

Caracterización morfoagronómica de plantas de sorgo granífero variedad CIAP 132R-05 regeneradas vía embriogénesis somática en condiciones de campo

Morph agronomic characterization of grain sorghum variety CIAP 132R-05 plants regenerated via somatic embryogenesis under field conditions

Silvio de Jesús Martínez Medina^{1,2}, Rafael Gómez-Kosky², Gudelia Rodríguez Valdés¹, Novisel Veitia Rodríguez², Orlando Saucedo Castillo¹, Víctor Gil Díaz¹

¹Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Cuba. CP 54830.

²Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Cuba. CP 54830.

E-mail: silvioid@uclv.edu.cu; silvio@ibp.co.cu

RESUMEN. El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar en condiciones de campo la estabilidad genética de plantas de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] variedad CIAP 132R-05 regeneradas vía embriogénesis somática, a través de caracteres morfológicos y agronómicos. Las plantas regeneradas a partir de embriones somáticos utilizadas como material vegetal en el presente trabajo, fueron comparadas con plantas obtenidas de semillas botánicas. Se realizó la evaluación de los caracteres morfoagronómicos cuantitativos en ambas poblaciones. Los caracteres cuantitativos de las dos poblaciones se corresponden con los que aparecen en el Registro Nacional de Variedades Comerciales de Cuba. Sin embargo, la población de plantas obtenida a partir de embriones somáticos presentó valores significativamente superiores en cuanto a: altura de la planta, diámetro del tallo, longitud y ancho del limbo y la panícula, masa fresca y seca de la panícula, longitud de la excursión, longitud de grano, número de espiguillas por panícula, número de granos por espiguilla y por panícula, masa fresca y seca de 1000 granos y rendimiento agrícola. Estas evaluaciones permitieron determinar la estabilidad fenotípica de las plantas regeneradas vía embriogénesis somática, mediante la evaluación de los caracteres morfoagronómicos en condiciones de campo.

Palabras clave: caracteres morfológicos, embriones somáticos, *Sorghum bicolor*, variación somaclonal

ABSTRACT. This work was carried out to evaluate morph agronomic parameters on field conditions plant populations of grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] variety CIAP 132R-05 regenerated via somatic embryogenesis. Plants regenerated from somatic embryos use as plant material in the present work were compared with plants grown from botanical seeds. Quantitative characteristics of the two populations correspond to those listed in the National Register of Commercial Varieties of Cuba. However the population of plants derived from somatic embryos showed significantly higher values in terms of: plant height, stem diameter, length and width of limbo and panicle, fresh and dry weight of panicle length assertion, grain length, number of spikelets per panicle, number of grains per spike and panicle, fresh and dry mass of 1000 grains and agricultural yields. These assessments allowed determining the phenotypic stability of the regenerated plants via somatic embryogenesis, by assessing morphological characters in field conditions.

Keyword: morphological characters, somatic embryos, *Sorghum bicolor*, somaclonal variation

INTRODUCCIÓN

El sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) es una planta de metabolismo C-4 que se adapta bien a un entorno agroecológico cálido y seco, en el cual es difícil cultivar otros cereales (Antonopoulou *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009). Es una poáceae oriunda de las regiones tropicales y

subtropicales de África (Pola *et al.*, 2009). Este cereal constituye un excelente alimento para la nutrición humana y animal; como alimento animal se utiliza en la nutrición porcina, ganadera y aves de corral (Pérez *et al.*, 2010). Su cultivo se ha generalizado, ocupando el quinto lugar entre los cereales, después del trigo (*Triticum aestivum* L.), maíz (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) y la cebada (*Hordeum vulgare* L.) (Zhao *et al.*, 2010).

La República de Cuba invierte cuantiosas sumas en la importación de granos y piensos para la alimentación humana y animal, con vistas a producir y suplir las necesidades proteínicas (cada día mayores y hoy insatisfechas) de una creciente población. Los costos de estos son cada vez más altos y a su vez, resultan difíciles de adquirir en el mercado internacional, por diversas causas económicas, políticas y sociales. El país debe resolver graves problemas para la sustitución de importaciones con el empleo de granos, como el sorgo (Pérez *et al.*, 2010).

Entre las estrategias desarrolladas para incrementar los volúmenes de producción de este cultivo se encuentran la introducción de variedades de sorgo procedentes de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), México, estudiadas en Cuba por el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Con este propósito se han generalizado en el país once variedades de sorgo rojo, entre ellas la variedad CIAP 132R-05.

Esta variedad se caracteriza por tener un porte bajo que facilita la cosecha manual, ciclo de 80-85 días en dependencia de la época de siembra, adaptación a diferentes condiciones edáficas que le permitan una gran plasticidad, tolerancia al estrés hídrico, altos rendimientos agrícolas (2,5 t ha⁻¹) y los restos de cosecha presentan características alelopáticas según el Formulario de Descripción Varietal del *S. bicolor* del Registro Nacional de Variedades Comerciales de Cuba (MINAG, 2005). Sin embargo, es necesario lograr un incremento en el contenido proteico de la variedad y su composición de aminoácidos, así como su rendimiento potencial agrícola, como principales aspectos, mediante programas de mejoramiento genético del cultivo.

El empleo de los métodos tradicionales de mejoramiento genético en este cultivo está limitado por varios factores, entre ellos la posibilidad que tiene esta especie de polinización cruzada con otras especies del género y la baja

diversidad genética que limita el potencial para mejorar este cereal por los métodos tradicionales (Pandey *et al.*, 2010). En la actualidad, se emplean las técnicas biotecnológicas y dentro de ellas la transformación genética, la cual permite la inserción en las plantas de genes foráneos que les confieran características deseadas (Coudert *et al.*, 2010). Sin embargo, es requisito indispensable para usar este método, contar con un eficiente protocolo de regeneración de plantas. La embriogénesis somática constituye una vía de regeneración de planta en este cultivo donde se han desarrollado varios protocolos en el cultivo del sorgo (Lateefat *et al.*, 2014).

El empleo de las técnicas de cultivo de tejidos en plantas puede provocar cambios genéticos (Pérez, 1998). En el sorgo, son pocos los trabajos que hacen referencias a estudios de poblaciones de plantas obtenidas por cultivo de tejido en condiciones de campo. Mientras que en la literatura consultada solo se encontraron referencias de los estudios realizados por Baskaran *et al.* (2005) y Amali *et al.* (2014) sobre caracterización morfológica de pequeños grupos de plantas obtenidas por métodos biotecnológicos para demostrar la estabilidad genética.

Por todo lo anterior y tomando como base la importancia del cultivo del sorgo para el desarrollo de la agricultura en Cuba, se planteó como objetivo evaluar en condiciones de campo la estabilidad genética de plantas de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] variedad CIAP 132R-05 regeneradas vía embriogénesis somática, a través de caracteres morfológicos y agronómicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente experimento se realizó en la Cooperativa de Créditos y Servicios (CCS) “El Vaquerito”, ubicado en el municipio Santa Clara provincia de Villa Clara, en el periodo comprendido entre el 5 de junio y el 5 de agosto del 2015. Esta CCS tiene un suelo oscuro mullido medianamente lixiviado según clasificación de Hernández *et al.* (1999) y la topografía ligeramente llana. El experimento se desarrolló en condiciones de temperaturas máximas que fluctuaron entre 30,4 y 33,3 °C, humedad relativa (84 y 86 %), precipitaciones (114,8 y 280 mm) y la velocidad del viento estuvo entre 3,7 y 4,5 km h⁻¹.

Como material vegetal, se utilizaron plantas *in vitro* obtenidas de embriones somáticos madurados en un medio de cultivo compuesto por las sales propuestas por Murashige y Skoog, (1962),

vitaminas MS y suplementado con 100 mg L⁻¹ de mioinositol y 50 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 70,0 g L⁻¹ de sacarosa y germinados con las mismas concentraciones de sales en el medio de cultivo (30,0 g L⁻¹ de sacarosa y 17,78 μM de 6-BAP). A los 30 días en fase de conversión en condiciones semicontroladas en casa de cultivo, con una altura promedio de 15 cm y 4-7 hojas y con un control con plantas germinadas de semilla, ambas de la variedad de sorgo CIAP 132R-05, fueron trasplantadas las plántulas a condiciones de campo. La semilla botánica con categoría básica procedía de banco de semilla del Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas.

Se utilizó como diseño experimental un diseño de bloque al azar compuesto por tres réplicas por tratamiento (1500 plantas por tratamiento). Cada parcela unitaria tenía 6 m de largo y 4,20 m de ancho, con seis surcos espaciados a 0,70 m entre sí y 16 plántulas por metro lineal. Las labores agrotécnicas al cultivo (control de plantas arvenses, riego, fertilización) se realizaron según las normas técnicas para la producción del cultivo (Canet *et al.*, 2011).

Se aplicaron dos riegos, uno para garantizar la humedad para el trasplante y el otro después de la aplicación de fertilizante nitrogenado (urea) a razón de 0,1 t ha⁻¹ a los 10 días posterior al trasplante. No se realizaron aplicaciones fitosanitarias para el control de plagas y enfermedades durante todo el tiempo del experimento.

La estabilidad genética de las plantas obtenidas por embriogénesis somática se determinó a través de caracteres morfológicos cuantitativos, cualitativos y agronómicos altamente discriminantes y de mayor aporte a la detección de la variabilidad genética. Para ello se utilizó el descriptor del Registro Nacional de Variedades Comerciales, MINAG (2005) para esta variedad de sorgo CIAP 132R-05.

Caracteres morfológicos cuantitativos relacionados con el rendimiento agrícola

Se realizó la caracterización de los caracteres morfológicos cuantitativos de la población de plantas procedentes de embriones somáticos y se compararon con plantas provenientes de semilla botánica en las condiciones descritas anteriormente.

A los 55 días después del trasplante fueron evaluadas las siguientes variables: altura de la planta (cm), diámetro de tallo (cm), longitud del limbo de la hoja (cm), ancho del limbo de la hoja

(cm), ángulo formado con el tallo, longitud de la panícula (cm), ancho de la panícula (cm), masa fresca de la panícula (g), masa seca de la panícula (g), longitud de la excursión de la panícula (cm), longitud del grano (mm), ancho del grano (mm), espesor del grano (mm), Brix (%), número de espigas por panícula, número de granos por espigas, número de granos por panícula, masa fresca de 1000 granos (g), masa seca de 1000 granos (g) y rendimiento agrícola (t ha⁻¹).

A continuación se describe el procedimiento para determinar la masa seca y la masa fresca:

- Masa fresca (g): Se pesó la masa fresca de 10 plantas por tratamiento. Para ello se utilizó una balanza analítica SPD 54 (Scaltec Instruments GmbH, Alemania).
- Masa seca (g): Una vez determinada la masa fresca, estas plantas fueron colocadas durante 72 horas a 65 °C en una estufa (MERMERT, Alemania) y se pesaron.

Análisis estadístico

El procesamiento estadístico de los datos experimentales se realizó con la ayuda del paquete SPSS versión 18,0. Para el análisis de la normalidad de las variables se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk. Los datos fueron procesados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, y la comparación de las medias según la prueba de rangos múltiples Mann Whitney. En todos los casos las diferencias se establecieron para p<0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracteres morfológicos cuantitativos relacionados con el rendimiento agrícola

Al evaluar en condiciones de campo la estabilidad genética de plantas de sorgo granífero variedad CIAP 132R-05 regeneradas vía embriogénesis somática, se pudo observar que en la mayoría de los caracteres morfológicos cuantitativos que refiere el descriptor, se observaron diferencias estadísticas significativas entre las plantas obtenidas a partir de embriones somáticos y por semilla botánica. Los resultados mostraron que existieron caracteres cuantitativos (altura de la planta, diámetro de tallo, longitud del limbo de la hoja, ancho del limbo de la hoja, longitud de la panícula, ancho de la panícula, masa fresca de la panícula, masa seca de la panícula, longitud de la excursión de la panícula, longitud del grano, número de espigas por panícula, número de granos por espigas, número

de granos por panícula, masa fresca de 1000 granos, masa seca de 1000 granos y rendimiento agrícola) que permitieron diferenciar las dos poblaciones de plantas. Estos caracteres fueron significativamente superiores en las poblaciones de plantas obtenidas por vía embriogénesis somática. Sin embargo, en otros caracteres (ancho del grano, espesor del grano, Brix, ángulo formado por la hoja con el tallo) no se presentan diferencia entre las poblaciones estudiadas (tabla). No obstante, todos los resultados se encuentran dentro de los parámetros descritos para la variedad según el descriptor del MINAG (2015).

Es importante destacar que en la población de plantas obtenidas de embriones somáticos se logró un mayor agrupamiento en la maduración de las panículas que en la población de plantas obtenidas de semillas botánicas. Este agrupamiento es de vital importancia pues si las panículas de los hijos, no maduran al mismo tiempo que la del tallo principal puede existir un efecto negativo sobre el rendimiento.

La longitud de la panícula en la población de plantas obtenidas a partir de embriones somáticos (29,30 cm) y en la población de plantas de semilla botánica (28,75 cm) no manifiesta diferencia significativa, además ambas poblaciones presentaron mayor longitud que la referida por el descriptor para esta variedad. Esta diferencia podría estar relacionada con factores ambientales y nutricionales. Según Miller y Barnes (1980) los factores ambientales y nutricionales en los cuales se desarrolla el sorgo, influyen en la longitud de la panícula. El fotoperiodo puede constituir otro factor que incide en el crecimiento de la panícula.

Durante la fase de anthesis el cultivo tuvo un comportamiento homogéneo. Las dos poblaciones a los 25 días después del trasplante, alcanzaron esta etapa de crecimiento. En este momento las dos poblaciones alcanzan la mayor producción de masa fresca y seca, siendo significativamente superior en la población de plantas obtenidas de embriones somáticos. La mayor producción de materia seca se alcanza cuando aproximadamente el 50 % de la población ha florecido (Compton, 1990). En ese momento el peso de las hojas es máximo y en la inflorescencia generalmente se inicia la dehiscencia, así como la salida del polen cuando el pedúnculo ha finalizado la elongación. Según Martínez (2002) la panícula comienza a florear en su ápice y seguidamente hacia su base durante un periodo de 4 a 5 días. El área foliar máxima (cobertura total) se alcanza a los 50 días

después de la germinación en un cultivar de ciclo corto bajo condiciones favorables de temperatura (Wani *et al.*, 2012).

La longitud de la excursión de la inflorescencia en las poblaciones en estudio se corresponde con el descriptor de la variedad (entre 8 y 10 cm). La longitud de la excursión se relaciona con la longitud de la inflorescencia. Al terminar el eje vegetativo se produce una prolongación entre el extremo superior del tallo y base de la panícula. La excursión comienza por encima de la hoja bandera y se extiende hasta la primera espiguilla de la panícula o panoja. Este elemento es de gran importancia, ya que mientras mayor es la longitud de excursión, los granos quedan fuera de la hoja bandera, lo cual reduce el daño por plagas y enfermedades en la parte inferior de la panoja (Villeda, 2014).

Las variables masa de 1000 granos y número de granos por panícula fueron las que más variaron entre las dos poblaciones. El valor de la masa seca de 1000 semillas de las plantas de embriones somáticos (45,58 g), fue superior al rango establecido para el promedio descrito por el Registro de Nacional de Variedades Comerciales, MINAG (2005), para la variedad en estudio.

Otras variables como el número de espiguillas por panícula y el número de granos por espigas tuvieron un comportamiento similar en plantas de embriones somáticos. El peso del grano también depende del factor genético así como la capacidad de la planta para almacenar materia seca, pues la masa final del grano depende de la materia seca producida (Villeda, 2014). La masa seca y fresca de las semillas es poco influenciada por el medioambiente y está ligado a los caracteres de cada variedad; principalmente a la capacidad de trasladar nutrientes acumulados por la planta en su desarrollo vegetativo hacia el grano, en el inicio de la etapa reproductiva (Zapata y Orozco, 1991). Por tanto, el incremento de la masa seca en las plantas *in vitro* pudiera ser el factor que influye en el incremento del peso.

En las plantas propagadas por embriogénesis somática se lograron rendimientos significativamente superiores (2,13 t ha⁻¹) a los generados por las plantas de semilla botánica (1,80 t ha⁻¹). La población de mayor rendimiento también fue superior en los parámetros número de espigas por panícula, número de granos por espigas, número de granos por panícula y la masa seca de 1000 granos que determinaron el resultado. Villeda (2014) indicó que existe una correlación entre el número de granos y el

Tabla. Comparación morfológica de caracteres cuantitativos relacionados con el rendimiento de plantas de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] variedad CIAP 132R-05 obtenidas a partir de embriones somáticos y por semilla botánica a los 55 días después del trasplante

Caracteres cuantitativos	Plantas de embriones somáticos		Plantas de semilla botánica	
	Medias	Rangos medios	Media	Rangos medios
Altura de la planta (cm)	94,92	225,45 a	88,26	76,05 b
Diámetro de tallo (cm)	2,87	225,89 a	2,30	75,61 b
Número de hojas	8,00	157,00 a	7,92	144,96 b
Longitud del limbo de la hoja (cm)	64,00	168,19 a	61,61	133,70 b
Ancho del limbo de la hoja (cm)	6,00	162,40 a	5,98	139,53 b
Angulo formado con el tallo (°)	60,71	150,64 a	60,7	151,36 a
Longitud de la panícula (cm)	29,30	188,48 a	28,75	173,27 a
Ancho de la panícula (cm)	6,00	159,26 a	4,0	113,81 b
Masa fresca de la panícula (g)	52,58	225,57 a	48,88	75,93 b
Masa seca de la panícula (g)	44,74	220,42 a	42,77	81,11 b
Longitud de la excursión de la panícula (cm)	10,00	201,61 a	9,64	100,06 b
Longitud del grano (mm)	4,75	184,51 a	4,2	117,26 b
Ancho del grano (mm)	4,00	151,00 a	4,00	151,00 a
Espesor del grano (mm)	1,45	150,01 a	1,45	150,1 a
Brix (%)	6,56	152,72 a	6,54	149,27 a
Número de espiguillas por panícula	41,48	146,31 a	41,50	149,77 a
Número de granos por espigas	39,41	225,22 a	36,56	76,29 b
Número de granos por panícula	1638,34	226,00 a	1503,26	75,50 b
Masa fresca de 1000 granos (g)	45,58	225,56 a	41,92	75,94 b
Masa seca de 1000 granos (g)	37,90	225,56 a	33,88	75,94 b
Rendimiento agrícola (t ha ⁻¹)	2,13	233,5 a	1,80	173,05 b

Medias con letras distintas en las barras difieren según las pruebas de Kruskal–Wallis y Mann Whitney para $p \leq 0,05$

rendimiento agrícola final. Esta autora también hace referencia a la correlación positiva entre el número de inflorescencias, de espiguillas por inflorescencia, flores por espiguillas y la proporción de flores que llegan a producir grano. Autores como Evans y Wardlaw (1976) refieren que el desarrollo de la panícula desde su iniciación hasta la antesis es importante, pues en este periodo se produce el límite más alto del número de granos.

En el presente trabajo los valores de las variables evaluadas para la caracterización morfológica en condiciones de campo de los caracteres cuantitativos de plantas de sorgo variedad CIAP 132R-05 se corresponden con los valores que refiere el Registro de Nacional de Variedades Comerciales (MINAG, 2005). Sin embargo, los valores de los caracteres cuantitativos relacionados con el rendimiento en la población de embriones somáticos fueron superiores a la de semilla botánica. Estos resultados pueden ser causados por cambios epigenéticos durante el cultivo de tejidos *per se*. Se sabe que las plantas obtenidas *in vitro*, como resultado del rejuvenecimiento o cambios temporales, muestran variaciones tales como incremento en el número de tallos o ramas y otras características, que influyen en el rendimiento en condiciones de campo (Evans y Wardlaw, 1976). Esto podría estar ocurriendo en las plantas obtenidas vía embriogénesis somática de sorgo.

El rejuvenecimiento que se produce con el empleo de las diferentes vías de regeneración *in vitro* de plantas puede emplearse con varios fines. En las plantas propagadas *in vitro* se produce un rejuvenecimiento que permite usar las técnicas biotecnológicas para la obtención de plantas elites (Gao *et al.*, 2010). Merkle y Dean (2000) informaron que el rejuvenecimiento es considerado un potencial biotecnológico, principalmente en las especies cuyas respuestas a la regeneración son consideradas como recalcitrante.

Es importante señalar que al evaluar los caracteres morfológicos cuantitativos en condiciones de campo de la descendencia de las plantas obtenidas a partir de embriones somáticos R1 (datos no mostrados), estas no difieren en ninguno de los caracteres evaluados de las plantas obtenidas de semilla botánica. En este sentido Hungtu *et al.* (1986) informaron que plantas de sorgo regeneradas *in vitro* (R0) y sus progenies (R1 y R2) fueron plantadas en

campo para detectar variaciones morfológicas y citológicas. La mayoría de las variaciones fenotípicas observadas en R0 no se transmitieron a sus progenies.

CONCLUSIONES

1. Se comprobó la estabilidad fenotípica de las plantas de sorgo variedad CIAP 132R-05 regeneradas vía embriogénesis somática, mediante la evaluación de los caracteres morfoagronómicos en condiciones de campo. Estas se encuentran dentro los parámetros descritos para la variedad.
2. Las plantas de sorgo variedad CIAP 132R-05 regeneradas vía embriogénesis somática, mediante la evaluación de los caracteres morfoagronómicos en condiciones de campo se encuentran dentro los parámetros descritos para la variedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amali, P.; Kingsley, S. J. and Ignacimuthu, S. Enhanced plant regeneration involving somatic embryogenesis from shoot tip explants of *Sorghum bicolor* (L. Moench. *Asian Journal of Plant Science and Researc*, 4 (3): 26-34, 2014.
2. Antonopoulou, G.; Gavala, H.; Skiadas, I.; Angelopoulos, K. and Lyberatos, G. Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production and digestion of the remaining biomass. *Bioresour Technology*, 99: 110-119, 2008.
3. Baskaran, P.; Raja Rajeswari, B. and Jayabalan, N. A simple approach to improve plant regeneration from callus culture of *Sorghum bicolor* for crop improvement. *Journal of Agricultural Technology*, 1 (1) : 179-192, 2005.
4. Canet, R.; Rivero, L. y Armenteros, M. Manual para la producción del cultivo del sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench. Instituto de Investigaciones de Granos. Segunda Edición. La Habana, Cuba. 2011, 18 p.
5. Hernández, A.; Pérez, J. M.; Bosch, D. y Rivero, N. Nueva Versión de Clasificación Genética

de los Suelos de Cuba. Edit. AGRINFOR, Ciudad Habana, Cuba. 1999, 64 p.

6. Hungtu, M.; Minghong, G. and Liang, G.H. Plant regeneration from cultured immature embryos of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Theor. Appl Genet*, 73: 389-394, 1987.

7. Evans, L.T. and Wardlaw, I.F. Aspect of the comparative physiology of grain yield in cereals. *Adv. Agronomic*, 28: 301-359, 1976.

8. Gao, H.S.; Xie, Q.; Fei, J.F. and Chua, N.H. MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor NAC1 to downregulate auxin signals for Arabidopsis lateral root development. *Plant Cell*, 17 (5): 1376–1386, 2010.

9. Lateefat, B.H.; Inuwa, S.U.; Katung, M.D. and Bugaje, S.M. Optimum protocol for shoot formation in Karandafi red sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) through somatic embryogenesis using mature embryo. *American Journal of Plant Sciences*, 5 (5): 671-675, 2014.

10. Liu, L.; Xingrong, W.; Yin, X.; Morrard, J.; Chen X.; Folk, W.R. and Zhang, Z.J.: Development of marker-free transgenic sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] using standard binary vectors with bar as a selectable marker. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 99: 97-108, 2009.

11. Martínez, F. Análisis de los sistemas de cultivo a base de sorgo para la construcción de un programa de mejoramiento genético participativo en el departamento de Madriz, Nicaragua. Memoria de Master of Science en “Développement Agricole Tropical”, CNEARC, Montpellier, Francia. 2002, 156 p.

12. Merkle, S.A. and Dean, J.F.D. Forast biotechnology. *Biotechnology*, 11: 298-302, 2000.

13. Miller, F.R. y Barnes, D.K. Crecimiento y desarrollo del sorgo. *FAO Producción y Protección vegetal*, 19: 7-19, 1980.

14. Pandey, A.K.; Venkatesh Bhat, B.; Balakrishna, D. and Seetharama, N. Genetic

transformation of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.). *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6: 45-53, 2010.

15. Pérez, J.N. Variación somaclonal. En: Pérez, J.N. (Ed.). Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. 1998, pp. 105-121.

16. Pérez, A.; Saucedo, O.; Iglesias, J.; Wencomo, H.; Reyes, F.; Oquendo, G. y Milán, I. Caracterización y potencialidades del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.). *Pastos y Forrajes*, 33: 1-17, 2010.

17. Pola, S.; Sarada, M.N. and Ramana, T. Mature embryos as source material for efficient regeneration response in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Sjemenartvo*, 26: 93-104, 2009.

18. MINAG. Formulario de Descripción Varietal *Sorghum bicolor* 2002. Registro de Variedades Comerciales. Dirección de Semillas. Ministerio de la Agricultura. La Habana, Cuba. 2005, 4 p.

19. Villeda, D.A. Caracterización morfoagronómica de 15 accesiones de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) con bajo contenido de lignina. Tesis de Maestría en Agricultura Sostenible. Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador, 99 p.

20. Wani, S.P.; Albrizio, R. and Vajja, N.R. Sorghum. En Steduto *et al.* (Eds), Crop yield response to water. Roma, Italia. *FAO, Irrigation and Drainage Paper*, 66: 142-151, 2012.

21. Zhao, L.; Liu, S. and Song, S. Optimization of callus induction and plant regeneration from germinating seeds of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *African Journal of Biotechnology*, 9: 2367-2374, 2010.

22. Zapata, M. y Orozco, H. Evaluación de diferentes métodos de control de malezas y distancias de siembra sobre la cenosis de las malezas, crecimiento y rendimiento del fríjol común. Tesis de Ing. Agron. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 1991, 72 p.