

Sete Lagoas, MG / Novembro, 2025

Indução da esterilidade masculina em linhagens mantenedoras (B) e restauradoras (R) de sorgo usando o gametocida trifluorometanossulfonamida (TFMSA)

⁽¹⁾ Rafael Augusto da Costa Parrella, ⁽²⁾ Nádia Nardely Lacerda Durães Parrella, ⁽³⁾ Roxane do Carmo Lemos, ⁽⁴⁾ Michel Anderson Silva Lourenço, ⁽⁵⁾ Antonio Antunes Neto, ⁽⁶⁾ Maria Lucia Ferreira Simeone.

⁽¹⁾ Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. ⁽²⁾ Professora, Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, MG. ⁽³⁾ Agrônoma, bolsista de pós-doutorado, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. ⁽⁴⁾ Agrônomo, bolsista de pós-mestrado, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. ⁽⁵⁾ Agrônomo, estudante de mestrado pela Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, MG. ⁽⁶⁾ Pesquisadora, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Resumo – O objetivo do trabalho foi validar a viabilidade de indução da esterilidade masculina em linhagens mantenedoras (B) e restauradoras (R) de sorgo granífero, forrageiro, sacarino e biomassa utilizando o agente químico trifluorometanossulfonamida (TFMSA) e, adicionalmente, obter híbridos F1 para desenvolver novas populações de melhoramento. O experimento foi conduzido na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG. Foram avaliadas dez linhagens férteis de sorgo, no delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis repetições. Na Fase I do estudo, realizou-se a esterilização química das linhagens por meio de duas aplicações de TFMSA, seguida pela avaliação da fertilidade das panículas. Na Fase II, avaliou-se a produção de sementes das linhagens autofecundadas sem a aplicação do TFMSA e dos cruzamentos para a produção das F1s, com o uso das linhagens com esterilidade masculina induzida pelo TFMSA como genitores femininos. Foram avaliados os caracteres porcentagem de panículas estéreis (EST), número de sementes após a aplicação (NSPA), florescimento (FLO), número de dias da primeira (PAF) e segunda (SAF) aplicação até o florescimento, número de sementes (NS) e peso de cem sementes (PCS). O momento de aplicação foi decisivo para a eficiência da esterilização, com a aplicação do TFMSA sendo mais eficiente para induzir a esterilidade masculina completa quando realizada mais de 25 dias antes do florescimento. Foram obtidas 31 F1s diferentes, com alta produção de sementes, confirmando o potencial do TFMSA em ampliar a variabilidade genética nos programas de melhoramento de sorgo.

Termos para indexação: *Sorghum bicolor* (L.) Moench, melhoramento genético, macho-esterilidade temporal.

Embrapa Milho e Sorgo
Rodovia MG 424, KM 65
Caixa Postal 151
35701-098 Sete Lagoas, MG
www.embrapa.br/milho-e-sorgo
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
Presidente
Cynthia Maria Borges Damasceno
Secretário-executivo
Antônio Carlos de Oliveira
Membros
Guilherme Ferreira Viana,
Rosângela Lacerda de Castro,
Arystides Resende Silva, Ciro
Augusto de Souza Magalhães,
Cláudia Teixeira Guimarães e
Enilda Alves Coelho

Revisão de texto
Antonio Claudio da Silva Barros
Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro
(CRB-6/2749)

Projeto gráfico
Leandro Sousa Fazio
Diagramação
Márcio Augusto Pereira do
Nascimento

Publicação digital: PDF

Todos os direitos
reservados à Embrapa.

Induction of male sterility in maintainer (B) and restorer (R) sorghum lines using the gametocide trifluoromethanesulfonamide (TFMSA)

Abstract – The objective of the work was to validate the viability of inducing male sterility in maintainer (B) and restoring (R) lines of grain, forage, sugar, and biomass sorghum using the chemical agent trifluoromethanesulfonamide (TFMSA). Additionally, the aim was to obtain F1 hybrids to develop new breeding populations. The experiment was conducted at Embrapa Maize and Sorghum, in Sete Lagoas, MG, Brazil. Ten fertile sorghum lines were evaluated in a completely randomized design with six replications. In Phase I, male sterility was induced by two applications of TFMSA, followed by the evaluation of panicle fertility. In Phase II, seed production from self-pollinated lines without TFMSA and from crosses involving TFMSA-treated lines used as female parents was assessed to generate F1 hybrids. The traits evaluated were percentage of sterile panicles (EST), number of seeds after application (NSPA), flowering time (FLO), number of days from the first (PAF) and second (SAF) applications to flowering, number of seeds (NS), and hundred-seed weight (PCS). Application timing was critical for sterility induction efficiency, with TFMSA being most effective when applied more than 25 days before flowering. A total of 31 different F1 hybrids were obtained, with high seed production, confirming the potential of TFMSA to enhance genetic variability in sorghum breeding programs.

Index terms: *Sorghum bicolor* (L.) Moench, genetic improvement, temporal male sterility.

Introdução

No Brasil, a cultura do sorgo tem sido uma excelente opção para a produção de grãos e forragem para alimentação de bovinos, aves e suínos, principalmente em situações de menor disponibilidade hídrica ou ocorrência de veranicos, que oferecem maiores riscos para outras culturas, notadamente o milho. A área atual com sorgo no Brasil é superior a três milhões de hectares, com forte tendência de crescimento (Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, 2025). Do ponto de vista de mercado, o cultivo de sorgo granífero em sucessão a culturas de verão tem contribuído para a oferta sustentável de grãos de boa qualidade e de baixo custo para alimentação animal, tanto para pecuaristas como para a agroindústria de rações. Atualmente, em toda a região produtora de grãos de sorgo do Brasil Central,

o produto tem liquidez para o agricultor e grande vantagem comparativa para a indústria, que, cada vez mais, procura alternativas para compor suas rações com qualidade e menor custo.

O sorgo também pode ser utilizado para a produção de bioenergia, etanol e bioeletricidade (Parrella et al., 2018). O tipo sacarino pode ser utilizado na produção de etanol nas mesmas destilarias de cana-de-açúcar, no Brasil, principalmente durante a entressafra dessa cultura, aumentando a oferta de matéria-prima e geração de renda e reduzindo os custos fixos. O sorgo biomassa é um tipo de sorgo que apresenta alta produção de fibra com qualidade para produção de etanol celulósico, geração de energia por meio da queima da biomassa e produção de biogás. Nesse sentido, a disponibilidade no mercado de cultivares de sorgo dedicadas a diversos usos, com caracteres específicos demandados pelos seus usuários, é essencial para o sucesso dos variados segmentos envolvidos na cadeia produtiva.

Em um programa de melhoramento genético de híbridos de sorgo, o desenvolvimento de novos progenitores mantenedor e macho-estéril (linhagens A/B) é muito mais desafiador em comparação ao desenvolvimento de novas linhagens restauradoras (R) (Kent et al., 2023). Isso acontece porque o desenvolvimento do par A/B ocorre em duas fases: primeiro, uma nova linhagem mantenedora (B) deve ser desenvolvida por meio de sucessivas gerações de autofecundações, e, segundo, uma linhagem A é gerada a partir da introgressão do citoplasma masculino estéril (CMS) A1 na linhagem (B) através de um programa de retrocruzamentos. Essa realidade limita a diversidade genética entre germoplasma-elite das linhagens A/B em comparação com o germoplasma da linhagem R em razão do tempo e dos recursos necessários para desenvolver os novos pares A/B (Crozier et al., 2020; Maulana et al., 2021).

Produzir uma linha A não requer apenas tempo adicional, mas também torna o teste dessas novas linhagens em combinação híbrida (*testcrossing*) muito tarde, ou seja, somente após o desenvolvimento das linhagens A/B. O único método que foi descrito para avaliar linhagens B em combinações híbridas, antes do moroso processo de esterilização, utilizou a linhagem (B) fértil como polinizador em uma linhagem (A3), versão macho-estéril citoplasmática de uma linhagem restauradora (R) (Lee et al., 1992). No entanto, existem duas limitações principais nesse método. Primeiramente, desenvolver linhagens R estéreis de citoplasma A3 é trabalhoso e, conseqüentemente, limita o número de potenciais testadores-elite. Além disso, o cruzamento entre uma linhagem B e uma linhagem R A3 resulta em um híbrido macho-estéril, o

que exige o plantio de híbridos férteis nas proximidades para garantir a polinização.

Uma abordagem para induzir a esterilidade masculina temporal permitiria testes de geração precoce de linhagens B em combinação híbrida. Hodnett e Rooney (2018) relataram que a trifluorometanossulfonamida (TFMSA) induz efetivamente a esterilidade masculina em linhagens B. Já Kyanam et al. (2021) demonstraram ainda mais sua adequação para produzir híbridos para testes de rendimento. Como tal, o gametocida masculino TFMSA oferece uma alternativa ao uso dos testadores da linhagem R do citoplasma A3 e torna possível testar a capacidade de combinação das linhas B nas primeiras gerações antes da esterilização da linhagem B. O uso do TFMSA também facilita a obtenção de populações segregantes de RxR ou BxB para a seleção de novas linhagens restauradoras e mantenedoras, respectivamente, por causa da praticidade desse método quando comparado à emasculação manual ou ao uso de saco plástico com água.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi validar a indução da esterilidade masculina em linhagens mantenedoras B e restauradoras R de sorgo granífero, forrageiro, sacarino e biomassa usando o agente químico trifluorometanossulfonamida (TFMSA). Adicionalmente, realizar hibridação entre as linhagens-elites por meio da polinização das panículas tratadas com o gametocida para obter sementes F1s, visando o desenvolvimento de novas populações melhoradas para a extração de linhagens superiores.

Material e métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Embrapa Milho e Sorgo, localizada no município de Sete Lagoas, no estado de Minas Gerais, a 731 m de altitude, 19°27'17" de latitude Sul e 44°10'2" de longitude Oeste, na safra 2024/2025.

Foram utilizadas dez linhagens férteis de sorgo dos tipos granífero, forrageiro, sacarino e biomassa, sendo duas linhagens mantenedoras B e oito linhagens restauradoras R de fertilidade desenvolvidas pelo programa de melhoramento de sorgo da Embrapa, as quais apresentam diferenças quanto ao tipo de uso, porte e ciclo (Tabela 1). A linhagem CMS S025 é mantenedora B e sua versão macho-estéril A (CMS S24) é parental feminino dos híbridos comerciais de sorgo forrageiro BRS 658, BRS 659 e BRS 662. A linhagem CMS S030 é mantenedora B e sua versão macho-estéril A (CMS S29) é parental feminino dos híbridos comerciais de sorgo granífero BRS 330, BRS 373 e BRS 380. A linhagem CMS S011 é restauradora R de fertilidade e parental masculino dos híbridos comerciais de sorgo granífero BRS 330 e BRS 332. As linhagens CMS S026, CMS S041, CMS S042 e CMS S053 são restauradoras R de fertilidade e parentais masculinos dos híbridos comerciais de sorgo forrageiro BRS 655, BRS 659 e BRS 658, respectivamente. A linhagem CMS S053 é restauradora R de fertilidade e parental masculino do híbrido comercial de sorgo biomassa BRS 662. As linhagens CMSXS5017, CMSXS6501 e 1141570 são restauradoras R de fertilidade e parentais masculinos de híbridos experimentais de sorgo sacarino.

Tabela 1. Caracterização quanto à reação ao citoplasma estéril (mantenedor B ou restaurador R), tipo de uso, porte de plantas e ciclo, das dez linhagens de sorgo avaliadas em Sete Lagoas, MG, na safra 2024/2025.

Linhagem	Reação	Tipo	Altura média (m)	Ciclo
CMS S025	B	Forrageiro	1,65	Precoce
CMS S030	B	Granífero	0,70	Precoce
CMS S026	R	Forrageiro	1,80	Intermediário
CMS S042	R	Forrageiro	2,10	Intermediário
CMS S041	R	Forrageiro	2,00	Intermediário
CMS S011	R	Granífero	0,90	Intermediário
CMS S053	R	Biomassa	2,60	Tardio
CMSXS5017	R	Sacarino	2,60	Tardio
CMSXS6501	R	Forrageiro	2,50	Intermediário
1141570	R	Forrageiro	2,20	Intermediário

Para a indução da esterilidade masculina, as dez linhagens avaliadas foram plantadas e tratadas com TFMSA. No Grupo I, as linhagens receberam as aplicações da solução descrita com TFMSA, e as plantas foram utilizadas para a avaliação da esterilidade induzida quimicamente e como parentais

femininos nos cruzamentos para a obtenção das sementes F1s. O Grupo II foi constituído pelas mesmas linhagens, contudo, sem as aplicações de TFMSA, e foram utilizadas como doadoras de pólen para os cruzamentos ou autofecundadas para a avaliação da produção de sementes (Figura 1).

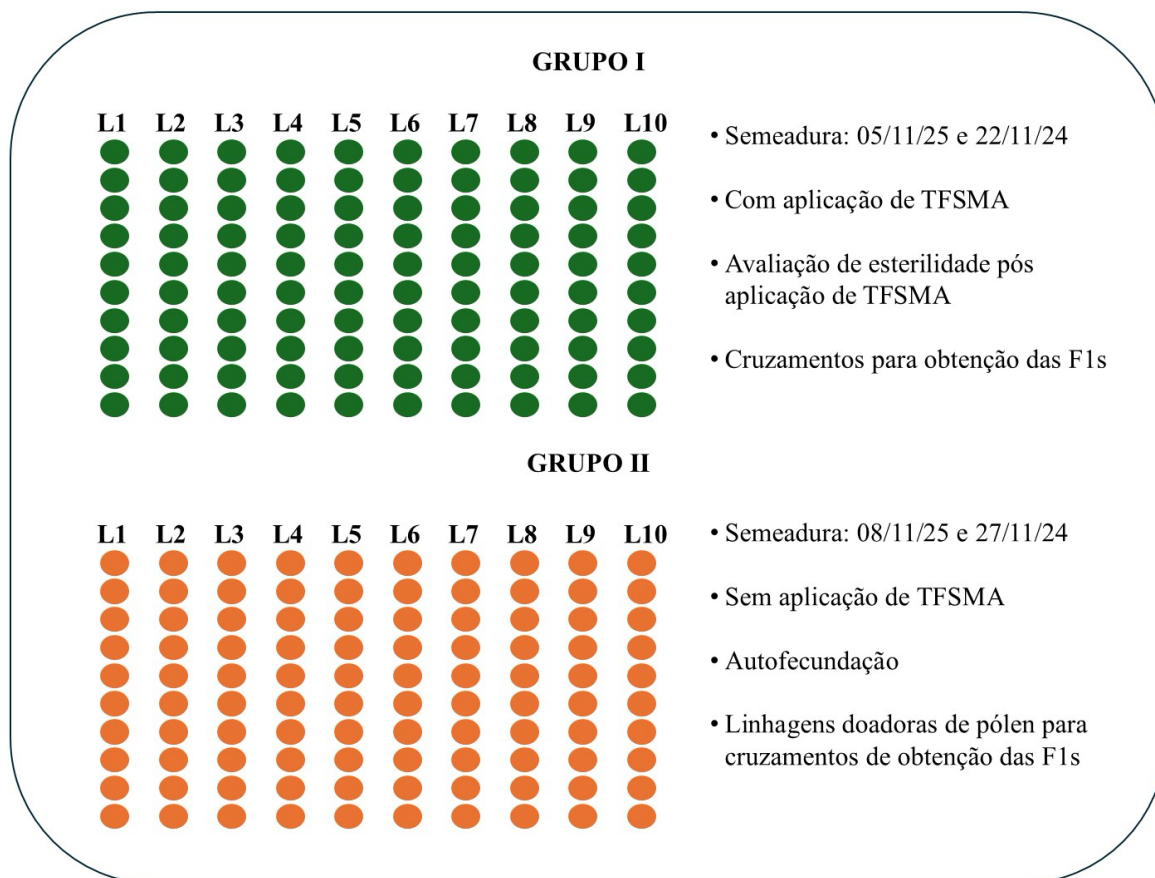


Figura 1. Esquema de distribuição das dez linhagens avaliadas nos Grupos I (com aplicação de TFMSA + cruzamentos) e II (sem aplicação de TFMSA + autofecundação) em casa de vegetação, em Sete Lagoas, MG, na safra de 2024/2025.

Inicialmente, as linhagens foram semeadas em bandejas de polietileno com substrato vegetal. Foram realizadas duas épocas de plantio para cada grupo, no Grupo I a primeira semeadura foi realizada no dia 5 de novembro de 24, para as linhagens do tipo biomassa e sacarino, que possuem o ciclo mais tardio, e a segunda, no dia 22 de novembro de 24 para as demais linhagens dos tipos granífero e forrageiro. Para o Grupo II, as semeaduras foram realizadas nos dias 8 e 27 de novembro de 24, com as linhagens de ciclo tardio plantadas na primeira data e as de ciclo intermediário e precoce, no segundo plantio. Após 15 dias das semeaduras, as mudas foram transplantadas para vasos de 20 L de solo, sendo plantadas duas mudas por vaso. No momento do transplante das mudas, foi realizada a adubação com 40 g por vaso de NPK com formulação

8-28-16, e após 20 dias procedeu-se à adubação de cobertura com 4 g por vaso de ureia. O controle de pragas foi realizado com duas aplicações de Acetamiprid Nortox, conforme necessidade apresentada.

Visando obter resultados referentes à metodologia de utilização do TFMSA como agente gametocida masculino das linhagens de sorgo e ainda assim garantir a fertilidade feminina, o experimento foi conduzido em duas fases: I – Esterilização química das linhagens e II – Produção de sementes.

Fase I: Esterilização química das linhagens

Nesta fase de avaliação, foram utilizadas apenas as plantas do Grupo I, que receberam o tratamento com TFMSA. As dez linhagens de sorgo foram avaliadas no delineamento

experimental inteiramente casualizado (DIC) com seis repetições, sendo cada planta/panícula uma repetição. Aos 45 dias após a semeadura (DAS), para as linhagens dos tipos granífero e forrageiro, e aos 62 DAS, para as linhagens sacarina e biomassa, foi realizada a primeira aplicação do TFMSA.

Para isso, uma solução aquosa foi preparada contendo 0,1% (m/v) de trifluorometanossulfonamida (TFMSA), 0,02% (m/v) de hidróxido de potássio (KOH) e (0,10%) (v/v) de Admix Wet. Este protocolo foi adaptado de Hodnett e Rooney (2018) e para cada aplicação foi preparada uma solução de 10 L contendo 10 g da TFMSA, 2 g de KOH e 10 ml de espelhante, que foi aplicada nas plantas do Grupo I. A solução foi aplicada em toda a superfície das plantas com o uso de um pulverizador costal de 20 L com bico de pulverização do tipo leque com velocidade de 1 m s⁻¹. Uma segunda aplicação foi feita aos 52 e 69 DAS, de acordo com o tipo de linhagem, seguindo o mesmo protocolo.

No início do florescimento, seis panículas de cada linhagem tratada com TFMSA, ainda em pré-antese, foram protegidas com sacos de papel

kraft encerados para autopolinização para evitar a contaminação por pólen externo. Após 20 dias, essas panículas foram avaliadas visualmente quanto à fertilidade, sendo classificadas como férteis ou estéreis. A classificação fértil foi dada às panículas que formaram pelo menos um grão, ou seja, produziram pólen viável e fizeram autofecundação, e estéril, àquelas que não produziram grãos.

A partir dos dados obtidos na avaliação de esterilidade, foi estimada a porcentagem de panículas estéreis (EST, %) em cada linhagem e o número de sementes produzidas por panícula após a aplicação (NSPA). Adicionalmente, foram avaliados o número de dias da semeadura até o florescimento (FLO), o número de dias da primeira aplicação até o florescimento (PAF) e o número de dias da segunda aplicação até o florescimento (SAF). Foram realizadas a análise de variância (ANOVA) das características avaliadas e o teste de agrupamento de médias Scott-Knott (1974), utilizando o software estatístico Genes (Cruz, 2013).

Na Figura 2, é possível observar o fluxograma das atividades realizadas na Fase I.

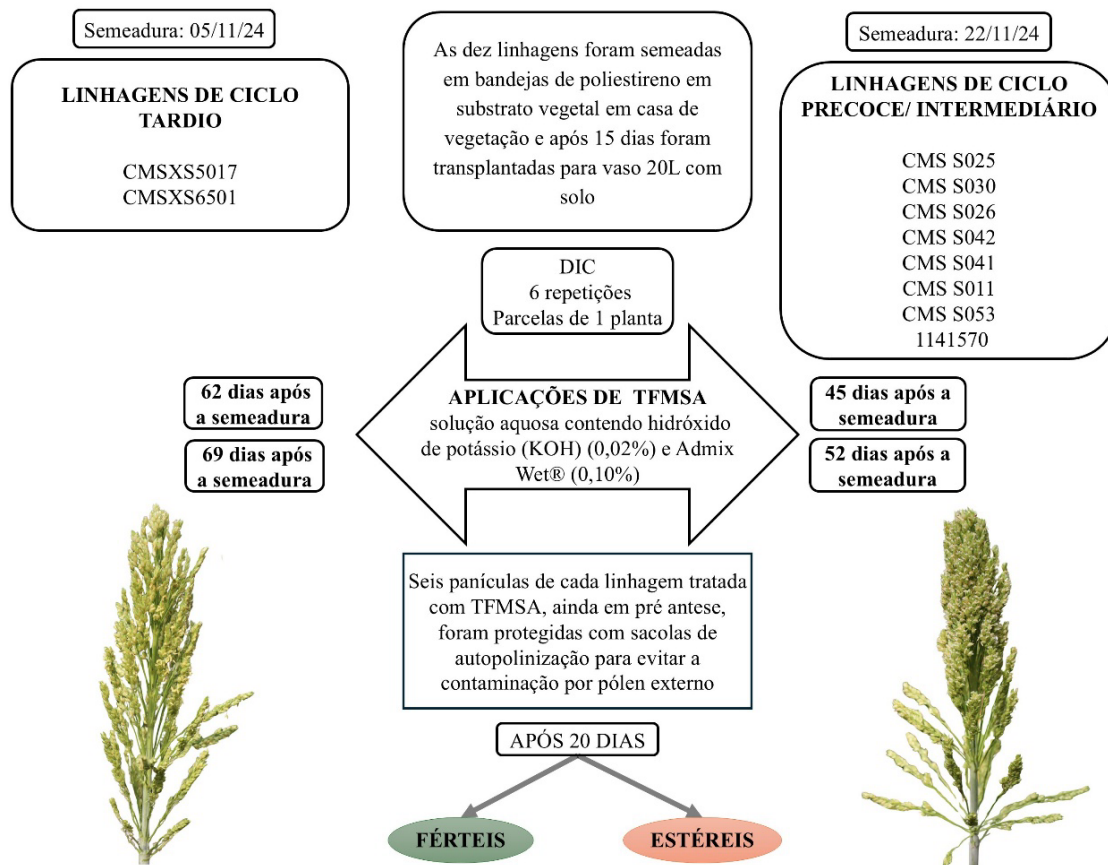


Figura 2. Fluxograma de atividades realizadas na Fase I para a esterilização das linhagens de sorgo com TFMSA. Sete Lagoas, 2025.

Fase II: Produção de sementes

Nesta fase, objetivou-se verificar a viabilidade da produção de sementes das panículas esterilizadas quimicamente com TFMSA e os seus prováveis efeitos na fertilidade feminina, bem como obter sementes de novos híbridos F1s visando gerar populações melhoradas para o desenvolvimento de novas linhagens. Para isso, foram realizados cruzamentos biparentais direcionados entre todos os tipos de linhagens do Grupo I, que foram esterilizadas quimicamente (utilizadas como genitores femininos) e as linhagens do Grupo II como doadores de pólen (genitores masculinos). Os cruzamentos foram direcionados entre as linhagens dos diferentes tipos, granífero (G), forrageiro (F), biomassa (B) e sacarino (S), de forma que fosse obtida pelo menos uma combinação entre cada tipo de sorgo e dentro dos mesmos tipos. Além disso, foram realizadas autofecundações das panículas do Grupo II para avaliação da produção de sementes das linhagens não esterilizadas.

Após o tratamento e antes do início do florescimento, as panículas foram cobertas com sacos de polinização kraft encerado para evitar a polinização não planejada. Em seguida, panículas do Grupo I, que foram efetivamente esterilizadas pelas aplicações de TFMSA, foram polinizadas por linhagens do Grupo II conforme a disponibilidade de pólen e coincidência do florescimento (Miller; Rosenow, 2003), produzindo sementes de populações diferentes.

Após a colheita, foram obtidas as médias das características número de sementes por panícula (NS), por meio da contagem utilizando contador automático ESC 2011 Sanick, e peso médio de cem sementes (PCS, em g), com uso de balança semianalítica AD330-cal Marte, dos cruzamentos obtidos no Grupo I e das autofecundações avaliadas no Grupo II. Para obter as médias das estimativas, consideraram-se os cruzamentos onde cada linhagem esterilizada do

Grupo I foi utilizada como fêmea, assim foram obtidas as estimativas de NS e PCS para cada linhagem. Por causa do alto desbalanceamento dos dados obtidos pelos cruzamentos, optou-se por realizar uma análise descritiva desses caracteres e estimar média, desvio-padrão e amplitude de variação (valores mínimo e máximo).

Resultados e discussão

Fase I: Esterilização química das linhagens

Inicialmente, neste trabalho, foram realizadas avaliações visuais das panículas em florescimento para verificar a eficácia do TFMSA em induzir a macho-esterilidade nas linhagens aplicadas. Houve diferença nas inflorescências de uma mesma linhagem com e sem a aplicação do gametocida. Na Figura 3, pode-se observar a diferença nas estruturas florais da linhagem CMSXS 6501 com e sem aplicação de TFMSA. Na planta macho-fértil, as anteras apresentaram coloração amarela intensa, eram túrgidas e com liberação de pólen viável (Figura 3a), enquanto a panícula macho-estéril se assemelhou à das linhagens com macho-esterilidade genético-citoplasmática, ou seja, com anteras menores, mais finas, com coloração amarela-clara, sem produção de pólen e com estigmas plumosos e receptivos (Figura 3b). A macho-esterilidade é um mecanismo de grande importância para o melhoramento genético, sobretudo em plantas autógamas. Contudo, para que o sistema de macho-esterilidade seja utilizado nos cruzamentos de um programa de melhoramento de sorgo é necessário que as plantas macho-estéreis sejam identificadas no estágio inicial do florescimento, ou seja, na antese das primeiras flores (Parrella et al., 2021), o que foi observado neste estudo.



Figura 3. Comparação entre a estrutura floral da linhagem CMSXS 6501 macho-fértil (a) e a mesma linhagem macho-estéril após duas aplicações de TFMSA (b), Sete Lagoas, 2025.

As linhagens apresentaram diferenças significativas ($p < 0.01$) para quase todas as características estudadas, exceto para a média do número de sementes por panícula das linhagens produzidas após a aplicação (NSPA) (Tabela 2). O número de dias da primeira aplicação de TFMSA até o florescimento (PAF) variou de 50 dias, para a linhagem 1141570, até 13 dias, para a linhagem CMS S025. Já o número de dias

da segunda aplicação até o florescimento (SAF) foi de 43 até 6 dias antes do florescimento, também para as linhagens 1141570 e CMS S025, respectivamente. Dessa forma, as linhagens receberam as aplicações de TFMSA em diferentes estágios fisiológicos de desenvolvimento, como pode ser observado pela variação das características PAF e SAF entre as linhagens avaliadas.

Tabela 2. Médias do número de dias para o florescimento (FLO), número de dias da primeira aplicação até o florescimento (PAF), número de dias da segunda aplicação até o florescimento (SAF), média do número de sementes por panícula das linhagens produzidas pós-aplicação (NSPA) e porcentagem de panículas estéreis (EST, %), das dez linhagens avaliadas após as duas aplicações de TFMSA.

Linhagem	FLO	PAF	SAF	NSPA	EST
CMS S025	58 d	13 d	6 d	8.17 a	50
CMS S030	60 d	16 d	9 d	5.25 a	50
CMS S026	82 b	37 b	30 b	0,00 a	100
CMS S042	85 b	40 b	33 b	0,00 a	100
CMS S041	71 c	26 c	19 c	0,00 a	100
CMS S011	68 c	23 c	16 c	0.17 a	83
CMS S053	70 c	25 c	18 c	0,00 a	100
CMSXS5017	85 b	40 b	33 b	0,00 a	100
CMSXS6501	92 a	47 a	40 a	0,00 a	100
1141570	95 a	50 a	43 a	0,00 a	100
Média	76.63	31.63	24.63	1.18	88.30
Mínimo	58	13	6	0	50
Máximo	95	50	43	8.17	100
Desvio-padrão	12.94	12.94	12.94	5.72	20.87

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical são iguais entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade (Scott; Knott, 1974).

O florescimento variou entre 58 e 95 dias após a semeadura, e as linhagens CMSXS6501 e 1141570 foram as mais tardias, com florescimento de 92 e 95 dias após a semeadura, respectivamente (Tabela 2). No grupo das linhagens mais precoces, destacaram-se CMS S025 e CMS S030, com 58 e 60 dias para florescimento após a semeadura. A disponibilidade de diferentes tipos de cultivares com diferentes ciclos é uma medida estratégica interessante e, sobretudo, a busca por genótipos precoces é bastante válida, pois é interessante que a cultura fique menos tempo sujeita a um ambiente passível de estresse hídrico, como é o ambiente de safrinha (Almeida Filho et al., 2014).

Quanto ao número de sementes produzidas após a aplicação (NSPAA), pode-se observar que as aplicações foram eficientes para esterilizar todas as linhagens utilizadas (Tabela 2). Numericamente,

apenas as linhagens CMS S025, CMS S030 e CMS S011 produziram sementes, não diferindo estatisticamente das demais que não produziram nenhuma semente após a esterilização química, o que indica que o efeito do TFMSA foi efetivo para induzir a macho-esterilidade das linhagens. Contudo, essa diferença numérica das linhagens que ainda assim produziram uma média inferior, que variou de 0,17 a 8,17 sementes após a aplicação, pode ser explicada pela data da primeira aplicação (PAF). Foi possível observar que as linhagens que receberam a primeira aplicação com mais de 23 dias entre a aplicação e o início do florescimento não produziram semente alguma nas panículas. Na Figura 4, são apresentadas as panículas de sorgo da linhagem CMSXS6501 após duas aplicações de TFMSA, aos 47 e 40 dias antes do florescimento, sendo possível verificar

a não formação de sementes, ou seja, 100% de esterilidade, configurando a eficiência total do produto nessas datas de aplicação. Na Figura 5, nota-se a avaliação da fertilidade da linhagem CMS S025 após duas aplicações de TFMSA, aos 13 e 6

dias antes do florescimento, com o surgimento de um número reduzido de sementes, demonstrando que a tomada de decisão das épocas de aplicação pode comprometer a eficiência do TFMSA como agente gametocida.



Figura 4. Avaliação da fertilidade da linhagem CMSXS6501 após duas aplicações de TFMSA aos 47 e 40 dias antes do florescimento.



Figura 5. Avaliação da fertilidade da linhagem CMS S025 após duas aplicações de TFMSA aos 13 e 6 dias antes do florescimento.

Contudo, vale ressaltar o caso da linhagem 1141570 com a primeira aplicação aos 50 dias antes do florescimento e mesmo assim, não houve formação de sementes. No entanto, Hodnett e Rooney (2018) observaram que a TFMSA fica ativa na planta por apenas um certo período e que a dosagem aplicada desempenhou um papel importante na duração dessa atividade. As diferenças numéricas entre as dosagens indicam que esse fenômeno também ocorre em condições de campo.

Finalmente, para a característica porcentagem de panículas estéreis (EST), as linhagens responderam ao tratamento com TFMSA de três maneiras distintas, de acordo com a data da aplicação: 50, 83 e 100% de eficiência na esterilização das panículas. Na Tabela 2, é possível observar que nas panículas das linhagens que receberam a PAF entre 13 e 16 dias (CM S025

e CM S030, respectivamente) foi alcançada uma taxa de 50% de esterilização. Já nas panículas da linhagem CS S011, que receberam a PAF aos 23 dias, houve uma taxa de esterilização de 83%. No entanto, as panículas das demais linhagens, cujos PAF foram de 25 dias ou mais, foi possível esterilizar 100% das panículas. Desse modo, uma janela segura de aplicação seria até no mínimo 25 dias antes do florescimento, para se garantir 100% de esterilização masculina. Como observaram Hodnett e Rooney (2018), o TFMSA deve ser aplicado dentro de uma faixa específica de dias antes da emergência da folha bandeira para que o produto seja absorvido e faça efeito na planta. A emergência da folha bandeira é um indicador fenotípico de um estágio subjacente ao desenvolvimento no ciclo reprodutivo. Atkins e Kern (1972) observaram em sorgo que microesporos livres estavam presentes em anteras na ponta da panícula à medida que

se aproximava da folha bandeira. O estágio de florescimento é usualmente definido quando a metade das plantas na área em cultivo está em florescimento. Como a panícula inicia o processo de florescimento cerca de 3 dias após a plena emergência da bainha da folha-bandeira, do ápice para a base, exigindo para isso de 4 a 9 dias, a floração de uma planta individual ocorrerá quando a antese das flores tenha acontecido em mais da metade da panícula (Fornasier Filho, 2009).

O TFMSA induz a esterilidade masculina ao limitar a quantidade de prolina disponível para o desenvolvimento do pólen. Loussaert (2004) examinou seu efeito nos metabólitos das anteras do milho, incluindo amido, prolina, cumarato, ferulsato, ácidos graxos, calose e esporopolenina, e descobriu que a prolina foi afetada pelo TFMSA. Aplicando 0–250 µg de TFMSA, ele encontrou uma relação linear negativa entre a quantidade aplicada e a prolina das anteras. Nesse estudo, a esterilidade masculina completa do pendão foi alcançada quando pelo menos 250 µg de TFMSA foram aplicados nas folhas da planta. Níveis baixos de prolina também foram encontrados em anteras de sorgo, em que a esterilidade masculina foi induzida por baixas temperaturas noturnas (Brooking, 1976). Assim, o TFMSA pode induzir a esterilidade masculina no milho e no sorgo ao reduzir a prolina nas anteras do pólen.

Fase II - Produção de sementes

Esta etapa foi realizada para confirmar a capacidade das linhagens utilizadas para a esterilização química em produzir sementes e certificar a viabilidade da produção de sementes das linhagens após o uso do produto químico. Além disso, foi feita para obter os híbridos F₁ por meio dos cruzamentos com as linhagens esterilizadas pelo TFMSA, que serão utilizados na produção de linhagens melhoradas.

Assim, algumas plantas que não receberam o tratamento com o TFMSA foram deixadas se autofecundar e posteriormente foi realizada a contagem do número de sementes para verificar o potencial de produção de sementes dessas linhagens. A média de sementes produzidas por linhagem variou; a linhagem CMS S030 produziu a menor quantidade (82,50) e a linhagem CMS S053 produziu uma média de 2.119 sementes nas panículas analisadas (Figura 6). Na Figura 7, é possível observar as panículas de autofecundação das linhagens CMS S042, CMSXS6501, CMS S053 e CMS S011, não aplicadas com TFMSA, evidenciando a capacidade da produção de inflorescências masculinas e femininas desses materiais sem aplicação do gametocida para a formação de sementes após a autofecundação.

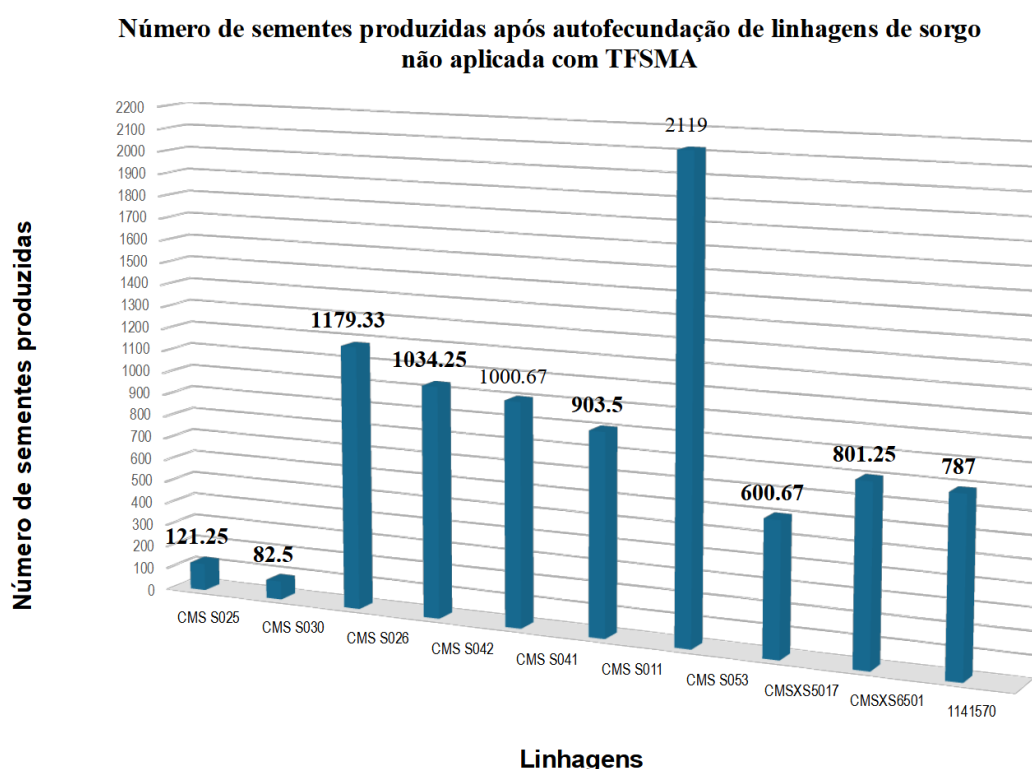


Figura 6. Número de sementes produzidas após autofecundação de linhagens de sorgo não aplicadas com TFMSA.



Figura 7. Panículas de autofecundação das linhagens CMS S042, CMSXS6501, CMS S053 e CMS S011, não aplicadas com TFMSA.

Os cruzamentos realizados com as linhagens após a esterilização masculina com o TFMSA foram avaliados para confirmar a viabilidade da produção das sementes com o uso do produto. O número de sementes por panícula (NS) variou em função da linhagem, sendo de 37 sementes por panícula para a CMS S030 e de 811,43 para a CMS S026 (Tabela 3). Já o peso de cem sementes (PCS) atingiu os menores valores para as linhagens CMSXS5017

e CMSXS6501 (1,82 g) e o maior valor para a linhagem CMS S025 (3,65 g). Segundo Ohland et al. (2005), esse parâmetro é influenciado principalmente pela expressão do genótipo, pela disponibilidade de nutrientes e pelas condições climáticas durante o estágio de enchimento de grãos. A massa de cem grãos, de acordo com Magalhães et al. (2011), pode alcançar uma média de até 6 g de massa.

Tabela 3. Média do número de sementes por panícula (NS) e peso médio de cem sementes (PCS, em g) das dez linhagens após a aplicação com TFMSA e o cruzamento manual para produção de sementes. Sete Lagoas, MG, 2025.

Linhagem	Após TFMSA + cruzamento manual	
	NS	PCS
CMS S025	274.00	3.65
CMS S030	37.00	...
CMS S026	811.43	2.99
CMS S042	197.20	2.03
CMS S041	186.00	2.69
CMS S011	592.43	2.89
CMS S053	620.69	2.11
CMSXS5017	373.13	1.82
CMSXS6501	183.00	1.82
1141570	324.00	2.09
Média geral	359.89	2.46
Mínimo	10.00	1.82
Máximo	1860.00	3.65
Desvio-padrão	326.13	1.33

Três-pontos(...) : informação não disponível

Efeitos fitotóxicos devidos ao TFMSA não foram observados em nenhum desses caracteres. Segundo observado, o crescimento vegetativo e reprodutivo foi normal, sem diferenças entre as plantas tratadas e não tratadas, exceto para a esterilidade masculina. Testes adicionais são necessários para determinar se o TFMSA tem diferenças quantitativas menores na produtividade, mas os resultados obtidos não indicaram fitotoxicidade óbvia. Contudo, Hodnett e Rooney (2018) relatam que concentrações maiores que 0,1% (m/v) de trifluorometanossulfonamida (TFMSA) podem causar queima nas folhas em alguns genótipos.

Na Figura 8, podem ser observadas as panículas obtidas pelos cruzamentos das

linhagens CMS S053 x CMS S041, CMS S011 x CMS S041 e CMS S026 x CMS S025, demonstrando que a aplicação do TFMSA para a esterilização masculina não afetou a capacidade da produção de flores femininas e tampouco a produção de sementes por meio das hibridações. Segundo Hodnett e Rooney (2020), exceto para a esterilização com TFMSA, não foram observadas diferenças no comportamento das demais características das plantas em nenhuma dosagem utilizada no estudo deles. Segundo os autores, em todos os relatos, o crescimento vegetativo e reprodutivo foi normal, sem diferenças entre plantas tratadas e não tratadas, exceto para macho-esterilidade.



Figura 8. Panículas obtidas pelos cruzamentos das linhagens CMS S053 x CMS S041, CMS S011 x CMS S041 e CMS S026 x CMS S025.

Os resultados confirmam que o número de aplicações se torna menos importante, uma vez que a data da primeira aplicação é determinada com o número de dias superior a 25 dias antes do florescimento. Estudos adicionais também são necessários para desenvolver métodos de aplicação e avaliar o efeito do TFMSA na saúde das plantas em médio e longo ciclo. Além disso, embora o TFMSA seja uma substância química comum utilizada em produtos farmacêuticos e pesticidas agrícolas, ele também parece ter baixa toxicidade (Shainyan; Tolstikova, 2013). Métodos de aplicação adequados para garantir a segurança das pessoas que aplicam esse agente também devem ser sistematicamente desenvolvidos.

Um dos objetivos desse trabalho foi a realização de hibridações entre as linhagens-elites para desenvolver populações, visando o desenvolvimento de novas linhagens superiores, utilizando o TFMSA para a macho-esterilização das linhagens utilizadas como genitor feminino. Em apenas um ciclo, um total de 31 populações diferentes foi gerado pelo cruzamento biparental entre as dez linhagens avaliadas (Tabela 4). Foi possível realizar pelo menos uma hibridação entre os diferentes tipos de sorgo avaliados (granífero, forrageiro, biomassa e sacarino), com o número de sementes suficiente para a obtenção da geração F_2 e a avaliação em experimentos com repetição. O número de sementes obtidas em cada panícula de cruzamento variou de dez a 1.860 (Tabela 4) e no total foram obtidas 27.348 sementes (Tabela 4).

Tabela 4. Número de populações F_1 diferentes geradas a partir do cruzamento biparental das linhagens de sorgo do tipo forrageiro (F), granífero (G), biomassa (B) e sacarino (S) e total de sementes obtidas em cada grupo de cruzamento.

F1	Número de populações	Total de sementes
F x G	5	4.461
F x B	5	7.964
F x S	4	2.712
B x G	3	1.326
B x S	1	805
S x G	1	127
G x G	4	2.584
F x F	8	7.369
Total	31	27.348

Vale ressaltar que a técnica mais utilizada atualmente nos programas de melhoramento de sorgo para a realização dos cruzamentos e obtenção das F_1 envolve o processo de emasculação manual das flores e posterior polinização com o doador de pólen desejado (Ribeiro et al., 2021). Essa metodologia, embora eficiente, é trabalhosa e limita o número de cruzamentos que podem ser realizados em um ciclo de hibridações, sendo inviável a obtenção de um grande número de sementes por panícula, como o que foi observado neste trabalho com o uso do agente químico. Assim, o uso do TFMSA em programas de melhoramento de sorgo tem o potencial de aumentar a capacidade de hibridações e, com isso, ampliar a variabilidade genética disponível para a seleção e obtenção de variedades e híbridos melhorados.

Conclusões

A aplicação de TFMSA em panículas de plantas de sorgo com mais de 25 dias antes do florescimento (antese) foi eficiente em induzir a esterilidade masculina completa nas flores, indicando que a eficácia da indução de esterilidade é função do momento da aplicação.

Não foram observados efeitos fitotóxicos nas plantas em relação às características avaliadas por ocasião da utilização do TFMSA.

Os cruzamentos realizados com a polinização das panículas tratadas com o TFMSA geraram 31 F_1 s diferentes, com panículas com granação de 100% e com a formação de até 1.860 sementes por panícula.

O uso do TFMSA tem o potencial para ampliar bastante a variabilidade genética nos programas de melhoramento de sorgo, porém são necessários

mais estudos para avaliar a consistência da esterilidade masculina em ambientes de campo.

Agradecimentos

Aos pesquisadores William L. Rooney e George L. Hodnett, pelo apoio técnico no uso do agente químico TFMSA. À Embrapa Milho e Sorgo e a Universidade Texas A&M, pelo suporte para a condução da pesquisa. À Fundação de Apoio à Pesquisa e ao Desenvolvimento (Faped) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsas. À empresa Multitécnica, pela disponibilização do espalhante Admix Wet para a realização do trabalho.

Referências

- ACOMPANHAMENTO da Safra Brasileira [de] Grãos: safra 2024/25: 7º levantamento, v. 12, n. 7, abr. 2025. Brasília, DF: Conab, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/atualizacao/informacoes-agropecuarias/safras/safra-de-graos/boletim-da-safra-de-graos/7o-levantamento-safra-2024-25/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 14 abr. 2025.
- ALMEIDA FILHO, J. E. de; TARDIN, F. D.; DAHER, R. F.; SILVA, K. J. da; XAVIER NETO, J. B.; BASTOS, E. A.; LOPES, V. da S.; BARBE, T. da C.; MENEZES, C. B. de. Avaliação agrônômica de híbridos de sorgo granífero em diferentes regiões produtoras do Brasil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 13, n. 1, p. 82-95, 2014. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/991841/1/Avaliacaoagronomica3.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2025.

ATKINS, R. E.; KERN, J. J. Cytoplasm effects in relation to agronomic performance of grain Sorghums, *Sorghums bicolor* (L.) Moench. **Crop Science**, v. 12, n. 6, p. 777-780, 1972. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183X001200060018x>.

BROOKING, I. R. Male sterility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench induced by low night temperature. I. Timing of the stage of sensitivity. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 3, n. 5, p. 589-596, 1976. DOI: <https://doi.org/10.1071/PP9760589>.

CROZIER, D.; HOFFMANN JR; L.; KLEIN, P. E.; KLEIN, R. R.; ROONEY, W. L. Predicting heterosis in grain sorghum hybrids using sequence-based genetic similarity estimates. **Journal of Crop Improvement**, v. 34, n. 5, p. 600-617, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/15427528.2020.1748152>.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do sorgo**. Jaboticabal: Funep, 2009.

HODNETT, G. L.; ROONEY, W. L. Male sterility induction of sorghum using chemical hybridizing agent TFMSA, trifluoromethanesulfonamide. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 98, n. 5, p. 1102-1108, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjps-2017-0327>.

KENT, M. A.; FONSECA, J. M. O.; KLEIN, P. E.; KLEIN, R. R.; HAYES, C. M.; ROONEY, W. L. Use of genomic prediction to screen sorghum B-lines in hybrid testcrosses. **The Plant Genome**, v. 16, n. 3, e20369, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/tpg2.20369>.

KYANAM, A. N.; HODNETT, G. L.; ROONEY, W. L. Analysis of effects of trifluoromethanesulfonamide in sorghum inbred lines and their derived hybrids. **Crop Science**, v. 61, n. 5, p. 3507-3515, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/csc2.20580>.

LEE, R. D.; JOHNSON, B. E.; ESKRIDGE, K. M.; PEDERSEN, J. F. Selection of superior female parents in sorghum utilizing A3 cytoplasm. **Crop Science**, v. 32, n. 4, p. 918-921, 1992. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200040016x>.

LOUSSAERT, D. Trihalogenated methylsulfonamides as specific male gametocides. **Sexual Plant Reproduction**, v. 16, n. 6, p. 299-307, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00497-004-0205-0>.

MAGALHÃES, J. V.; SABDIN, P. K.; GUIMARÃES, C. T.; TARDIN, F.; SANTOS, F. G. dos; SCHAFFERT, R. E.; GOMIDE, R. L.; ANDRADE, C. de L. T. de; ALBUQUERQUE, P. E. P. de.

A influência de características fenológicas na avaliação da tolerância à seca em sorgo. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 165). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/906794/1/circ165.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2025.

MAULANA, F.; PERUMAL, R.; TESSO, T. Hybrid performance as related to genomic diversity and population structure in public sorghum inbred lines. **Crop Science**, v. 61, n. 1, p. 357-371, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/csc2.20283>.

MILLER, F. R.; ROSENOW, D. T. Registration of RTx433 sorghum parental line. **Crop Science**, v. 43, n. 1, p. 445-446, 2003. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.4450>.

OH LAND, R. A. A.; SOUZA, L. C. F. de; HERNANI, L. C.; MARCHETTI, M. E.; GONÇALVES, M. C. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000300005>.

PARRELLA, R. A. da C.; SCHAFFERT, R. E.; MENEZES, C. B. de; RODRIGUES, J. A. S.; MAGALHÃES, J. V.; DAMASCENO, C. M. B.; SILVA, D. D. da; MENDES, S. M. Improving sorghum cultivation in South America. In: ROONEY, W. (ed.). **Achieving sustainable cultivation of sorghum**: volume 2: sorghum utilization around the world. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing, 2018. cap. 7, p. 159-192.

PARRELLA, R. A. da C.; SIMEONE, M. L. F.; PARRELLA, N. N. L. D.; SCHAFFERT, R. E. Cultivares de sorgo para produção de bioenergia. In: MENEZES, C. B. de (ed.). **Melhoramento genético de sorgo**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. p. 278-292. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1138324/1/Cap-10-Cultivares-sorgo-producao-bioenergia.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2025.

RIBEIRO, P. C. de O.; SANTOS, C. V. dos; CAMPOLINA, C. V.; MENEZES, C. B. de. Métodos de melhoramento de sorgo. In: MENEZES, C. B. de (ed.). **Melhoramento genético de sorgo**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. p. 145-166. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1138299/1/Cap-5-Metodos-melhoramento-sorgo.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2025.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974. DOI: <https://doi.org/10.2307/2529204>.

SHAINYAN, B.; TOLSTIKOVA, L. Trifluoromethanesulfonamides and related compounds. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 1, p. 699-733, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr300220h>.



*Ministério da
Agricultura e Pecuária*