	-0,25 ^{**}	-10,81 ^{**}	-1,17 ^{**}	-4,30 ^{**}	-31,13 ^{**}	-0,54 ^{ns}	-10,35 ^{**}	0,78 ^{ns}	0,10 ^{ns}
H ₍₂₋₇₎	6,96 ^{**}	0,12 ^{ns}	-9,52 ^{**}	-1,31 ^{**}	-3,73 ^{**}	2,29 ^{**}	-0,24 ^{ns}	-3,25 ^{**}	-3,66 ^{**}	-1,56 ^{ns}
H ₍₂₋₈₎	0,84 ^{ns}	0,00 ^{ns}	8,17 ^{**}	-0,80 ^{ns}	1,62 ^{**}	10,38 ^{**}	0,01 ^{ns}	14,38 ^{**}	2,10 ^{**}	-0,90 ^{**}
H ₍₂₋₉₎	4,51 ^{ns}	-0,37 [*]	-7,16 ^{**}	-0,30 ^{ns}	-2,50 ^{**}	-6,29 ^{**}	-0,37 ^{ns}	-10,39 ^{**}	-0,55 ^{ns}	0,10 ^{ns}
H ₍₂₋₁₀₎	-2,60 ^{ns}	0,28 ^{**}	-11,52 [*]	-0,05 ^{ns}	-3,51 ^{**}	-16,13 ^{**}	0,36 ^{ns}	4,24 ^{**}	6,69 ^{**}	0,70 ^{ns}
H ₍₃₋₁₎	6,31 [*]	-0,57 ^{**}	-10,09 ^{**}	-2,60 ^{**}	-5,19 ^{**}	1,48 ^{**}	-0,43 ^{ns}	-1,69 ^{**}	-3,17 ^{**}	-1,15 ^{ns}
H ₍₃₋₂₎	0,31 ^{ns}	0,42 ^{**}	0,54 ^{ns}	-1,01 ^{ns}	-0,92 ^{ns}	10,81 ^{**}	0,46 ^{ns}	24,31 ^{**}	13,56 ^{**}	4,52 ^{**}
H ₍₃₋₃₎	-2,69 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-18,51 ^{**}	-0,18 ^{ns}	-5,58 ^{**}	8,14 ^{**}	-0,26 ^{ns}	9,21 ^{**}	3,63 ^{**}	-0,09 ^{ns}
H ₍₃₋₄₎	-4,13 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-2,92 [*]	-0,70 ^{ns}	-1,51 ^{**}	-6,69 ^{**}	-0,33 ^{ns}	-10,35 ^{**}	-9,11 ^{**}	-4,13 ^{ns}
H ₍₃₋₅₎	3,64 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	10,43 ^{**}	1,59 ^{**}	5,13 ^{**}	0,64 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	6,50 ^{**}	3,61 ^{**}	-0,04 ^{**}
H ₍₃₋₆₎	12,64 ^{**}	0,29 ^{**}	6,38 ^{**}	0,42 ^{ns}	2,17 ^{**}	12,31 ^{**}	0,17 ^{ns}	14,50 ^{**}	3,77 ^{**}	-1,85 ^{ns}
H ₍₃₋₇₎	-7,58 [*]	-0,35 ^{**}	-3,90 ^{**}	0,76 ^{ns}	-0,74 ^{ns}	-10,94 ^{**}	-0,06 ^{ns}	-6,13 ^{**}	-2,08 ^{**}	0,65 ^{ns}
H ₍₃₋₈₎	-2,69 ^{ns}	0,15 ^{**}	12,38 ^{**}	0,77 ^{ns}	4,30 ^{**}	-11,53 ^{**}	0,20 ^{ns}	-11,33 ^{**}	-1,85 ^{**}	0,06 ^{ns}
H ₍₃₋₉₎	-6,36 ^{ns}	0,13 ^{**}	11,26 ^{**}	1,33 ^{**}	4,42 ^{**}	-4,53 ^{**}	0,53 ^{ns}	12,01 ^{**}	-0,07 ^{ns}	0,66 [*]
H ₍₃₋₁₀₎	0,53 ^{**}	-0,02 ^{ns}	-5,56 ^{**}	-0,38 ^{ns}	-2,07 ^{**}	0,31 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-37,03 ^{**}	-8,29 ^{**}	1,37 ^{ns}

** , * e ns: significativo a 1% , 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($\hat{\sigma}_{ij} = 0$).

Através do Índice FAI-BLUP também foram selecionados os cinco híbridos de maior potencial. Para os experimentos I e III (safras 2016/2017 e 2017/2018 em Nova Porteirinha), foram selecionados os cruzamentos H₁₋₄, H₁₋₅, H₃₋₈, H₁₋₁ e H₁₋₁₀ e para os experimentos II e IV,

(safra 2016/2017 e 2017/2018 em Sete Lagoas), destacaram-se os cruzamentos H₃₋₅, H₂₋₂, H₂₋₅, H₃₋₉ e H₃₋₂. Ressalta-se que cada característica avaliada em cada experimento foi considerada uma nova variável. Para os experimentos I e III (Nova Porteirinha) foram obtidos quatro fatores. O primeiro fator (F₁) agrupou as características DPF, AP e PMS, avaliadas na safra 2017/2018. O segundo fator (F₂) foi composto pelos caracteres DPF, PMV e PMS, safra 2016/2017. O terceiro (F₃) foi formado por PMV e MS, safra 2017/2018. E o fator quatro (F₄) agrupou as características AP e MS, safra 2016/2017. Para os experimentos II e IV (Sete Lagoas) foram obtidos três fatores. O primeiro fator (F₁) agrupou as características AP, safra 2016/2017 e DPF, AP, PMV e MS, safra 2017/018. O segundo fator (F₂) agrupou PMV e PMS, safra 2016/2017 e o terceiro fator, DPF e MS, na safra 2016/2017 e PMS na safra 2017/2018. Na análise de fatores, características agrupadas em um fator apresentam maior correlação entre si do que características de fatores diferentes. Ressalta-se que os híbridos selecionados pela metodologia FAI-BLUP figuram entre aqueles cruzamentos que apresentaram alta CEC em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, considerando simultaneamente as características e safras avaliadas, indicando como esperado a importância dos desvios de dominância na confecção de híbridos.

3.2 Efeito de Local – Experimentos (I e II) e (III e IV)

Nas Tabelas 8 e 9 são apresentados os quadrados médios das análises conjuntas de variância e dialélica conjunta para avaliar o efeito de local, experimentos: (I e III), (II e IV). As estimativas dos coeficientes de variação (CV %) também foram baixas para todas as características, indicando adequada precisão experimental.

Tabela 8. Resumo da análise de variância e dialélica conjunta para as variáveis dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), para os híbridos, genitores e testemunhas de sorgo biomassa, em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, na safra 2016/2017.

FV	Quadrado Médio					
	GL	DPF	AP	PMV	MS	PMS
Local (L)	1	5845,98**	4,02**	87146,63**	2078,25**	20921,41**
Tratamentos (Trat)	48	2575,08**	4,98**	5044,33**	38,38**	597,43**
Testemunhas (Test)	5	187,57**	0,14**	1541,02**	3,60 ^{ns}	180,92**
Genitores (G)	12	5112,24**	14,23**	5172,91**	127,67**	675,68**
Grupo I (GI)	2	18,18 ^{ns}	0,62**	213,17**	39,51**	6,36 ^{ns}
Grupo II (GII)	9	520,56**	0,62**	1587,84**	32,70**	129,76**
GI vs GII	1	56625,24**	163,96**	47358,0**	1158,73**	6927,61**

Continuação Tabela 8

Híbridos (H)	29	1168,98**	0,34**	1504,10**	6,95**	166,40**
CGC (GI)	2	3063,48**	1,23**	1324,91**	5,11 ^{ns}	100,64**
CGC (GII)	9	1738,74**	0,23**	3300,74**	5,52 ^{ns}	347,77**
CEC	18	673,56**	0,30**	625,68**	7,88**	83,02**
Trat x L	48	474,41**	0,20**	501,62**	11,50**	91,67**
Test x L	5	169,92**	0,13**	46,64**	2,56 ^{ns}	3,99 ^{ns}
G x L	12	478,08**	0,26**	571,72**	16,82**	80,74**
H x L	29	407,04**	0,21**	431,22**	6,89**	66,49**
CGC (GI) x L	2	70,8**	0,18**	98,15**	2,80 ^{ns}	29,83**
CGC (GII) x L	9	237,78**	0,08**	210,63**	2,05*	34,76**
CEC x L	18	91,84**	0,05**	115,37**	2,36**	15,01**
Resíduo	192	26,52	0,02	6,68	2,87	4,03
Média (H)		134,29	4,66	105,78	35,46	33,02
Média (G)		123,86	3,72	70,95	23,52	31,75
Média (Test)		157,22	4,93	139,81	46,82	32,95
Média Geral		134,33	4,44	100,71	33,68	32,67
CV(%)		3,83	3,23	2,56	5,18	5,95

** , * e ns: significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F.

Tabela 9. Resumo da análise de variância e dialélica conjunta para as variáveis dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), para os híbridos, genitores e testemunhas de sorgo biomassa, em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, na safra 2017/2018.

FV	Quadrado Médio					
	GL	DPF	AP	PMV	MS	PMS
Local (L)	1	4095,02**	11,39**	1703,11 ^{ns}	1603,63**	1748,85 ^{ns}
Tratamentos (Trat)	55	3254,77**	4,36**	4707,25**	79,03**	507,95**
Testemunhas (Test)	1	8910,75**	0,15 ^{ns}	30792,16**	62,43**	3748,87**
Genitores (G)	13	6258,27**	13,31**	4819,63**	188,65**	558,26**
Grupo I (GI)	3	93,39*	0,47**	243,36 ^{ns}	12,60 ^{ns}	12,0 ^{ns}
Grupo II (GII)	9	462,38**	0,32**	618,39**	35,26**	85,16**
GI vs GII	1	76916**	168,84**	56359,49**	2097,29**	6454,93**
Híbridos (H)	39	2109,91**	0,54**	1814,01**	41,99**	198,32**
CGC (GI)	3	1676,86**	0,54**	6940,6**	49,47**	434,61**
CGC (GII)	9	1343,66**	0,2**	2498,95**	66,55**	190,06**
CEC	27	2413,44**	0,66**	1016,08**	32,98**	174,81**
Trat x L	55	67,72**	0,20**	770,46**	20,62**	90,24**
Test x L	1	90,75 ^{ns}	0,04 ^{ns}	1329,94**	0,08 ^{ns}	717,34**
G x L	13	63,02*	0,17**	4819,3**	9,53*	55,50**
H x L	39	71,63**	0,2**	834,90**	6,89**	79,02**
CGC (GI) x L	3	20,29 ^{ns}	0,09*	539,22**	7,56**	69,75**
CGC (GII) x L	9	22,43*	0,06**	142,12**	11,29**	106,43**

Continuação Tabela 9.

CEC x L	27	24,76**	0,07**	294,70**	7,55**	70,91**
Resíduo	220	31,12	0,8	96,0	5,10	9,30
Média (H)		132,58	4,10	98,96	30,54	29,10
Média (G)		123,62	3,28	60,23	29,14	18,11
Média (Test)		120,58	4,36	99,70	32,68	38,32
Média Geral		129,81	3,90	89,30	30,27	26,67
CV(%)		4,29	7,11	2,56	7,45	11,43

** , * e ns: significativo a 1% e 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F.

Para os efeitos de tratamentos (testemunhas, genitores e híbridos) houve significância ($p < 0,01$) para todos os caracteres, em ambas as safras, evidenciando ampla variabilidade entre os genótipos (Tabelas 8 e 9). Com o desdobramento do efeito de tratamentos, observou-se que os genitores e híbridos apresentaram efeitos significativos para todos os caracteres e que as testemunhas apresentaram efeito significativo para a maioria deles, com exceção de MS na safra 2016/2017 e para AP na safra 2017/2018. Também se observou efeito significativo para o contraste GI *vs* GII, indicando que a média das linhagens do grupo I difere da média das linhagens do grupo II para todas as características avaliadas. O efeito de local onde os experimentos foram realizados também foi significativo ($p < 0,01$) para a maioria das características, com exceção de PMV e PMS na safra 2017/2018. Os efeitos de CGC para o grupo I (linhagens A) e para o grupo II (linhagens R) foram significativos para quase todos os caracteres, exceto MS na safra 2016/2017. Em relação à capacidade específica de combinação (CEC), esta foi significativa para todos os caracteres.

Houve efeito significativo ($p < 0,01$) para a interação Tratamentos x Local (Trat x L) para todas as características em ambas as safras, o que indica comportamento diferenciado dos genótipos nos diferentes locais. A presença de interação Trat x L significativa pode ser atribuída a fatores previsíveis, como: manejo de solo, pragas e doenças, irrigação suplementar, adubação de base, dentre outros; e imprevisíveis como: precipitação, temperatura, umidade relativa do ar e radiação solar ao longo do ciclo da cultura, nestes ambientes. Resultados similares foram observados por Silva et al. (2009), Almeida Filho et al. (2010), Cysne e Pitombeira (2012), Tardin et al. (2013), Teodoro et al. (2016) e Batista et al. (2017) ao investigarem a interação Trat x L do sorgo em diversos locais no Brasil. A interação Trat x L quando desdobrada apresentou efeitos significativos para G x L e H x L para todos os caracteres. Observou-se significância para a interação CGC x L para a maioria das características, em ambos os grupos, com exceção apenas de MS, que foi não significativa para a interação de CGC do grupo I com local, safra 2016/2017 e de DPF para CGC do grupo

I com local na safra 2017/2018. A presença de interação significativa para CGC x L para alguns caracteres indica que o efeito aditivo dos alelos doados pelos genitores é alterado em função do ambiente. Além disso o efeito da interação CEC x L também foi significativo para todas as características.

Considerando as estimativas dos efeitos de CGC (Tabela 10) para os genitores do grupo I (\hat{g}_i) em Nova Porteirinha (NP) e Sete Lagoas (SL), na safra 2016/2017, a linhagem BR007A bmr apresentou os maiores valores positivos e significativos para DPF em NP (10,33) e SL (6,16), para AP em SL (0,19), para PMV em NP (7,31) e SL (2,99) e PMS em NP (2,79) e a linhagem CMSXS156A bmr (2) apresentou os melhores resultados para AP em NP (0,11) e PMS em SL (0,61). Dessa maneira, as linhagens BR007A bmr e CMSXS156A bmr se destacaram dentre as linhagens do grupo I, na safra 2016/2017.

Tabela 10. Estimativas da capacidade geral de combinação dos grupos I (\hat{g}_i) e II (\hat{g}_j), quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, na safra 2016/2017.

Genótipo	Nova Porteirinha					Sete Lagoas				
	Grupo I (G ₁)					Grupo II (G ₂)				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
BR007A bmr (1)	10,33**	0,02 ^{ns}	7,31**	0,14 ^{ns}	2,79**	6,16**	0,19**	2,99**	-0,71**	0,14 ^{ns}
CMSXS156A bmr (2)	-5,97**	0,11**	-3,37**	-0,29 ^{ns}	-1,56**	-2,84**	0,06**	1,17**	0,27 ^{ns}	0,61**
CMSXS157A bmr (3)	-4,37**	-0,09**	-3,95**	0,15 ^{ns}	-1,23**	-3,31**	-0,24**	-4,16**	0,45**	-0,75**
201635B004 bmr (1)	-5,23**	-0,03 ^{ns}	-6,23**	-0,73 ^{ns}	-2,89**	-3,68 ^{ns}	-0,23**	-11,11**	0,66 ^{ns}	-2,63**
201635B005 bmr (2)	26,21**	0,21**	19,43**	-1,44 ^{ns}	5,02**	4,99**	0,05 ^{ns}	12,30**	-0,33 ^{ns}	3,35**
201635B006 bmr (3)	5,10**	0,17**	20,81**	0,13 ^{ns}	7,74**	8,66**	0,05 ^{ns}	11,28**	-0,87**	2,43**
201635B007 bmr (4)	5,77**	0,08 ^{ns}	20,74**	0,46 ^{ns}	8,13**	1,10 ^{ns}	0,23**	5,26**	-1,08**	0,51 ^{ns}
201635B008 bmr (5)	8,66**	-0,12**	3,69**	0,38 ^{ns}	1,86**	3,32 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	22,60**	1,60**	8,47**
201635B009 bmr (6)	-32,79**	0,01 ^{ns}	-19,83**	-0,03 ^{ns}	-7,21**	-6,34**	-0,04 ^{ns}	-2,22**	0,67 ^{ns}	-0,10 ^{ns}
201635B010 bmr (7)	-13,79*	-0,20**	-9,50**	-0,16 ^{ns}	-3,59**	-1,46 ^{ns}	0,30**	-12,40**	-0,98**	-4,52**
201635B011 bmr (8)	6,88**	-0,29**	6,32**	0,23 ^{ns}	2,69**	2,99**	-0,12**	-2,32**	-0,05 ^{ns}	-0,73 ^{ns}
201635B012 bmr (9)	-3,57**	0,06 ^{ns}	-10,79**	-0,14 ^{ns}	-4,24**	-9,68**	-0,10**	-8,97**	0,65 ^{ns}	-2,17**
201635B013 bmr (10)	2,77**	0,12**	-24,64**	1,29 ^{ns}	-7,50**	0,10 ^{ns}	-0,00 ^{ns}	-14,41**	-0,26 ^{ns}	-4,60**

** , * e ns: significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($H_0: \hat{g}_i = 0; \hat{g}_j = 0$).

Em relação aos valores de CGC para os genitores do grupo I (\hat{g}_i) em Nova Porteirinha (NP) e Sete Lagoas (SL), na safra 2017/2018 (Tabela 11), destacou-se em Nova Porteirinha para a característica DPF a linhagem CMSXS157A bmr, e em Sete Lagoas não houve linhagem com valor de CGC (I) significativa. Para AP nenhuma linhagem apresentou valor significativo em ambos os locais. Em relação a variável PMV e MS destacou-se a linhagem

BR007A bmr, pois esta apresentou alto valor de CGC positivo e significativo em ambos locais. E para PMS, destacou-se a linhagem CMSXS157A bmr em Nova Porteirinha e a linhagem TX635A em Sete Lagoas. Observou-se que a linhagem BR007A bmr apresentou o melhor resultado de CGC para a maioria das características na safra 2017/2018.

Tabela 11. Estimativas da capacidade geral de combinação dos grupos I (\hat{g}_i) e II (\hat{g}_j), quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, na safra 2017/2018.

Genótipo	Nova Porteirinha					Sete Lagoas				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
BR007A bmr (1)	-0,24 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	7,81 ^{**}	3,12 ^{**}	-0,16 ^{ns}	0,59 ^{**}	0,05 ^{ns}	22,83 ^{**}	4,29 ^{**}	-1,37 ^{**}
CMSXS156A bmr (2)	-0,51 ^{**}	0,04 ^{ns}	-9,08 ^{**}	-3,15 ^{**}	-1,13 ^{**}	-2,88 ^{**}	-0,09 ^{ns}	-10,49 ^{**}	-1,84 ^{**}	-0,49 [*]
CMSXS157A bmr (3)	7,46 ^{**}	-0,06 ^{ns}	-0,84 ^{**}	1,73 ^{**}	1,19 ^{**}	6,69 ^{**}	-0,15 ^{ns}	-6,36 ^{**}	-1,48 ^{**}	0,36 ^{ns}
TX635A bmr (4)	-6,71 ^{**}	0,05 ^{ns}	2,11 ^{**}	-1,69 ^{**}	0,10 ^{ns}	-4,41 ^{**}	0,19 ^{ns}	-5,98 ^{**}	-0,97 ^{**}	1,50 ^{**}
201635B004 bmr (1)	-0,91 ^{**}	0,10 ^{ns}	-9,91 ^{**}	-1,71 ^{**}	0,98 ^{**}	-2,74 ^{**}	-0,15 ^{ns}	-25,27 ^{**}	-6,47 ^{**}	0,61 ^{ns}
201635B005 bmr (2)	-1,91 ^{**}	-0,14 ^{ns}	-9,31 ^{**}	-3,43 ^{**}	-2,13 ^{**}	-0,74 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-5,05 ^{**}	-1,85 ^{**}	0,74 ^{ns}
201635B006 bmr (3)	-5,49 ^{**}	-0,06 ^{ns}	-5,78 ^{**}	0,00 ^{ns}	-0,96 ^{**}	-10,41 ^{**}	0,03 ^{ns}	-11,16 ^{**}	-3,60 ^{**}	-0,09 ^{ns}
201635B007 bmr (4)	4,51 ^{**}	0,11 ^{ns}	20,24 ^{**}	1,31 ^{**}	-2,63 ^{**}	9,43 ^{**}	0,03 ^{ns}	19,61 ^{**}	2,82 ^{**}	-3,79 ^{**}
201635B008 bmr (5)	-5,08 ^{**}	-0,03 ^{ns}	8,46 ^{**}	0,62 ^{**}	-0,65 [*]	-1,91 ^{**}	0,29 ^{ns}	9,02 ^{**}	3,64 ^{**}	0,98 ^{**}
201635B009 bmr (6)	-16,66 ^{**}	-0,26 ^{ns}	-1,92 ^{**}	-4,98 ^{**}	-4,06 ^{**}	-13,24 ^{**}	-0,06 ^{ns}	3,17 ^{**}	-0,83 [*]	0,08 ^{ns}
201635B010 bmr (7)	8,42 ^{**}	0,15 ^{ns}	0,92 ^{**}	2,06 ^{**}	1,02 ^{**}	8,34 ^{**}	-0,04 ^{ns}	-7,00 ^{**}	-1,70 ^{**}	0,07 ^{ns}
201635B011 bmr (8)	8,09 ^{**}	0,08 ^{ns}	-3,72 ^{**}	-1,64 ^{**}	2,65 ^{**}	3,59 ^{**}	0,00 ^{ns}	5,35 ^{**}	2,43 ^{**}	1,54 ^{**}
201635B012 bmr (9)	2,84 ^{**}	-0,04 ^{ns}	-4,48 ^{**}	-0,39 ^{ns}	1,99 ^{**}	0,59 ^{ns}	0,03 ^{ns}	8,80 ^{**}	3,98 ^{**}	-0,34 ^{ns}
201635B013 bmr (10)	6,17 ^{**}	0,10 ^{ns}	5,49 ^{**}	8,15 ^{**}	3,79 ^{**}	7,09 ^{**}	0,01 ^{ns}	2,54 ^{**}	1,58 ^{**}	0,19 ^{ns}

** , * e ns: significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($H_0: \hat{g}_i = 0; \hat{g}_j = 0$).

Para a capacidade de combinação das linhagens do grupo II (\hat{g}_j), na safra 2016/2017 (Tabela 10), em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, destacou-se para a característica DPF a linhagem 201635B005 bmr. Para AP as linhagens 201635B005 bmr e 201635B006 bmr apresentaram o maior efeito positivo e significativo em Nova Porteirinha e em Sete Lagoas foram as linhagens 201635B007 bmr 201635B010 bmr. Em relação a variável PMV, destacou-se em Nova Porteirinha e Sete Lagoas as linhagens 201635B005 bmr e 201635B006 bmr, pois esta apresentou alto valor de CGC positivo e significativo nos dois ambientes. Para MS nenhuma linhagem destacou-se em Nova Porteirinha e apenas a linhagem 201635B008 bmr apresentou valor positivo e significativo em Sete Lagoas. E para a variável PMS, as linhagens 201635B005 bmr, 201635B006 bmr e 201635B007 bmr apresentaram contribuição

satisfatória para a frequência de alelos favoráveis em Nova Porteirinha e as linhagens 201635B005 bmr e 201635B008 bmr em Sete Lagoas. Dessa maneira, observou-se que as linhagens 201635B005 bmr, 201635B006 bmr, 201635B007 bmr e 201635B008 bmr apresentaram a melhor capacidade geral de combinação para a maioria das variáveis na safra 2016/2017, nos dois locais avaliados. Para as linhagens pertencentes ao grupo II (\hat{g}_j), na safra 2017/2018, (Tabela 11), destacou-se para a característica DPF as linhagens 201635B007 bmr e 201635B010 bmr em ambos os locais. Para AP não houve nenhuma linhagem com valor de CGC (II) significativo. Para PMV destacou-se as linhagens 201635B007 bmr e 201635B008 bmr em ambos locais, para MS as linhagens 201635B007 bmr e 201635B013 bmr que também apresentaram valores positivos e significativos em ambos locais e para PMS destacou-se a linhagem 201635B011 bmr para os dois locais. Através destes resultados foi observado que as linhagens 201635B007 bmr, 201635B008 bmr, 201635B010 bmr, 201635B011 bmr e 201635B013 bmr se destacaram dentre as linhagens R, quando se avaliou o efeito de local.

Para as estimativas de CEC na safra 2016/2017 (Tabela 12), destacou-se para DPF os híbridos H₁₋₄, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₃, H₂₋₅, H₂₋₇, H₃₋₁, H₃₋₆, e H₃₋₉, enquanto que em Sete Lagoas também apresentaram destaque os híbridos H₂₋₇, H₃₋₁ e H₃₋₆. Para a característica AP os híbridos H₁₋₅, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₆, H₃₋₆ e H₃₋₈, para Sete Lagoas H₁₋₁, H₁₋₃, H₁₋₇, H₂₋₁, H₂₋₁₀, H₃₋₂, H₃₋₆, H₃₋₈ e H₃₋₉. Para PMV, destacaram-se em Nova Porteirinha, os híbridos H₁₋₇, H₁₋₉, H₂₋₂, H₂₋₄, H₂₋₈, H₂₋₁₀, H₃₋₅, H₃₋₆, e H₃₋₈ e em Sete Lagoas H₁₋₃, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₁, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₈, H₃₋₅, H₃₋₆, H₃₋₈ e H₃₋₉. Em relação à MS, para Nova Porteirinha, destacaram-se os híbridos H₁₋₄, H₁₋₁₀ e H₂₋₁₀, e em Sete Lagoas H₂₋₁, H₃₋₅ e H₃₋₉. Já para PMS, em Nova Porteirinha, H₁₋₁, H₁₋₇, H₁₋₉, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₈, H₃₋₃, H₃₋₆ e H₃₋₈ e em Sete Lagoas H₁₋₃, H₁₋₆, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₁, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₈, H₃₋₅, H₃₋₆, H₃₋₈ e H₃₋₉.

Tabela 12. Estimativa da capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, na safra 2016/2017.

Híbridos	Nova Porteirinha					Sete Lagoas				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
H ₍₁₋₁₎	-9,67**	0,11 ^{ns}	6,73**	1,82 ^{ns}	4,58**	-0,82 ^{ns}	0,22**	-7,40**	0,67 ^{ns}	-1,78**
H ₍₁₋₂₎	0,56 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-4,11*	-0,19 ^{ns}	-1,76 ^{ns}	-0,49 ^{ns}	-0,32**	-14,30**	0,58 ^{ns}	-3,67*
H ₍₁₋₃₎	-3,33 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-4,78*	-2,42*	-5,19**	0,51 ^{ns}	0,13**	6,69**	0,02 ^{ns}	1,92**
H ₍₁₋₄₎	7,00*	-0,05 ^{ns}	-10,99**	3,22**	0,64 ^{ns}	1,73 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	2,75*	-0,32 ^{ns}	0,50 ^{ns}
H ₍₁₋₅₎	2,11 ^{ns}	0,23**	3,60*	-0,16 ^{ns}	1,19 ^{ns}	-2,16 ^{ns}	0,03 ^{ns}	2,02**	-1,69**	-1,33**

Continuação Tabela 12.

H ₍₁₋₆₎	-23,11**	-0,42**	-2,32 ^{ns}	-0,59 ^{ns}	-1,44 ^{ns}	-5,16 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	4,44**	0,76 ^{ns}	2,13**
H ₍₁₋₇₎	22,89**	0,44**	11,28**	-0,60 ^{ns}	3,34**	0,62 ^{ns}	0,23**	13,42**	0,55 ^{ns}	4,47**
H ₍₁₋₈₎	1,56**	-0,38**	-18,86**	-1,10 ^{ns}	-8,17**	1,84 ^{ns}	-0,16**	-20,55**	0,03 ^{ns}	-5,92**
H ₍₁₋₉₎	-7,67 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	14,51**	-2,54**	2,08**	1,84 ^{ns}	0,25**	-4,10**	-1,02 ^{ns}	-1,92**
H ₍₁₋₁₀₎	9,67**	0,14**	4,95*	2,57**	4,72**	2,07 ^{ns}	-0,30**	17,07**	0,43 ^{ns}	5,58**
H ₍₂₋₁₎	-3,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-10,73**	-1,13 ^{ns}	-5,03**	-5,49**	0,35**	17,50**	1,94**	6,96**
H ₍₂₋₂₎	0,52 ^{ns}	0,00 ^{ns}	13,82**	0,63 ^{ns}	5,66**	0,18 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	13,76**	0,43 ^{ns}	4,59*
H ₍₂₋₃₎	8,63*	-0,04 ^{ns}	0,46 ^{ns}	2,21 ^{ns}	0,75**	2,18 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	11,82**	0,16 ^{ns}	3,66**
H ₍₂₋₄₎	-7,03*	-0,06 ^{ns}	8,19**	-0,10 ^{ns}	2,83 ^{ns}	2,40 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,21 ^{ns}	1,01 ^{ns}	1,01 ^{ns}
H ₍₂₋₅₎	4,08**	0,02 ^{ns}	-8,69**	-2,56 ^{ns}	-1,38**	-1,49 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-12,45**	0,10 ^{ns}	-3,80**
H ₍₂₋₆₎	-12,14*	0,27**	-6,06**	-1,05 ^{ns}	-3,24 ^{ns}	-7,49**	-0,25**	-10,81**	-1,17**	-4,30*
H ₍₂₋₇₎	16,86**	-0,12 ^{ns}	-11,66**	-3,96 ^{ns}	-4,69**	6,96**	0,12 ^{ns}	-9,52**	-1,31**	-3,73**
H ₍₂₋₈₎	-0,48 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	8,49*	2,30 ^{ns}	3,02**	0,84 ^{ns}	0,00 ^{ns}	8,17**	-0,80 ^{ns}	1,62**
H ₍₂₋₉₎	1,97 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-3,20*	1,41 ^{ns}	0,94 ^{ns}	4,51 ^{ns}	-0,37*	-7,16**	-0,30 ^{ns}	-2,50**
H ₍₂₋₁₀₎	-9,37*	-0,17**	9,38**	0,92*	4,49 ^{ns}	-2,60 ^{ns}	0,28**	-11,52*	-0,05 ^{ns}	-3,51**
H ₍₃₋₁₎	12,70**	-0,14**	4,0*	0,45 ^{ns}	1,73 ^{ns}	6,31*	-0,57**	-10,09**	-2,60**	-5,19**
H ₍₃₋₂₎	-1,08 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-9,71*	-3,90 ^{ns}	-1,25**	0,31 ^{ns}	0,42**	0,54 ^{ns}	-1,01 ^{ns}	-0,92 ^{ns}
H ₍₃₋₃₎	-5,30**	-0,01 ^{ns}	4,32*	2,98 ^{ns}	3,69*	-2,69 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-18,51**	-0,18 ^{ns}	-5,58**
H ₍₃₋₄₎	0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	2,80**	-0,74 ^{ns}	-3,25 ^{ns}	-4,13 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-2,92*	-0,70 ^{ns}	-1,51**
H ₍₃₋₅₎	-6,19 ^{ns}	-0,25**	5,09*	1,37 ^{ns}	1,92 ^{ns}	3,64 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	10,43**	1,59**	5,13**
H ₍₃₋₆₎	35,26**	0,15**	8,38**	2,49 ^{ns}	2,29**	12,64**	0,29**	6,38**	0,42 ^{ns}	2,17**
H ₍₃₋₇₎	-39,74**	-0,32**	0,38 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-7,58*	-0,35**	-3,90**	0,76 ^{ns}	-0,74 ^{ns}
H ₍₃₋₈₎	-1,08 ^{ns}	0,39**	10,37**	5,87 ^{ns}	5,21**	-2,69 ^{ns}	0,15**	12,38**	0,77 ^{ns}	4,30**
H ₍₃₋₉₎	5,70**	-0,06 ^{ns}	-11,31*	-3,49 ^{ns}	-4,30**	-6,36 ^{ns}	0,13**	11,26**	1,33**	4,42**
H ₍₃₋₁₀₎	-0,30 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-14,33**	-5,64 ^{ns}	-6,10**	0,53**	-0,02 ^{ns}	-5,56**	-0,38 ^{ns}	-2,07**

** , * e ns: significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($\hat{\sigma}_{ij} = 0$).

Em relação às estimativas de CEC na safra 2017/2018 (Tabela 13), para DPF os híbridos H₁₋₁, H₁₋₃, H₁₋₅, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₅, H₃₋₂, H₃₋₆, H₄₋₂ e H₄₋₆ se destacaram em Nova Porteirinha e os híbridos H₁₋₁, H₁₋₃, H₁₋₅, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₈, H₃₋₂, H₃₋₆, H₄₋₂, H₄₋₆ e H₄₋₉ em Sete Lagoas. Para AP nenhum híbrido apresentou valor significativo em ambos os locais. Para PMV, alguns híbridos apresentaram resultados satisfatórios em Nova Porteirinha, H₁₋₄, H₁₋₉, H₂₋₂, H₂₋₃, H₃₋₂ e H₄₋₇, e em Sete Lagoas, destacaram-se os híbridos H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₁₋₇, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₄, H₂₋₈, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₆ e H₃₋₉. Para MS em Nova Porteirinha, os híbridos H₁₋₂, H₁₋₄, H₁₋₉, H₂₋₂, H₃₋₂, H₃₋₆ e H₃₋₈, e em Sete Lagoas H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₂₋₈, H₂₋₁₀, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₅, H₃₋₆, H₄₋₁, H₄₋₇, H₄₋₈, H₄₋₉ e H₄₋₁₀. E para PMS, em Nova Porteirinha, H₁₋₁, H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₅, H₁₋₉, H₂₋₅, H₂₋₇, H₂₋₈, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₅, H₃₋₆, H₄₋₂, H₄₋₄, H₄₋₆, H₄₋₉ e H₄₋₁₀ e para Sete Lagoas, H₁₋₃, H₁₋₄, H₁₋₈, H₂₋₁, H₂₋₂, H₃₋₂ e H₃₋₉. Considerando simultaneamente os caracteres e os dois locais avaliados na safra 2016/2017 e 2017/2018, destacaram-se os cruzamentos H₁₋₃, H₁₋₅, H₁₋₇, H₁₋₉, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₃, H₂₋₈, H₃₋₂, H₃₋₆ e H₃₋₈.

Tabela 13. Estimativa da capacidade específica de combinação (\hat{S}_{ij}) quanto à dias para florescimento (DAF, dias), altura de plantas (AP, m), produção de massa verde total (PMV, ton.ha⁻¹), matéria seca total (MS, %) e produção de matéria seca total (PMS, ton.ha⁻¹), em Nova Porteirinha e Sete Lagoas, na safra 2017/2018.

Híbridos	Nova Porteirinha					Sete Lagoas				
	DPF	AP	PMV	MS	PMS	DPF	AP	PMV	MS	PMS
H ₍₁₋₁₎	9,57**	0,08 ^{ns}	5,50**	-5,93**	2,90**	10,91**	0,01 ^{ns}	-8,66**	-0,47 ^{ns}	-0,18 ^{ns}
H ₍₁₋₂₎	-51,09**	-0,89 ^{ns}	-37,48**	15,78**	-5,53**	-51,76**	-0,96 ^{ns}	-35,62**	-13,33**	-6,79**
H ₍₁₋₃₎	25,49**	0,34 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	6,05**	2,32**	14,58**	0,29 ^{ns}	22,80**	4,10**	1,26**
H ₍₁₋₄₎	2,16**	0,16 ^{ns}	25,25**	10,21**	2,26**	4,07**	0,00 ^{ns}	13,26**	13,18**	4,42**
H ₍₁₋₅₎	20,08**	0,37 ^{ns}	6,41**	3,27**	1,51*	21,08**	0,04 ^{ns}	29,04**	5,20**	-1,61**
H ₍₁₋₆₎	-28,34**	-0,43 ^{ns}	-8,69**	-3,42**	-1,48*	-11,26**	0,29 ^{ns}	-5,64**	-3,28**	1,26 ^{ns}
H ₍₁₋₇₎	9,24**	0,02 ^{ns}	-22,38**	-8,72**	-1,71**	8,16**	0,55 ^{ns}	10,31**	4,34**	-0,30 ^{ns}
H ₍₁₋₈₎	-3,09**	0,03 ^{ns}	4,64**	-1,03*	-3,85**	-7,43**	-0,20 ^{ns}	-18,66**	-1,83**	1,45*
H ₍₁₋₉₎	3,16**	0,05 ^{ns}	40,38**	7,14**	3,09**	-1,76**	-0,09 ^{ns}	-20,63**	-5,42**	0,80 ^{ns}
H ₍₁₋₁₀₎	12,83**	0,25 ^{ns}	-13,63**	-3,65**	0,51 ^{ns}	13,41**	0,08 ^{ns}	13,79**	-2,49**	-0,32 ^{ns}
H ₍₂₋₁₎	-9,16**	0,04 ^{ns}	-4,01**	-2,85**	0,34 ^{ns}	-6,29**	0,26 ^{ns}	3,34**	0,26 ^{ns}	1,47*
H ₍₂₋₂₎	22,18**	0,34 ^{ns}	18,73**	9,57**	0,89 ^{ns}	17,71**	0,28 ^{ns}	9,71**	-0,53 ^{ns}	2,50**
H ₍₂₋₃₎	11,76**	0,37 ^{ns}	11,93**	1,06*	-0,49 ^{ns}	14,38**	-0,09 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,28 ^{ns}	-1,45*
H ₍₂₋₄₎	-0,24 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-14,30**	-3,98**	-0,51 ^{ns}	-1,13 ^{ns}	0,27 ^{ns}	8,87**	-0,41 ^{ns}	-1,35**
H ₍₂₋₅₎	11,01**	0,20 ^{ns}	-1,11**	4,93**	3,40*	16,21**	0,08 ^{ns}	-17,37**	-4,97**	0,39 ^{ns}
H ₍₂₋₆₎	-14,41**	-0,67 ^{ns}	3,65**	-3,96**	-6,98**	-31,13**	-0,54 ^{ns}	-10,35**	0,78 ^{ns}	0,10 ^{ns}
H ₍₂₋₇₎	-2,49**	-0,05 ^{ns}	4,02**	2,12**	1,53**	2,29**	-0,24 ^{ns}	-3,25**	-3,66**	-1,56 ^{ns}
H ₍₂₋₈₎	-1,16**	0,09 ^{ns}	-2,42**	-1,55**	3,49**	10,38**	0,01 ^{ns}	14,38**	2,10**	-0,90**
H ₍₂₋₉₎	-3,24**	-0,36 ^{ns}	-16,73**	-5,10**	-0,98 ^{ns}	-6,29**	-0,37 ^{ns}	-10,39**	-0,55 ^{ns}	0,10 ^{ns}
H ₍₂₋₁₀₎	-14,24**	0,18 ^{ns}	0,24 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	-0,70**	-16,13**	0,36 ^{ns}	4,24**	6,69**	0,70 ^{ns}
H ₍₃₋₁₎	0,21 ^{ns}	-0,22 ^{ns}	1,80**	-1,48**	-0,86 ^{ns}	1,48**	-0,43 ^{ns}	-1,69**	-3,17**	-1,15 ^{ns}
H ₍₃₋₂₎	9,54**	0,25 ^{ns}	19,11**	6,31**	1,28**	10,81**	0,46 ^{ns}	24,31**	13,56**	4,52**
H ₍₃₋₃₎	4,79**	0,10 ^{ns}	-14,47**	-3,28**	3,89**	8,14**	-0,26 ^{ns}	9,21**	3,63**	-0,09 ^{ns}
H ₍₃₋₄₎	-8,87**	-0,17 ^{ns}	-11,18**	-0,46 ^{ns}	-4,30**	-6,69**	-0,33 ^{ns}	-10,35**	-9,11**	-4,13 ^{ns}
H ₍₃₋₅₎	4,04**	-0,13 ^{ns}	-2,85**	-6,20**	1,22*	0,64 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	6,50**	3,61**	-0,04**
H ₍₃₋₆₎	13,63**	0,47 ^{ns}	6,30**	6,46**	3,32**	12,31**	0,17 ^{ns}	14,50**	3,77**	-1,85 ^{ns}
H ₍₃₋₇₎	-10,46**	-0,01 ^{ns}	6,52**	0,24 ^{ns}	-0,71 ^{ns}	-10,94**	-0,06 ^{ns}	-6,13**	-2,08**	0,65 ^{ns}
H ₍₃₋₈₎	-0,79 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,29 ^{ns}	4,71**	1,37**	-11,53**	0,20 ^{ns}	-11,33**	-1,85**	0,06 ^{ns}
H ₍₃₋₉₎	-6,21**	0,21 ^{ns}	-11,27**	-5,77**	-3,85**	-4,53**	0,53 ^{ns}	12,01**	-0,07 ^{ns}	0,66*
H ₍₃₋₁₀₎	-5,87**	-0,32 ^{ns}	5,76**	-0,53**	-1,36**	0,31 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-37,03**	-8,29**	1,37 ^{ns}
H ₍₄₋₁₎	-0,63 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-3,29**	-1,60**	-2,39**	-6,09**	0,16 ^{ns}	7,01**	3,38**	-0,14 ^{ns}
H ₍₄₋₂₎	19,38**	0,30 ^{ns}	-0,36 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	3,36**	23,24**	0,23 ^{ns}	1,60**	0,29 ^{ns}	-0,24 ^{ns}
H ₍₄₋₃₎	-42,04**	-0,81 ^{ns}	2,57**	-3,83**	-5,72**	-37,09**	0,06 ^{ns}	-32,83**	-8,01**	0,27 ^{ns}
H ₍₄₋₄₎	6,96**	0,15 ^{ns}	0,22 ^{ns}	-5,78**	2,55**	3,74**	0,06 ^{ns}	-11,77**	-3,65**	1,06 ^{ns}
H ₍₄₋₅₎	-35,13**	-0,44 ^{ns}	-2,45**	-2,00**	-6,13**	-37,93**	-0,04 ^{ns}	-18,17**	-3,85**	1,26 ^{ns}
H ₍₄₋₆₎	29,13**	0,62 ^{ns}	-1,26**	0,93 ^{ns}	5,15**	30,08**	0,08 ^{ns}	1,49**	-1,28 ^{ns}	0,50 ^{ns}
H ₍₄₋₇₎	3,71**	0,04 ^{ns}	11,84**	6,36**	0,89*	0,49**	-0,25 ^{ns}	-0,93 ^{ns}	1,40*	1,21 ^{ns}
H ₍₄₋₈₎	5,04**	0,05 ^{ns}	-2,51**	-2,13**	-1,01*	8,57**	-0,01 ^{ns}	15,60**	1,58**	-0,61 ^{ns}
H ₍₄₋₉₎	6,29**	0,10 ^{ns}	-12,39**	3,73**	1,75**	12,58**	-0,08 ^{ns}	19,01**	6,05**	-1,56**
H ₍₄₋₁₀₎	7,29**	-0,10 ^{ns}	7,62**	4,42**	1,55**	2,41**	-0,22 ^{ns}	19,00**	4,09**	-1,74**

** , * e ns: significativo a 1%, 5% de probabilidade e não significativo pelo teste t ($\hat{S}_{ij} = 0$).

Com a utilização do índice FAI-BLUP, para os experimentos I e II (Nova Porteirinha e Sete Lagoas, na safra 2016/2017) foram selecionados os cruzamentos H₂₋₃, H₃₋₈, H₂₋₂, H₁₋₅ e H₁₋₁₀ e para os experimentos III e IV foram selecionados os cruzamentos H₁₋₅, H₁₋₃, H₁₋₇, H₃₋₂ e H₁₋₁₀. Para os experimentos I e II (Safra 2016/2017) foram obtidos quatro fatores. O primeiro fator (F₁) agrupou as características DPF, PMV e PMS em Nova Porteirinha e DPF em Sete Lagoas. O segundo fator (F₂) foi composto por PMV, PMS e MS em Sete Lagoas. O terceiro (F₃) fator foi composto por apenas uma característica, MS em Nova Porteirinha e o quarto fator (F₄), por AP em Nova Porteirinha e AP em Sete Lagoas. Os experimentos III e IV (Safra 2017/2018) foram formados por três fatores. O primeiro fator (F₁) foi composto por DPF, AP, PMV, PMS e MS em Nova Porteirinha e por DPF em Sete Lagoas. O segundo fator (F₂) por AP, PMV e MS em Sete Lagoas e o terceiro fator (F₃) por apenas PMS em Sete Lagoas. Observou-se que os híbridos selecionados pela metodologia FAI-BLUP também figuram entre aqueles cruzamentos que apresentaram alta CEC na safra 2016/2017 e 2017/018.

3.3 Avaliação do teor de lignina na safra 2017/2018

Os valores médios do teor de lignina obtidos na safra 2017/2018 estão apresentados na Tabela 14. Observou-se que em Nova Porteirinha as linhagens CMSXS156A bmr e TX635A bmr apresentaram média inferior e diferença significativa dos outros genitores pertencentes ao grupo I. Em relação aos híbridos, observou-se que em Nova Porteirinha os cruzamentos H₁₋₁, H₁₋₇, H₁₋₉, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₂₋₄, H₂₋₆, H₂₋₇, H₂₋₉, H₂₋₁₀, H₃₋₁, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₅, H₃₋₆, H₃₋₈, H₃₋₁₀, H₄₋₆, H₄₋₇, H₄₋₈, H₄₋₉ e H₄₋₁₀ apresentaram menor teor de lignina e diferença significativa em relação aos demais híbridos avaliados. Já em Sete Lagoas, destacou-se os híbridos H₁₋₂, H₁₋₃, H₁₋₆, H₁₋₇, H₁₋₈, H₁₋₁₀, H₂₋₃, H₂₋₄, H₂₋₅, H₂₋₆, H₂₋₇, H₂₋₈, H₂₋₉, H₂₋₁₀, H₃₋₁, H₃₋₂, H₃₋₃, H₃₋₄, H₃₋₅, H₃₋₆, H₃₋₈, H₃₋₉, H₃₋₁₀, H₄₋₁, H₄₋₂, H₄₋₅, H₄₋₆, H₄₋₇, H₄₋₈, H₄₋₉ e H₄₋₁₀. Desta forma, observou-se que os híbridos com menor porcentagem de lignina estão dentre aqueles que se destacaram entre os quatro experimentos avaliados, observando-se o efeito de safra e local.

Tabela 14. Valores médios do teor de lignina (%) em Nova Porteirinha (NP) e Sete Lagoas (SL) avaliados na safra 2017/2018.

Tratamentos	NP		SL		Tratamentos	NP		SL	
	% Lig		% Lig			% Lig		% Lig	
BR007A bmr	8.25	ab	0.00	d	H ₍₂₋₅₎	6.96	abc	4.08	bc
CMSXS156A bmr	8.03	abc	0.00	d	H ₍₂₋₆₎	6.63	bc	3.80	c
CMSXS157A bmr	8.26	ab	0.00	d	H ₍₂₋₇₎	5.62	bc	4.46	bc
TX635A bmr	7.42	abc	0.00	d	H ₍₂₋₈₎	6.96	abc	4.09	bc
201635B004 bmr	7.09	abc	5.32	abc	H ₍₂₋₉₎	5.81	bc	3.91	bc

Continuação Tabela 14.

201635B005 bmr	7.73	abc	5.86	ab	H ₍₂₋₁₀₎	6.45	bc	4.71	bc
201635B006 bmr	6.74	abc	4.81	bc	H ₍₃₋₁₎	5.54	c	4.50	bc
201635B007 bmr	7.22	abc	4.65	bc	H ₍₃₋₂₎	6.46	bc	4.95	bc
201635B008 bmr	7.22	abc	4.85	bc	H ₍₃₋₃₎	6.36	bc	4.91	bc
201635B009 bmr	6.65	abc	5.27	abc	H ₍₃₋₄₎	6.67	abc	4.77	bc
201635B010 bmr	6.76	abc	4.50	bc	H ₍₃₋₅₎	6.62	bc	4.44	bc
201635B011 bmr	7.04	abc	5.60	abc	H ₍₃₋₆₎	6.46	bc	4.39	bc
201635B012 bmr	6.16	bc	4.68	bc	H ₍₃₋₇₎	6.98	abc	5.01	abc
201635B013 bmr	6.71	abc	4.53	bc	H ₍₃₋₈₎	6.46	bc	4.67	bc
H ₍₁₋₁₎	5.67	bc	5.06	abc	H ₍₃₋₉₎	6.69	abc	4.64	bc
H ₍₁₋₂₎	7.08	abc	1.76	d	H ₍₃₋₁₀₎	6.58	bc	4.06	bc
H ₍₁₋₃₎	7.25	abc	4.64	bc	H ₍₄₋₁₎	6.79	abc	4.51	bc
H ₍₁₋₄₎	6.96	abc	5.28	abc	H ₍₄₋₂₎	7.00	abc	4.92	bc
H ₍₁₋₅₎	6.70	abc	5.02	abc	H ₍₄₋₃₎	7.23	abc	5.13	abc
H ₍₁₋₆₎	7.09	abc	4.73	bc	H ₍₄₋₄₎	6.69	abc	5.38	abc
H ₍₁₋₇₎	6.35	bc	4.75	bc	H ₍₄₋₅₎	6.79	abc	4.98	bc
H ₍₁₋₈₎	6.71	abc	4.75	bc	H ₍₄₋₆₎	6.46	bc	4.80	bc
H ₍₁₋₉₎	6.45	bc	5.55	abc	H ₍₄₋₇₎	6.43	bc	4.98	bc
H ₍₁₋₁₀₎	6.62	bc	4.24	bc	H ₍₄₋₈₎	5.93	bc	4.61	bc
H ₍₂₋₁₎	6.72	abc	5.35	abc	H ₍₄₋₉₎	5.71	bc	4.47	bc
H ₍₂₋₂₎	6.53	bc	5.19	abc	H ₍₄₋₁₀₎	6.23	bc	4.55	bc
H ₍₂₋₃₎	6.94	abc	4.90	bc	BRS716	9.30	a	4.64	bc
H ₍₂₋₄₎	6.48	bc	4.12	bc	N52K1009	8.22	abc	6.97	a

As médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste Duncan a $p < 0,05$ de probabilidade.

3.3 Linhagens A e R selecionadas e o desenvolvimento dos híbridos

Híbridos superiores são obtidos de cruzamentos entre genitores de elevada CGC e que sejam complementares para loci com elevados desvios de dominância (cruzamentos com elevada CEC) (Barelli et al., 2000). É possível verificar que a metodologia FAI-BLUP para a seleção dos híbridos também contempla estes requisitos, pois os híbridos selecionados são oriundos de linhagens do grupo I (BR007A e CMSXS156A) que apresentaram elevada e significativa CGC e que complementaram (CEC elevada e significativa) bem as linhagens do grupo II (201635B005, 201635B006, 201635B007, 201635B008, 201635B010, 201635B011 e 201635B013) também de efeitos de CGC elevados e significativos (Tabela 3). Estes resultados também indicam que estes grupos de linhagens são, respectivamente, as de maior potencial para melhorarem os grupos A e R, visando a obtenção de novas linhagens melhoradas para a

obtenção de híbridos superiores para a produção de etanol de segunda geração. Dessa maneira, observou-se que os híbridos H₁₋₅, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₃₋₂ e H₃₋₈ se destacaram ao ser feito a comparação entre o efeito de safras e o efeito de local (experimentos I, II, III e IV). Foi também observado que ocorreu variação no desempenho médio destes híbridos quanto às características, safras e locais avaliados.

Os resultados obtidos através do índice FAI-BLUP associados aos obtidos pela análise dialélica, corroboram a necessidade e possibilidade de melhorar geneticamente as linhagens dos grupos I (A) e II (R) pela piramidação de alelos favoráveis que se encontram nos diferentes genitores para cada um destes grupos. Assim, as linhagens que apresentam potencial para uso como genitoras para melhorar os grupos A e R são aquelas envolvidas nos cruzamentos que produziram os híbridos de maior potencial (selecionados). Desta forma, destacam-se as linhagens BR007A e CMSXS156A (do grupo I) e as linhagens 201635B005, 201635B006, 201635B007, 201635B008, 201635B010, 201635B011 e 201635B013 (do grupo II) para uso como genitoras para melhorarem, respectivamente, os grupos de linhagens A e R, visando à obtenção futura de híbridos superiores com melhor desempenho para produção de etanol de segunda geração.

É preciso levar em consideração a característica altura de planta em sorgo, pois esta é controlada por quatro genes braquíticos independentes, Dw1, Dw2, Dw3 e Dw4, com fenótipo de planta alta, sendo parcialmente dominante sobre o de plantas baixas (Quinby, 1974). Plantas altas 0-anão podem chegar a 4 metros de altura enquanto tipos 4-anão podem ter somente um metro. É possível que ocorra epistasia recessiva na manifestação do efeito aditivo combinado, de dois ou mais genes para as demais características avaliadas. Ou seja o fenótipo observado dos híbridos pode não ser explicado e nesse caso, o efeito combinado desses genes sobre um fenótipo não pode ser predito, a partir da soma dos seus efeitos individuais (Falconer; Mackay, 1996). A maioria dos estudos de herança dos caracteres quantitativos considera apenas os efeitos aditivos e de dominância nos modelos genético-estatísticos e desconsideram a epistasia por julgá-la um fenômeno raro e de pouca importância, mesmo que as análises não forneçam um teste válido para tal suposição (Kearsey; Jinks, 1968).

O melhoramento de sorgo biomassa deve ser feito individualmente em cada grupo de linhagens (restauradoras - R ou macho-estéreis - A), sendo o melhoramento das linhagens macho-estéreis feito em suas linhagens isogênicas (linhagens B) e, posteriormente, introduzida a macho-esterilidade genético-citoplasmática. Portanto, a identificação de genitores de cada grupo (R e A) que doem alelos que exerçam efeitos desejáveis nos dois locais é uma estratégia promissora para o desenvolvimento de futuros híbridos com ampla adaptabilidade para estes

caracteres. Devido a presença da macho-esterilidade genético-citoplasmática nas linhagens A, o cruzamento entre linhagens macho-estéreis (A) é inviabilizado. Portanto, o melhoramento das linhagens A deve ocorrer através de suas mantenedoras, linhagens isogênicas B, que apresentam citoplasma fértil. Neste caso, cruzamentos múltiplos devem ser realizados para reunir os alelos favoráveis para todos os caracteres em uma única população. Cruzamentos par a par das linhagens mantenedoras (B), com base nas linhagens A selecionadas, devem ser realizados. Tais cruzamentos podem ser feitos manualmente pela emasculação de uma das linhagens e uso do pólen da outra.

4. CONCLUSÃO

O uso da análise dialélica parcial é promissor para o programa de melhoramento de sorgo biomassa para a produção de etanol de segunda geração.

Há existência de variabilidade genética tanto entre as linhagens A quanto R que pode ser explorada através da piramidação de seus alelos favoráveis, visando o desenvolvimento de híbridos superiores para produção de etanol de segunda geração.

Cruzamentos múltiplos devem ser realizados visando reunir os alelos favoráveis para os caracteres avaliados em novas linhagens macho-estéreis e restauradoras de fertilidade.

Os híbridos H₁₋₅, H₁₋₁₀, H₂₋₂, H₃₋₂ e H₃₋₈ se destacaram entre os quatro experimentos avaliados, observando-se o efeito de safra e local.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida Filho JE, Tardin FD, Souza SA, Godinho VPC, Cardoso MJ. 2010. Desempenho agrônomico e estabilidade fenotípica de híbridos de sorgo granífero. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 9: 51-64.
- Amaducci S, Amaducci MT, Benati R, Venturi G. 2000. Crop yield and quality parameters of four annual fibre crops (hemp, kenaf, maize and sorghum) in the North of Italy. *Ind. Crops Prod.* 11: 179-186.
- Barelli MAA, Vidigal MCG, Amaral Júnior AT, Vidigal Filho PS, Scapim CA, Sagrilo E. 2000. Diallel analysis for grain yield and yield components in *Phaseolus vulgaris* L. *Acta Sc Agr.* 22: 883-887.
- Barrière Y, Riboulet C, Méchin V, Maltese S, Pichon M, Cardinal AJ, Lapierre C, Lubberstedt T, Martinant JP. 2007. Genetics and genomics of lignification in grass cell walls based on maize as a model system. *Gen, Genom and Genomics.* 1:133-156.
- Batista PSC, Menezes CB de, Carvalho AJ, Portugal AF, Bastos EA, Cardoso MJ, Santos CV, Julio MPM. 2017. Performance of grain sorghum hybrids under drought stress using GGE biplot analyses. *Genetics and Molecular Research* 16(3): gmr16039761.
- Bennett AS, Anex RP. 2009. Production, transportation and milling costs of sweet sorghum as a feedstock for centralized bioethanol production in the upper Midwest. *Bioresour. Technol.* 100, 1595-1607.
- Cysne JRB, Pitombeira JB. 2012. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de sorgo granífero em diferentes ambientes do Estado do Ceará. *Revista Ciência Agronômica* 43:273-278.
- Davila-Gomez FJ, Chuck-Hernandez C, Perez-Carrillo E, Rooney WL, Serna-Saldivar SO. 2011. Evaluation of bioethanol production from five different varieties of sweet and forage sorghums (*Sorghum bicolor* (L) Moench). *Ind. Crops Prod.* 33:611-616.
- Damasceno CMB, Parrella RA da C, Rodrigues JAS, Schaffert RE. 2012. Validação de marcadores moleculares para introgressão da característica nervura marrom (*bmr6*) em linhagens de sorgo biomassa utilizando retrocruzamento assistido. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 7p. Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 184.
- Dien BS, Sarath G, Pedersen JF, Sattler SE, Chen H, Funnell-Harris DL, Nichols NN, Cotta MA. 2009. Improved sugar conversion and ethanol yield for for-age sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) lines with reduced lignin contents. *Bioen Res.* 2:153-164.
- Embrapa Milho e Sorgo. 2015. Cultivo do sorgo. Sistemas de Produção, N° 2. Embrapa Milho e Sorgo. ISSN 1679-012X. Versão Eletrônica - 9ª edição.
- Falconer DS, Mackay TFC. Introduction to Quantitative Genetics. 1996. (4 Ed.). Harlow: Addison Wesley Longman. p. 464.
- Federer WT. 1955. Experimental designs. New York: Macmillan, 544p.

Feltus FA, Vandenbrink JP. 2012. Bioenergy grass feedstock: current options and prospects for trait improvement using emerging genetic, genomic, and systems biology toolkits. *Biotechnol Biofuel*. 5, 80.

Geraldi IO, Miranda Filho JB. 1988. Adapted models for the analysis of combining ability of varieties in partial diallel crosses. *Braz J of Genet*. 11: 419-430.

Griffing B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust J Biol Sci*. 9:463-493.

Godin B, Nagle N, Sattler S, Agneessens R, Delcarte J, Wolfrum E. 2016. Improved sugar yields from biomass sorghum feedstocks: comparing low-lignin mutants and pretreatment chemistries. *Biot Biof*. 9:1-11.

Goyal SN, Kumar S. 1991. Combining ability for yield component and oil content in sesame. *Indian J. Genet. Plant Breed*. 51:311-314.

Halpin C, Holt K, Chojecki J, Oliver D, Chabbert B, Monties B, Edwards K, Barakate A, Foxon GA. 1998. Brown-midrib maize (*bmr-1*): a mutation affecting the cinnamyl alcohol dehydrogenase gene. *Plant J*. 14:545-553.

House LR. 1985. A guide to sorghum breeding. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 2 ed. Patancheru. Andhra Pradesh, India. 206 p.

Kearsey MJ, Jinks JL. 1968. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. *Heredity*. 23:403-409.

McCullum T, McCuiston K, Bean B. 2005. Brown midrib and photoperiod sensitive forage sorghums. AREC 05-20. Texas A&M Univ. Ag. Res. and Ext. Center., Amarrillo, TX.

Menezes CB, Carvalho Junior GA, Silva LA, Bernardino KA, Souza VF, Tardin FD, Schaffert RE 2014. Combining ability of grain sorghum lines selected for aluminum tolerance. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 14:42-48.

Mullet JE, Rooney WL, Klein PE, Morishige D, Murphy R, Brady JA. 2010. Discovery and Utilization of Sorghum Genes (Ma5/Ma6). US Patent Application Publication.

Murray S.C, Sharma A, Rooney WL, Klein PE, Mullet JE, Mitchell SE, Kresovich S. 2008. Genetic improvement of sorghum as a biofuel feedstock: II. QTL for stem and leaf structural carbohydrates. *Crop Sci*. 48:2180-2193.

Mohammed R, Are AK, Bhavanasi R, Munghati RS, Kavi Kishor PB, Sharma HC. 2015. Quantitative genetic analysis of agronomic and morphological traits in sorghum, *Sorghum bicolor*. *Frontiers in Plant Science* 6: PMC4630571.

Olson SN, Ritter K, Rooney WL, Kemanian A, McCarl BA, Zhang Y, Hall S, Packer D, Mullet J. 2012. High biomass yield energy sorghum: developing a genetic model for C4 grass bioenergy crops, *Biofuels*. *Bioprod Bioref*. 6:640-655.

- Oliver AL, Pedersen JF, Grant RJ, Klopfenstein TJ, Jose HD. 2005. Comparative effects of the sorghum *bmr-6* and *bmr-12* genes: I. Forage sorghum yield and quality. *Crop Sci.* 45:2234-2239.
- Pimentel Gomes F. 1985. *Curso de Estatística Experimental*. São Paulo: Nobel. 467p.
- Premalatha N, Kumaravadivel N, Veerabadhiran P. 2006. Heterosis and combining ability for grain yield and its components in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 66:123-126.
- Porter KS, Axtell JD, Lechtenber VL, Colenbrander VF. 1978. Phenotype, fiber composition, and in vitro dry matter disappearance of chemically induced brown midrib (*bmr*) mutants of sorghum. *Crop Sci.* 18:205-208.
- Provan GJ, Scobbie L, Chesson A. 2009. Characterisation of Lignin from CAD and OMT Deficient Bm Mutants of Maize. *Jour of the Sci of Food and Agric.* 73:133-142.
- Quinby JR, Schertz KF. 1970. Sorghum genetics, breeding, and hybrid seed production. In: WALL, J. S.; ROSS, W. M. (Ed.). *Sorghum production and utilization*. Westport: AVI Publishing Company. p.73-117.
- R Core Team, 2017. The R project for statistical computing-R version 3.4.1. Software. Available: <http://www.r-project.org>
- Ramalho MAP, Santos JB, Pereira-Filho IA. 1988. Choice of parents for dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding. I. Interactions of mean components by generation and by location. *Rev Bras de Gen.* 11:391-400.
- Rocha JR do AS de C, Machado JC, Carneiro PCS. 2017. Multitrait index based on factor analysis and ideotype-design: proposal and application on elephant grass breeding for bioenergy. *Gl Ch Biol Bioen.* 9:1-9.
- Rooney WL, Aydin S, 1999. The genetic control of a photoperiod sensitive response in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Crop Sci.* 39:397-400.
- Rooney WL, Blumenthal J, Bean B, Mullet JE. 2007. Designing sorghum as a dedicated bioenergy feedstock. *Biofuels, Bioprod. Biorefin.* 1:147-157.
- Saballos A, Ejeta G, Sanchez E, Kang C, Vermerris W. 2009. A genomewide analysis of the cinnamyl alcohol dehydrogenase family in Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] identifies SbCAD2 as the *Brown midrib 6* gene. *Gen.* 181:783-795.
- Sattler SE, Saathoff AJ, Haas EJ, Palmer NA, Funnell-Harris DL, Sarath G, Pedersen JF. 2009. A nonsense mutation in a cinnamyl alcohol dehydrogenase gene is responsible for the Sorghum *brown midrib 6* phenotype. *Plant Physiol.* 150:584-95.
- Sattler SE, Funnell-Harris DL, Pedersen JF. 2010. Brown midrib mutations and their importance to the utilization of maize, sorghum, and pearl millet lignocellulosic tissues. *Plant Sci.* 178:229-238.
- Silva HD, Ferreira DF, Pacheco CAP. 2000. Avaliação de quatro alternativas de análise de experimentos em látice quadrado, quanto à estimação de componentes de variância. *Bragantia.* 59:117-123.

Silva AG, Barros AS, Silva LHSCP, Morães EB, Pires R 2009. Avaliação de cultivares de sorgo granífero na safrinha no sudoeste do estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 39: 168-174.

Smith CW, Frederiksen RA. 2000. *Sorghum: origin, history, technology, and production*. Wile Series in Crop Science, Series Editor Texas A & M University. 824p.

Stephens JC, Holland PF. 1954. Cytoplasmic male sterility for hybrid sorghum seed production. *Agron. J.* 46:20-23.

Tardin FD, Almeida Filho JE, Oliveira CM, Leite CEP, Menezes CB, Magalhães PC, Rodrigues JAS, Schaffert RE. 2013. Avaliação agronômica de híbridos de sorgo granífero cultivados sob irrigação e estresse hídrico. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 12: 102-117.

Teodoro PE, Almeida Filho JE, Daher RF, Menezes CB, Cardoso MJ, Godinho VP, Torres FE, Tardin FD 2016. Identification of sorghum hybrids with high phenotypic stability using GGE biplot methodology. *Genetics and Molecular Research* 15(2): gmr.15027914.

Van Soest PJ, Wine RH. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. *Journal of the A.O.A.C., Beltsville.* v. 46, 5.

Venuto B, Kindiger B. 2008. Forage and biomass feedstock production from hybrid forage sorghum and sorghum–sudangrass hybrids. *Grassland Sci.* 54:189-196.

Zegada-Lizarazu W, Monti A. 2012. Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices. *Biom Bioen.* 40:1-12.