

Productividades de la biomasa y de los carbohidratos solubles de tres variedades de sorgo dulce cultivadas a diferentes altitudes y sujetas a un estrés de frío

Rolando Cifuentes¹, Vilma Porres¹, Edwin de León¹, Robert de León², Ana Luisa Mendizábal de Montenegro² & Carlos Rolz²

¹Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios, Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala

²Centro de Ingeniería Bioquímica, Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala

rcifuentes@uvg.edu.gt

RESUMEN: El sorgo dulce es un cultivo apto para la producción de etanol que se cultiva en climas tanto calientes como templados. El sorgo en general es susceptible al frío, sin embargo se conoce poco de los efectos causados por la baja temperatura sobre la acumulación de los carbohidratos en el tallo de diferentes variedades, especialmente del sorgo dulce. El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de caracterizar los efectos ocasionados por bajas temperaturas, debido al incremento en la altitud del cultivo, de tres variedades de sorgo dulce, Della, Top 76-6 y Umbrella, sobre el tiempo de desarrollo de la planta, la productividad del tallo, el contenido y tipo de azúcares acumulados en el tallo. Las respuestas de la planta al estrés de frío fueron un ciclo más largo de desarrollo y un descenso significativo de la productividad del tallo, sugiriendo por esto un marcado daño por frío. Se encontró una interacción significativa en la acumulación de carbohidratos solubles en el tallo entre la altitud del cultivo y la variedad de sorgo. Por otro lado, la productividad del azúcar fue menos susceptible a las bajas temperaturas. Sin embargo, las variedades Della y Umbrella mostraron a altitudes altas un aumento en azúcares reductores, principalmente fructosa.

PALABRAS CLAVE: sorgo dulce, productividad de la biomasa, acumulación de azúcar, daños por frío.

sugar accumulation in the stem by sweet sorghum varieties planted in the field. The present work was carried out in order to characterize the low temperature effects, due to increasing altitude, on three sweet sorghum varieties, Della, Top 76-6 and Umbrella, on the plant cycle, the stalk productivity, the amount and type of the soluble carbohydrates in the stalk. The plant response to the cold stress conditions resulted in a longer plant cycle and a significant drop in stalk biomass productivity, suggesting a chilling injury effect. A significant interaction between site altitude and variety was found for the soluble carbohydrates data. Sugar production, on the other hand, was less susceptible to chilling injury effects. However, Della and Umbrella showed an increase of reducing sugars, mainly fructose, at the highest altitude.

KEY WORDS: sweet sorghum, stalk productivity, soluble carbohydrates accumulation, cold stress.

Introducción

Debido a su eficiente C4-fotosíntesis, su ciclo de producción corto, su eficiencia en el uso del agua y el nitrógeno, su alta tolerancia al estrés ambiental y su adaptabilidad a tierras marginales, el sorgo dulce ha sido considerado como una materia prima alternativa para la producción de etanol en lugar de la caña de azúcar (Rooney et al. 2007; Almodares y Hadi, 2009; Xin y Wang, 2011; Calviño y Messing, 2012; Zegada-Lizarazu y Monti, 2012). Otra propiedad interesante es que en la cosecha del tallo también es posible recuperar el grano, o maicillo, el cual en algunas variedades de sorgo dulce tiene características nutricionales atractivas (Cifuentes et al. 2014) y se usa actualmente tanto como un alimento

Stalk biomass and soluble carbohydrates productivities of three sweet sorghum varieties subject to cold stress

ABSTRACT: Sweet sorghum is a promising crop for bioethanol production that is cultivated in warm as in temperate climates. Sorghum in general is a cold susceptible plant but little is known of the cold stress effects on the stalk productivity and

para animales (Blummel et al. 2009) como en productos para humanos (Dicko et al. 2006).

La región noreste de África se considera el centro de origen y de la domesticación del sorgo. Actualmente se cultiva tanto en tierras calientes y semiáridas hasta tierras altas frías con climas templados. Como resultado de años de cultivo bajo condiciones tan diversas, ha tomado lugar una amplia gama de adaptaciones de la planta, por ejemplo, existen sorgos adecuados para cosechas múltiples, aquellos con excelentes productividades de granos nutritivos, y otros con alta producción de biomasa o forrajeros, y entre ellos los que acumulan carbohidratos solubles en su tallo al madurar o sorgos azucarados o dulces (Tesso et al. 2011). Muestra una alta variabilidad genética debido a su adaptación a climas tropicales y templados y existe un intercambio genético entre las diferentes razas (Elangovan et al. 2014). Dichas interacciones significativas entre genotipo y sitios de cultivo han sido discutidas a profundidad (Elangovan et al. 2014). Al sorgo se le considera un cultivo susceptible a las bajas temperaturas y el daño por frío (Zegada-Lizarazu y Monti, 2012). Híbridos tolerantes al frío han sido desarrollados previamente, especialmente por investigadores mexicanos (Osuna-Ortega et al. 2003; Cisneros-López et al. 2009; León-Velasco et al. 2009^a, 2009b). En EEUU y en China también se han logrado producir sorgos que contienen semillas con vigor excepcional para ser sembradas entrando la primavera cuando todavía persisten bajas temperaturas (Yu y Tuinstra, 2001; Franks et al. 2006; Knoll y Ejeta, 2008; Knoll et al. 2008). Los efectos del daño por frío son: un ciclo más largo de desarrollo, retrasos en la floración, polen estéril y una reducción drástica en la productividad del grano (Ulukan, 2008).

Se conoce relativamente poco de los efectos del estrés por frío sobre la acumulación de azúcar en el tallo de las variedades dulces. Una publicación reciente (Wang et al. 2014) informó de los efectos de heladas sobre variedades de caña de azúcar y sorgo dulce ya desarrolladas y sembradas en macetas. La baja temperatura causó daño en el tejido vascular de la caña de azúcar pero no en el sorgo dulce. Sin embargo, se encontraron cambios drásticos en los carbohidratos en ambos cultivos.

El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de caracterizar los efectos ocasionados por bajas temperaturas, debido al

incremento en la altitud del cultivo, sobre el desarrollo de la planta y la producción de biomasa y azúcar de tres variedades de sorgo dulce cultivadas a campo abierto. En altitudes elevadas las plantas estuvieron expuestas a heladas y bajas temperaturas.

Materiales y métodos

Sitios experimentales y cultivo del sorgo dulce

Los sitios de altitud baja estaban localizados en el área del Pacífico y los de altitud alta en el altiplano occidental de Guatemala en el Departamento de Sololá. La descripción de los mismos se encuentra en el Cuadro 1. Los ensayos empezaron en el mes de julio del 2013 en plena época de lluvia. La cosecha se llevó a cabo en meses diferentes de acuerdo con la altitud del sitio experimental. En el altiplano la cosecha ocurrió durante los meses más fríos del año. Las variedades ensayadas de sorgo dulce fueron Della, Top 76-6 y Umbrella. El diseño experimental empleado fue un bloque completo al azar con tres réplicas. La densidad de siembra fue la misma reportada previamente (Cifuentes et al. 2014; Rolz et al. 2014). La fertilización empleada fue de 150 kgN por ha, aplicados de la siguiente manera, un tercio dos semanas después de plantar, un tercio después de un mes y un tercio después de dos meses. Además, 50 kg de P_2O_5 y 50 kg de K_2O por ha se adicionaron junto a la primera aplicación de nitrógeno. La tasa de fertilización de nitrógeno estuvo arriba del rango recomendado de 90 a 110 kgN por ha (Erickson et al. 2012) lo cual podría causar efectos negativos sobre la productividad de biomasa y la acumulación de azúcar en el tallo. Sin embargo, nuestros experimentos anteriores a baja altitud confirmaron que, por un lado, las productividades máximas se producían cuando se empleaba entre 50 y 100 kgN por ha, y que pasado este rango hasta llegar a 150 kgN por ha, no existían, ni mejoramiento alguno, ni efectos negativos (Rolz et al. 2014).

Muestreo y manejo de los tallos

La productividad de los tallos se obtuvo a través de la cosecha de dos filas en cada unidad experimental, obteniendo el peso de los tallos previa remoción de la panoja, el follaje y las hojas

Cuadro 1. Altitud del sitio, mes de cosecha y ciclo del desarrollo de la planta

Sitio	Altitud metros sobre nivel del mar (msnm)	Mes de cosecha	Ciclo de desarrollo en días
Chiquimulilla	15	Octubre 2013	105
La Nueva Concepción	50	Octubre 2013	97
Campus Sur	284	Noviembre 2013	110
La Chaperna	809	Diciembre 2013	141
San Lucas Tolimán	1705	Diciembre 2013	146
EFA Sololá	2013	Febrero 2014	178
Campus Altiplano	2343	Marzo 2014	220

adheridas. Procedimiento que se repitió en todas las réplicas. Las muestras de tallos para análisis consistieron en cuatro a cinco tallos, escogidos al azar de diferentes filas y cortados a ras de suelo. Los tallos se limpiaron como antes se mencionó. Una muestra compuesta de cada variedad se envió el mismo día del corte al Campus Central de la Universidad. Inmediatamente se almacenaron a -10°C hasta su proceso. Los tallos se descongelaron y se cortaron manualmente con una sierra entre el segundo y cuarto nodo. Los segmentos obtenidos fueron cortados a la mitad nuevamente con cuchillo y luego pulverizados en un molino de laboratorio de alta velocidad (IKA Works A11). La humedad se obtuvo en aproximadamente 5 g del material pulverizado colocado en un horno (Fisher Scientific Isotemp Incubator) a 65°C hasta peso constante. El resto de los tallos se prensaron en un molino de tres tornillos de planta piloto con motor de 2 HP (Vencedora Magtron Modelo 721). Empleando un refractómetro (Modelo 300034 Sper Scientific Ltd) se midieron los grados Brix del jugo. Conociendo el peso de tallo prensado, la humedad inicial del tallo, la cantidad de azúcares en el jugo prensado y la humedad del residuo sólido de prensa, se calculó el contenido inicial de azúcar del tallo. Se supuso que la concentración de azúcar en el jugo prensado y en el jugo todavía atrapado en los sólidos era igual.

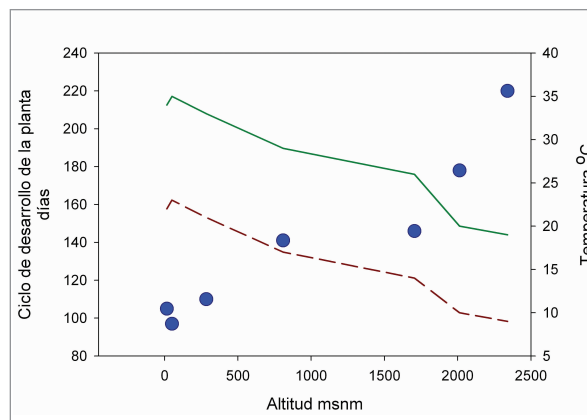
Determinaciones analíticas

La cantidad de azúcares en el jugo de sorgo prensado y en el líquido de los frascos al terminar la fermentación se determinaron empleando un cromatógrafo líquido de alta presión Agilent 1100, un detector de índice de refracción Agilent 1200, con una columna Zorbax NH2, de 25 cm de largo y 4.6 mm de diámetro interno, y acetonitrilo en agua (70-30) como fase móvil. Sacarosa, glucosa y fructosa grado reactivo se emplearon como estándares en la calibración. El etanol se cuantificó en un cromatógrafo de fase gaseosa Agilent 6890N con una columna HPPlot/Q, de 30 m de largo y 32 mm de diámetro interno.

Resultados y discusión

Ciclo de desarrollo de la planta y productividad del tallo en función de la altitud

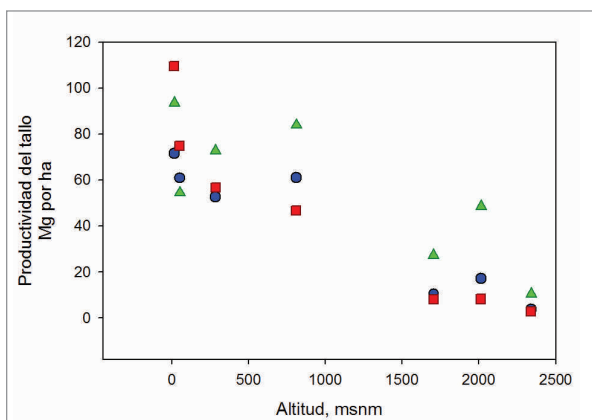
Todas las variedades de sorgo alcanzaron su grado de madurez establecido por suavidad del grano aproximadamente al mismo tiempo. Los datos del desarrollo de la planta se muestran en la Gráfica 1. En ella se observa claramente un aumento del ciclo con respecto a la altitud del sitio experimental. Una diferencia de aproximadamente 2.2 veces se encontró entre los dos puntos extremos de la altitud. La temperatura del sitio experimental descendió gradualmente con la altitud, sin embargo, a partir de aproximadamente 1,700 metros sobre el nivel del mar, se pronunció el descenso. Notar que en la altitud más baja la ventana de temperatura entre el valor mínimo nocturno y el valor máximo diurno estuvo entre 22 y 34°C ; y en la altitud máxima entre 9 y 19°C . De hecho, la cantidad de días por mes en la que la temperatura mínima nocturna bajo de 10°C



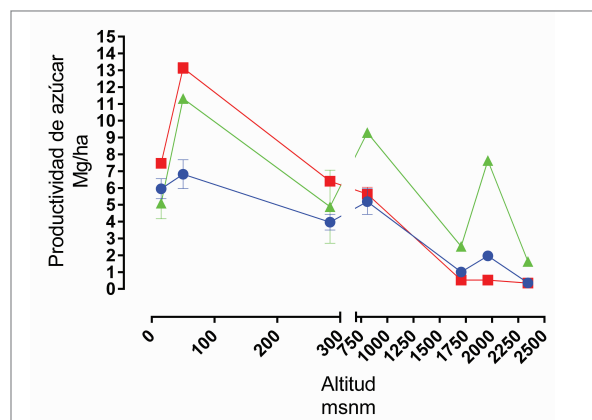
Gráfica 1. Cambios en el ciclo de desarrollo de la planta en días (círculos) en función de la altitud del sitio experimental en metros sobre el nivel del mar (msnm). Las líneas muestran la temperatura promedio máxima y mínima.

durante el período de Julio 2013 a marzo 2014 fueron 7, 4, 5, 4, 11, 17, 25, 25 y 23 respectivamente. Como consecuencia del viento prevaleciente en el mes de febrero en algunas ocasiones la temperatura mínima nocturna estuvo por debajo de 0°C .

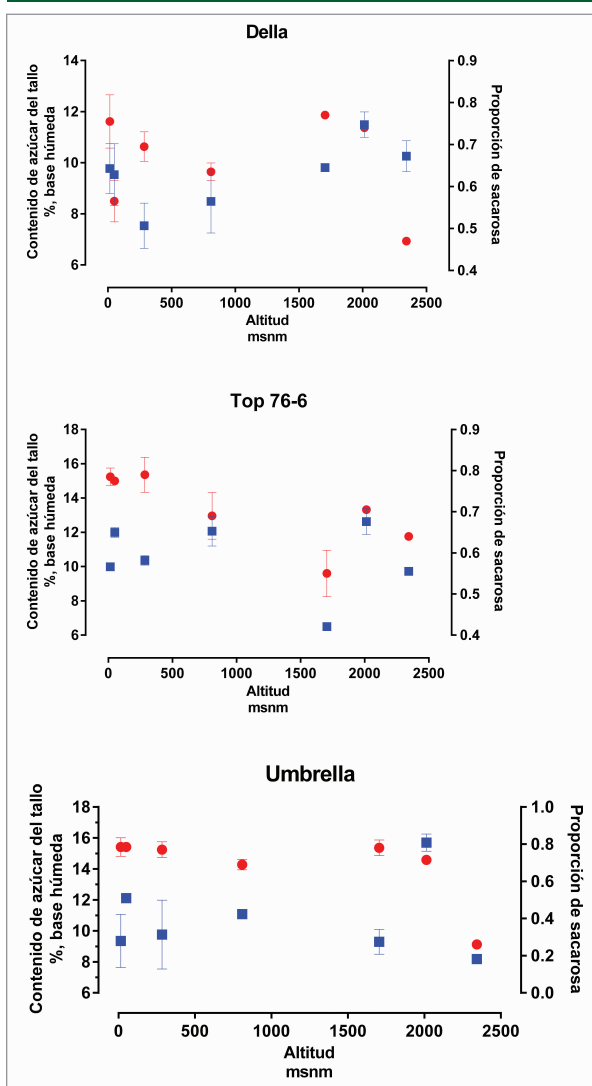
La respuesta del sorgo dulce causada por las condiciones de estrés por bajas temperaturas fueron un aumento del ciclo de desarrollo y una pérdida en la productividad de la biomasa del tallo, ambos efectos característicos de un daño severo por frío (Ulukan, 2008). Como se mostró en el Cuadro 1, el ciclo de desarrollo o días transcurridos para lograr la madurez estuvieron entre 97 y 220 días. Sorgos Durra de Etiopía cultivados, tanto en tierras bajas, menos de 1,600 msnm con temperaturas mínimas de 14°C , como en tierras de altitud media, entre 1,600 y 1,900 msnm con temperaturas mínimas de 13.8°C , mostraron una variabilidad en el ciclo de desarrollo entre 134 y 211 días (Tesso et al. 2011), similar a los informados anteriormente. Sin embargo, nuestros datos correspondientes a los ciclos de desarrollo más largo fueron obtenidos en sitios experimentales arriba de los 1,900 msnm con una temperatura mínima nocturna promedio de 9°C y con algunas noches debajo de 0°C en el mes de Febrero. Se ha estimado previamente que la mínima temperatura a la cual el sorgo alcanza la madurez deseada es de 10°C (Zegada-Lizarazu y Monti, 2012), lo que significa sin duda que las variedades de sorgo dulce estuvieron sujetas en la parte final de su desarrollo a un estado de estrés crítico causado por frío. En la Gráfica 2 se observa la disminución de la productividad del tallo, expresada en base húmeda, para las variedades de sorgo dulce ensayadas. La disminución asemeja una tendencia lineal, a pesar de que la dispersión en los puntos experimentales fue diferente para cada una de las variedades. Tal tendencia negativa con respecto a la altitud puede atribuirse al daño por frío, ya que se conoce que el estrés inducido por las bajas temperaturas puede perturbar el metabolismo celular de la fotosíntesis (Allen y Ort, 2001). Los efectos negativos anteriores han sido estudiados también en variedades de caña de azúcar sensibles al frío, las cuales han mostrado un contenido



Gráfica 2. Cambio de la productividad del tallo en base húmeda en función de la altitud del sitio experimental en metros sobre el nivel del mar (msnm). Círculos: Della. Cuadrados: Top 76-6. Triángulos: Umbrella



Gráfica 4. Productividad del azúcar de tres variedades de sorgo dulce en función de la altitud. Los símbolos definen las variedades como en la Gráfica 2.



Gráfica 3. Cambio del contenido de azúcar en el tallo y la proporción de sacarosa en función de la altitud del sitio experimental en metros sobre el nivel del mar (msnm). Cuadrados: contenido de azúcar del tallo (eje vertical izquierdo). Círculos: Proporción de sacarosa (eje vertical derecho).

bajo de clorofila, una fotosíntesis restringida y una peroxidación de los lípidos de la membrana del plasma, y a su vez, una acumulación de malondialdehído (MDA) como el producto de las reacciones y una perturbación del metabolismo de los antioxidantes (Sales et al. 2013; Zhu y Liao, 2013; Zhang et al. 2014;).

Contenido de azúcares del tallo maduro en función de la altitud

Los datos de los valores Brix (sólidos solubles), el contenido de azúcar y la proporción de los azúcares individuales de las diferentes variedades en cada sitio de altitud diferente se listan en el Cuadro 2.

El análisis de variancia de dos factores mostró que el contenido de azúcar en el tallo fue significativamente diferente entre los sitios experimentales ($F = 20.28$, $P = 0.0000$), entre las variedades ($F = 7.63$, $P = 0.0032$), y la interacción entre ambas ($F = 6.27$, $P = 0.0001$). Un resultado similar se obtuvo para la proporción de sacarosa, ($F = 38.49$, $P = 0.0000$), ($F = 5.15$, $P = 0.0151$), ($F = 11.67$, $P = 0.0000$) respectivamente. El modelo empleado explicó satisfactoriamente la variación de los datos, los valores de R^2 ajustado fueron 0.82 y 0.90 respectivamente.

Tales resultados permiten sugerir que las variedades de sorgo ensayadas modifican el metabolismo de los carbohidratos como una respuesta al estrés por bajas temperaturas. Conclusión a la cual también llegaron Yu y Tuinstra (2001) con sorgos de grano. Por otro lado, en caña de azúcar se ha informado que el daño por frío induce a una acumulación de azúcares solubles en el tallo, efecto que se observa más pronunciado en variedades de caña resistentes al frío (Sales et al. 2013; Zhang et al. 2014). La acumulación anterior no se observó en las variedades de sorgo ensayadas como se muestra en la Gráfica 3.

Cuadro 2. Sólidos solubles (Brix), contenido de azúcar del tallo % en base húmeda, proporción de sacarosa, glucosa y fructosa en fracción del azúcar total

Altitud msnm	Variedad	Brix		Contenido de azúcar del tallo %		Sacarosa	Glucosa	Fructosa
		Promedio	De ^a	Promedio	De ^a			
15	Della	16.9	0.9	9.77	0.98	0.75	0.15	0.10
	Top 76-6	15.5	0.4	9.99	0.11	0.79	0.13	0.08
	Umbrella	15.9	2.3	9.36	0.71	0.79	0.14	0.07
50	Della	13.9	0.9	9.54	1.21	0.57	0.23	0.20
	Top 76-6	17.6	0.0	12.00	0.30	0.78	0.13	0.09
	Umbrella	16.7	0.8	12.11	0.18	0.79	0.13	0.09
284	Della	14.4	0.6	7.54	0.89	0.69	0.19	0.12
	Top 76-6	18.2	0.4	10.36	0.28	0.79	0.12	0.09
	Umbrella	15.3	0.4	9.76	2.22	0.77	0.17	0.06
809	Della	15.8	0.1	8.49	1.24	0.63	0.21	0.16
	Top 76-6	17.0	0.2	12.07	0.87	0.69	0.22	0.09
	Umbrella	16.9	0.5	11.08	0.13	0.69	0.21	0.10
1,705	Della	16.1	0.1	9.81	1.10	0.77	0.11	0.12
	Top 76-6	14.1	1.4	7.17	0.93	0.80	0.14	0.05
	Umbrella	17.6	0.6	9.30	0.81	0.78	0.16	0.06
2,013	Della	19.2	0.4	11.49	0.49	0.74	0.17	0.09
	Top 76-6	18.6	0.8	12.63	0.76	0.71	0.20	0.09
	Umbrella	20.5	0.1	15.70	0.55	0.71	0.21	0.08
2,343	Della	17.0	0.5	10.26	0.70	0.47	0.25	0.27
	Top 76-6	15.4	1.0	9.72	0.06	0.64	0.24	0.12
	Umbrella	12.5	0.7	8.18	0.03	0.26	0.45	0.29

^a Desviación estándar obtenida de dos análisis

La variación en la distribución de los diferentes azúcares entre variedades y sitios experimentales puede visualizarse en términos de cocientes. El Cuadro 3 muestra dos cocientes empleados recientemente: a) el cociente entre la suma de los azúcares reductores sobre los azúcares no-reductores, empleado como un indicador del contenido total de azúcar (Rolz et al. 2014), y b) el cociente entre glucosa y fructosa, el cual se encontró que variaba de acuerdo al daño por frío (Wang et al. 2014). El primer cociente mostró que las variedades Della y Umbrella mostraron una alta proporción de azúcares reductores en los sitios de mayor altitud. El segundo cociente mostró en las mismas variedades una mayor concentración de fructosa. Estos eventos no fueron observados en la variedad Top 76-6.

Productividad de azúcar

Conociendo la productividad del tallo en Mg/ha y la cantidad de azúcar del tallo se calculó la productividad del azúcar contenida en el tallo y expresada como Mg por ha. El resultado obtenido se ilustra en función de la altitud del sitio experimental en la Gráfica 4. Los valores más altos se obtuvieron a 50 msnm

y estuvieron alrededor de 13 Mg/ha. De esta altura en adelante se observó un descenso gradual de la productividad del azúcar, debido principalmente a la reducción de la productividad del tallo en función de la altitud presentada anteriormente.

Conclusión

Los resultados de este trabajo sugieren que es necesario desarrollar variedades de sorgo dulce con mayor resistencia a las bajas temperaturas de manera que se mantenga la productividad del tallo en valores normales y con esto se pueda ampliar el horizonte del cultivo. La producción de azúcar, y por lo tanto, la eventual producción de etanol son menos susceptibles al frío extremo. En la caña de azúcar, genes de *Saccharum spontaneum* están siendo introducidos en híbridos de caña energética (Khan et al. 2013). Híbridos de sorgo dulce con resistencia al frío, similares a las variedades de sorgo de grano de la China (Knoll y Ejeta, 2008) tolerantes al estrés de bajas temperaturas podrían expandir la producción nacional a tierras de mediana y elevada altitud típicas del altiplano.

Cuadro 3. Cocientes obtenidos de la distribución de azúcares individuales

Variedad	Altitud msnm	(Suma de Glucosa y Fructosa)/ Sacarosa	Glucosa/Fructosa
Della	15	0.33	1.50
	50	0.75	1.15
	284	0.45	1.58
	809	0.59	1.31
	1,705	0.30	0.92
	2,013	0.35	1.89
	2,343	1.11	0.93
Top 76-6	15	0.27	1.63
	50	0.28	1.44
	284	0.27	1.33
	809	0.45	2.44
	1,705	0.24	2.80
	2,013	0.41	2.22
	2,343	0.56	2.00
Umbrella	15	0.27	2.00
	50	0.28	1.44
	284	0.30	2.83
	809	0.45	2.10
	1,705	0.28	2.67
	2,013	0.41	2.63
	2,343	2.85	1.55

Agradecimiento

Este trabajo obtuvo financiamiento parcial del Programa USDA Food for Progress 10 y del proyecto FODECYT 09-2011 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONCYT.

Bibliografía

- Allen D.J., Ort D.R. (2001) *Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate plants* Trends in Plant Science 6: 36-42.
- Almodares A. Hadi M.R. (2009) *Production of bioethanol from sweet sorghum: A review* African Journal of Agricultural Research 4: 772-780.
- Blummel M., Rao S.S., Palaniswami, S., Shah L., Reddy B.V.S. (2009) *Evaluation of sweet sorghum used for bio-ethanol production in the context of optimizing whole plant utilization* Animal Nutrition and Feed Technology 9: 1-10.
- Calviño M., Messing, J. (2012) *Sweet sorghum as a model system for bioenergy crops* Current Opinion in Biotechnology 23: 323-329.
- Cifuentes R., Bressani R., Rolz C. (2014) *The potential of sweet sorghum as a source of ethanol and protein* Energy for Sustainable Development 21:13-19.
- Cisneros-López M.E., Mendoza-Onofre L.E., Zavaleta-Mancera H.A., Mora-Aguilera G. (2009) *Floral Traits and Seed Production of Sorghum A-, B- and R-lines under Chilling Field Temperatures* Journal of Agronomy and Crop Science 195 : 464-471.
- Dicko M.H., Gruppen H., Traoré A.S., Voragen A.G.J., van Berkel W.J.H. (2006) *Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities* African Journal of Biotechnology 5: 384-395.
- Elangovan M., Kiran Babu P., Seetharama N., Patil J.V. (2014) *Genetic Diversity and Heritability Characters Associated in Sweet Sorghum [Sorghum bicolor (L.) Moench]* Sugar Technology 16: 200-210.
- Franks C.D., Burrow G.B., Burke J.J. (2006) *A Comparison of U.S. and Chinese Sorghum Germplasm for Early Season Cold Tolerance* Crop Science 46: 1371-1376.
- Erickson J.E., Woodard K.R., Sollenberger L.E., (2012) *Optimizing sweet sorghum production for biofuel in the Southeastern USA through nitrogen fertilization and top removal* Bioenergy. Research 5: 86-94.
- Khan N.A., Bedr R., Parco A., Bernaola L., Hale A., Kimbeng C., Pontif M., Baisakh N. (2013) *Identification of cold-responsive genes in energy cane for their use in genetic diversity analysis and future functional marker development* Plant Science 211: 122-131.
- Knoll J., Ejeta G. (2008) *Marker assisted selection for early season cold tolerance in sorghum: QTL validation across populations and environments* Theoretical and Applied Genetics 116: 541-553.
- Knoll J., Gunaratna N. Ejeta G. (2008) *QTL analysis of early-season cold tolerance in sorghum* Theoretical and Applied Genetics 116: 577-587.
- León-Velasco H., Mendoza-Onofre L.E., Castillo-González F., Cervantes-Santana T., Martínez-Garza A. (2009) *Evaluation of two generations of cold-tolerant sorghum hybrids and parental lines. I. Genetic variability and adaptability* Agrociencia 43: 483-496.

- León-Velasco H., Mendoza-Onofre L.E., Castillo-González F., Cervantes-Santana T., Martínez-Garza A. (2009) *Evaluation of two generations of cold-tolerant sorghum hybrids and parental lines. II. Combining ability, heterosis and heterobeltiosis* Agrociencia 43: 609-623.
- Makanda I., Tongoon P., Derera J., Sibiya J., Fato P. (2010) *Combining ability and cultivar superiority of sorghum germplasm for grain yield across tropical low- and mid-altitude environments* Field Crops Research 116,: 75-85.
- Osuna-Ortega J., Mendoza del Castillo M. dC., Mendoza-Onofre L.E. (2003) *Sorghum cold tolerance, pollen production, and seed yield in the central high valleys of Mexico* Maydica 48: 125-132.
- Rolz C., de León R., Mendizábal de Montenegro A.L., Cifuentes R. (2014) *Ethanol from sweet sorghum in a year-round production cycle* Biomass Conversion and Biorefinery 4: 341-350.
- Rooney W.L., Blumenthal J., Bean B., Mullet J.E. (2007) *Designing sorghum as a dedicated bioenergy feedstock* Biofuels Bioproducts and Biorefining 1: 147-157.
- Sales C.R.G., Ribeiro R.V., Silveira J.A.G., Machado E.C., Martins M.O., Lagoa A.M.M.A. (2013) *Superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improve the recovery of photosynthesis in sugarcane plants subjected to water deficit and low substrate temperature* Plant Physiology and Biochemistry 73: 326-336.
- Tesso T. Tirfessa A., Hussein M. (2011) *Association between morphological traits and yield components in the durra sorghums of Ethiopia* Hereditas 148: 98-109.
- Ulukan H. (2008) *Agronomic Adaptation of Some Field Crops: A General Approach* Journal of Agronomy and Crop Science 194: 169-179.
- Wang M.L., Cole M., Tonniss B., Pinnow D., Xin Z., Davis J., Hung Y-C. Yu J. Pederson G.A. Eggleston G. (2014) *Comparison of stem damage and carbohydrate composition in the stem juice between sugarcane and sweet sorghum harvested before and after late fall frost* Journal of Sustainable Bioenergy Systems 4: 161-174.
- Xin Z., Wang M.L. (2011) *Sorghum as a versatile feedstock for bioenergy production* Biofuels 2: 577-588.
- Yu J., Tuinstra M.R. (2001) *Genetic Analysis of Seedling Growth under Cold Temperature Stress in Grain Sorghum* Crop Science 41:1438-1443.
- Zegada-Lizarazu W., Monti A. (2012) *Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices* Biomass Bioenergy 40, 1-12.
- Zhang B-Q., Yang L-T., Li Y-R. (2014) *Physiological and Biochemical Characteristics Related to Cold Resistance in Sugarcane* Sugar Technology 17: 49-58.
- Zhu J-J., Li Y-R., Liao J-X. (2013) *Involvement of anthocyanins in the resistance to chilling-induced oxidative stress in Saccharum officinarum L. leaves* Plant Physiology and Biochemistry 73: 427-433.