Revista RENPYS
"Recursos Naturales Producción y Sostenibilidad"
ISSN 2953-6561

https://doi.org/10.61236/renpys.v4i2.1135

Publicación Semestral. Vol. 4, No. 2, julio-diciembre 2025, Ecuador (p. 37-45). Edición continua

Efecto de la concentración de Manitol en el cultivo in vitro de variedades de Morera (*Morus Alba* L.)

Natalia Geoconda Zambrano Cuadro[1*], Ángel Luis Espinosa Reyes[2], Manuel Alejandro González Palma[2]

[1]Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

[2]Universidad de Granma, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Bayamo, Granma, Cuba.

***Dirección para correspondencia:** nzambranoc@uteq.edu.ec

Fecha de Recepción: 11-03-2025 Fecha de Aceptación: 12-05-2025 Fecha de Publicación: 22-07-2025

Resumen

La morera es una planta que contiene muchos compuestos importantes con reconocidas propiedades biológicas, entre ellas: antioxidantes, antiinflamatorias, anticoagulantes, antibacterianas y anticancerígenas, que permiten determinar su uso como una alternativa para enriquecer la dieta y mejorar la salud animal y humana. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de manitol en el cultivo in vitro de variedades de morera. Se utilizaron plantas in vitro en el segundo subcultivo de las variedades Acorazonada, Criolla, Doña Betty y Yu-12. Segmentos nodales de 1 cm de longitud de las variedades usadas, se plantaron en el medio de cultivo Murashige y Skoog constituido por sales y vitaminas a razón de: 4.41 g/L, 6-BAP 0.5 mg/L, sacarosa 30 g/L y agar 6.0 g/L con diferentes concentraciones de manitol (14.86, 29.72, y 44.58 g/L). A los 40 días de cultivo, se observó la disminución de la supervivencia a medida que se aumentó la concentración de manitol en todas las variedades, pero con marcadas diferencias entre ellas. La mayor tolerancia a las dosis más elevadas de manitol lo manifestó la variedad Acorazonada y la mayor sensibilidad la variedad Doña Betty. Los valores de la longitud del brote, la masa fresca y el contenido de agua de las plantas in vitro disminuyeron en todas las variedades al emplear concentraciones mayores de manitol, pero con significativas diferencias entre los genotipos evaluados. Los resultados obtenidos indican que la variedad Acorazonada fue la más tolerante al estrés hídrico provocado por el manitol.

Palabras claves: Estrés hídrico, micropropagación, reguladores osmóticos, cultivo de tejidos, *Morus alba*.

Effect of Mannitol concentrations on the in vitro culture of Mulberry varieties (*Morus Alba* L.)

Abstract

Mulberry is a plant that contains many important compounds with recognized biological properties, including antioxidants, anti-inflammatory, anticoagulant, antibacterial and anticancer properties, which allow determining its use as an alternative in order to enrich the diet and improve animal and human health. The objective of the present work was to evaluate the effect of different mannitol concentrations on the in vitro culture of mulberry varieties. The in vitro plants of the Acorazonada, Criolla, Doña Betty and Yu-12 varieties in the second subculture were used. Nodal segments of the mulberry varieties of 1cm longitude were planted on the Murashige and Skoog

IDs Orcid:
Natalia Geoconda Zambrano Cuadro: https://orcid.org/0009-0009-1167-8988
Ángel Luis Espinosa Reyes: https://orcid.org/0000-0002-9918-641X
Manuel Alejandro González Palma: https://orcid.org/0009-0001-7716-2302

Artículo científico: Efecto de la concentración de Manitol en el cultivo in vitro de variedades de Morera (Morus Alba L.)

culture medium, consisting for salts and vitamins (4.41 g/L), 6-BAP (0.5 mg/L), sucrose (30 g/L) and agar (6.0 g/L) with different mannitol concentrations: 14.86, 29.72, and 44.58 g/L. At 40 days after of cultivation, a decrease in the plants survival in all varieties was observed, as the concentration of mannitol was increased, although with marked differences among them. The Acorazonada variety showed the greatest tolerance and the Doña Betty variety exhibited the highest sensitivity to the highest doses of mannitol. The shoot length and fresh mass values and water content of the in vitro plants decreased in all varieties evaluated, when higher concentrations of mannitol were used, but with significant differences between the genotypes evaluated. The obtained results indicated that the Acorazonada variety was the most tolerant to water stress caused by mannitol.

Keywords: water stress, micropropagation, osmotic regulators, tissue culture, *Morus alba*.

1. INTRODUCCIÓN

La morera (*Morus alba* L.), una planta forrajera originaria del Himalaya, que demostró excelentes cualidades para la alimentación de diferentes especies de animales. Su valor nutricional es uno de los más altos entre los forrajes tropicales no leguminosos (Martín *et al*., 2017). Las hojas y raíces de la morera contienen metabolitos secundarios fundamentalmente flavonoides con actividad antioxidantes, antiinflamatorios y anticoagulantes con acción protectora del sistema cardiovascular (Ma *et al*., 2019., Gil *et al*, 2023). Así mismo, estudios realizados por Jan *et al*. (2022) y Salama *et al*. (2022), indicaron que los flavonoides que se extraen de *Morus alba* poseen propiedades antibacterianas, antivirales, antialérgicas, anticancerígenas y hepatoprotectoras.

En otro sentido, Özelçi *et al*. (2022), plantearon que la capacidad de la morera de adaptarse a las diferentes condiciones climáticas y del suelo, es un cultivo a considerar por su potencial como planta para la generación de energía a partir de su biomasa, bajo condiciones sequía prolongadas, provocadas por el cambio climático.

En relación con esto el empleo de variedades capaces de tolerar mejor los prolongados periodos de sequías, manteniendo un rendimiento alto de biomasa vegetal, posibilita obtener una mayor cantidad de los productos derivados de este cultivo.

Entre las múltiples aplicaciones y ventajas que ofrece el cultivo de tejidos vegetales en comparación con los métodos tradicionales, destaca su uso para la selección *in vitro*, técnica que permite la selección de plantas tolerantes a factores bióticos y abióticos entre ellos la salinidad y la sequía.

Este método se consideró más simple y económico en comparación con los tradicionales de selección (Mehmandar *et al*., 2023). Durante este proceso el empleo de compuestos que provocan cambios en el potencial osmótico de las disoluciones o medios de cultivos en condiciones *in vitro* se empleó con éxito (Tran *et al*., 2020, Tajaragh *et al*., 2022).

En condiciones *in vitro*, cuando las plantas crecen en presencia de un agente osmoestresante, se incorpora al medio de cultivo, se reduce su potencial osmótico y de esta manera se dificulta la absorción de agua, en estas condiciones se producen cambios fisiológicos, morfológicos y bioquímicos en las plantas como respuesta a dicho estrés como son: disminución del crecimiento en las plántulas, incrementos de la longitud, peso, volumen y densidad de las raíces, este constituye el principio en que se basa la selección *in vitro* de plantas tolerantes al estrés hídrico. (Ayed *et al*. 2017).

El manitol es un azúcar alcohol, que se utlizó en los medios de cultivo *in vitro* como agente osmótico para la caracterización y selección de somaclones con resistencia a la sequía, tales son los casos de *Cenchrus ciliare* (Carloni *et al*., 2017), *Manihot esculenta* (Jolayemi & Opabode, 2018), *Solanum tuberosum* (Sattar *et al*., 2021).

El efecto de la concentración de manitol en el cultivo *in vitro* de morera se evaluó fundamentalmente con fines de conservación *in vitro* del germoplasma por la técnica de crecimiento mínimo (*Malus domestica*, *Oxalis tuberosa* y *Catasetum integerrimum* (López & Herrera, 2022). Sin embargo, su uso para la selección *in vitro* de cultivares de morera resistentes al estrés hídrico es poco explorado. En relación con esto, en el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto *in vitro* de la concentración de manitol sobre diferentes variedades de morera.

En esta sección, redactada en presente, el autor expresa el propósito del artículo, alcances, el contexto del problema a resolver, para lo cual presenta en forma breve las más recientes e importantes investigaciones relacionadas con el tema, que en promedio tengan 5 años de antigüedad, salvo los clásicos de consulta obligada. Son fundamentales la hipótesis o pregunta de la investigación y el problema planteado. Finalice con el objetivo de la investigación.

2. METODOLOGÍA (Materiales y métodos)

2.1 Lugar de Estudio

La investigación se desarrolló en el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Granma en el período comprendido de abril de 2024 a octubre 2024.

2.2 Unidades de estudio

Se utilizaron plantas *in vitro* de morera de las variedades: Acorazonada, Criolla, Doña Betty y Yu-12 en el segundo subcultivo, las cuales fueron elegidas por sus características morfológicas para lograr la mayor homogeneidad posible. Los valores medios se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Características morfológicas de las plantas utilizadas en el estudio

Variedad	Longitud brote (cm)	Número hojas	Número raíces	Número de nudos
Acorazonada	2.30	3.50	3.80	3.10
Criolla	2.25	3.10	2.30	2.90
Doña Betty	2.42	3.10	2.05	3.00
Yu-12	2.40	3.60	2.00	2.30

2.3 Elaboración del medio de cultivo

El medio de cultivo utilizado fue el propuesto Salas *et al*. (2005), constituido por las sales completas y vitaminas MS (Murashige y Skoog, 1962) a razón de 4.41 g/L, 6-BAP 0.5 mg/L, sacarosa 30 g/Ly agar 6.0 g/L.

2.4 Diseño Experimental

Se evaluaron las concentraciones de manitol: 14.86, 29.72 y 44.58 g/L respectivamente, para simular los potenciales hídricos: -0.2, -0.4, y -0.6 MPa, establecidos mediante la ecuación de Van't Hoff. Se utilizó un tratamiento testigo sin manitol.

Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo factorial (factor A: variedades y factor B: concentraciones de manitol, que incluyen el testigo absoluto), para un total de 16 tratamientos (Tabla 2).

Tabla 2: Tratamientos evaluados

Variedades	Manitol (g/L)			
	0.00	14.86	29.72	44.58
Acorazonada	T1	T2	T3	T4
Criolla	T5	T6	T7	T8
Doña Betty	T9	T10	T11	T12
Yu-12	T13	T14	T15	T16

2.5 Condiciones de cultivo in vitro

Los medios de cultivo se mantuvieron en reposo en la oscuridad durante tres días antes de su uso, para detectar cualquier tipo de contaminación. La manipulación del material vegetal se realizó en condiciones asépticas de cabina de flujo laminar horizontal (FASTER).

Las plantas *in vitro* se cortaron en segmentos nodales con una yema axilar, a una longitud de 1 a 2 cm, a los

cuales se les eliminaron las hojas y se colocaron en los frascos con medio de cultivo a razón de una por frasco.

En cada tratamiento se utilizaron 20 explantes, donde cada tubo de ensayo constituyó una repetición.

La incubación de los cultivos se realizó en cámaras de crecimiento con luz solar a 25 ± 2.0 °C; humedad relativa 70 a 80 %, fotoperiodo 11-12 horas luz e intensidad luminosa 60-70 µmol.m^{-2}s^{-1}.

2.6 Variables evaluadas

A los 40 días se evaluaron las variables:

- Supervivencia (%). Determinada por la fórmula.

$$\text{Superviencia} = \frac{\text{Número de explantes vivos X 100}}{\text{Número de explantes sembrados}}$$

- Longitud de los brotes (cm): Se determinó midiendo con una regla graduada.
- Masa fresca de la *planta in vitro* completa (g). Se determinó con una balanza analítica.
- Contenido de agua (CA) (%). Determinado mediante la fórmula

$$\text{CA} = \frac{\text{masa fresca de la planta} - \text{masa seca de la planta X 100}}{\text{masa fresca de la planta}}$$

2.7 Análisis Estadísticos

La normalidad de los datos se comprobó por la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y la homogeneidad de las varianzas, por el test de Levene. Como se encontró normalidad y homogeneidad de varianza, se realizó un análisis de varianza bifactorial.

En los casos donde hubo diferencias significativas entre las medias, se aplicó la prueba de comparación múltiple de rango de Tukey para $p = 0.05$. Las variables expresadas en porcentaje se procesaron mediante un análisis de diferencias de proporciones. Se utilizó el programa estadístico Infostat 2020 (Di Rienzo *et al.*, 2020).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró que la supervivencia de los explantes, estuvo significativamente afectada de forma independiente por los factores concentración de manitol y variedad y por la interacción entre ellos (Tabla 3).

De forma general se observó la tendencia a disminuir la supervivencia a medida que aumentó la dosis de manitol en todas las variedades, aunque la influencia del genotipo también se manifestó en las respuestas diferenciadas de las variedades a las condiciones de cultivo.

Tabla 3: Efecto de la concentración de manitol en la supervivencia de plantas in vitro de morera a los 40 días de cultivo

Variedades	Concentración de manitol (g/L)			
	0.0	14.86	29.72	44.58
Acorazonada	90.10 a	66.67 bcd	65.43 bdde	55.51 defg
Criolla	60.33 cde	59. 00 def	55.56 defg	47.30 fg
Doña Betty	72.67 b	62.33 bcde	53.67 defg	35 h
Yu-12	71.33 bc	64.67 bcde	56.30defg	46 gh

Letras diferentes para una misma columna indican diferencias significativas según prueba de comparación de medias de Tukey p≤ 0.05.EE(X) = 0.82. EE(X): Error estándar de la media.

La mayor cantidad de explantes vivos se obtuvieron en la variedad acorazonada, cuando no se empleó manitol (90.10%) y los más bajos (35%), en la variedad Doña Betty al emplear la dosis de 44.58 g/L. Estos resultados evidencian que el empleo de manitol en el medio de cultivo, afecta la supervivencia *in vitro* de *Morus alba* L.

Este efecto se hace más acentuado a medida que aumenta su concentración, lo se atribuye a su capacidad de alterar el potencial osmótico de las células en cultivo, el cual, al hacerse más negativo, reduce la absorción de agua y en consecuencia provoca una baja disponibilidad de nutrientes, siendo precisamente la falta de estos, lo que ocasiona la muerte de los explantes.

Al respecto, trabajos publicados por Carmona *et al*. (2013), en investigaciones relacionadas con la conservación *in vitro* de *Dioscorea alata, D. bulbifera, D. rotundata y D. trífida*, observaron una disminución de la supervivencia de los explantes durante su conservación, a medida que se aumentó la concentración del manitol, resultados atribuidos al efecto osmótico del manitol.

Trabajos desarrollados por Tran *et al*. (2020), para simular estrés de sequía *in vitro* en el cultivo de *Solanum lycopersicum* L, observaron unas disminuciones altamente significativas en la supervivencia de los explantes al emplear concentraciones elevadas de manitol (35 g/L) con respecto a los tratamientos donde se emplearon dosis menores de este azúcar alcohol.

El efecto de las altas concentraciones de manitol en la supervivencia de los cultivos *in vitro*, también quedó corroborada en investigaciones realizadas por Bello *et al*. (2014), quienes encontraron que el uso de osmoreguladores (manitol y sorbitol) afectó negativamente la supervivencia y crecimiento de plántulas de caña de azúcar, lo cual se acentuó al aumentar las concentraciones de estos compuestos.

La longitud de los brotes estuvo significativamente influenciada por la interacción entre los factores concentración de manitol y el genotipo.

Se observó la tendencia general a disminuir la longitud de los brotes a medida que la dosis de manitol fue mayor, lo que fue observado en todas las variedades estudiadas (Figura 1).

Este resultado puede estar asociado al efecto que provoca el manitol en la disminución del potencial osmótico e hídrico del medio de cultivo, lo cual dificulta la absorción de agua y nutrientes y ocasiona una reducción en el crecimiento de la planta.

En relación con lo anterior, Espinosa *et al*. (2021), en trabajos para la conservación *in vitro* de *Morus alba* L. encontraron que la inclusión de manitol en el medio de cultivo provocó una disminución significativa de la longitud de los brotes, efecto limitante del desarrollo de los explantes que ejerce el manitol, al reducir la absorción de agua y nutrientes del medio de cultivo.

Resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo, notificaron Tran *et al*. (2020), quienes a las 4 semanas del cultivo *in vitro* observaron que las *vitroplantas* de tomate, cultivadas en medios de cultivo con 25 y 35 g/L de manitol mostraban una disminución significativa en la altura de los brotes, la cual disminuyó en aproximadamente el 50 % en comparación con el tratamiento que no utilizó manitol.

Figura 1. Brotes de morera, variedad acorazonada (A) en medios de cultivo con diferentes concentraciones de manitol

Resultados obtenidos por Tican *et al*. (2021), al evaluar la influencia del manitol para simular estrés hídrico *in vitro* en el crecimiento y desarrollo del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum)* muestran que los medios de cultivo con manitol provocaron la reducción de la altura, el número de raíces y peso fresco de las plantas, resultados que coinciden con los obtenidos en la presente investigación.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en la masa fresca de las *plantas in vitro* en las diferentes concentraciones y variedades evaluadas de forma independiente, pero no en la interacción entre estos factores.

El incremento de las concentraciones de manitol provocó la disminución de la masa fresca de las *plantas in vitro* de morera (Figura 2A), obteniéndose valores significativamente menores a medida que aumentó la concentración de manitol, para la mayor dosis de manitol, la masa fresca se redujo en más del 70 % en comparación al tratamiento sin manitol.

La masa fresca estuvo también significativamente afectada por la variedad evaluada. Los mayores valores correspondieron a la variedad acorazonada, con diferencias significativas del resto de las variedades, seguida por la variedad criolla la que supera a las variedades Doña Betty y Yu-12, las cuales no difieren entre ellas (Figura 2B).

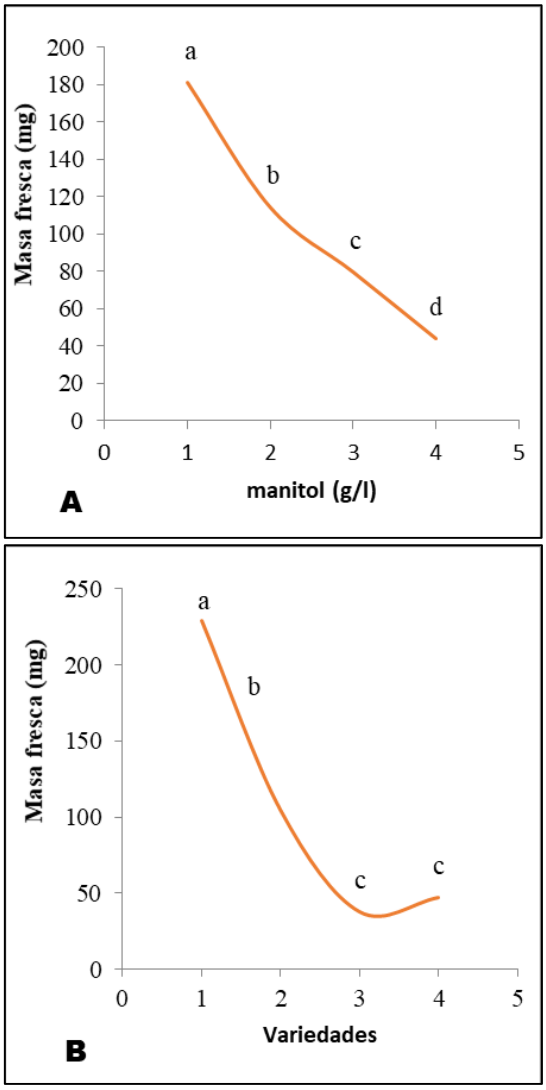

Figura 2. Efecto de la concentración de manitol (A) y la variedad (B) en la masa fresca de plantas in vitro de morera a los 40 días de cultivo

Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de comparación de medias de Tukey $p \leq 0.05$.

Estos resultados pudieran atribuirse a una disminución de la tasa fotosintética bajo las condiciones de estrés hídrico provocado por el manitol, lo cual suele ocurrir en condiciones de estrés hídrico.

Al respecto Berger *et al*. (2016), plantean que bajo condiciones de estrés hídrico ocurre el cierre de los estomas para mantener el contenido agua en las células, afecta la tasa de crecimiento de los brotes y el área foliar, lo cual repercute en la disminución de las tasa fotosintética de las plantas.

Resultados similares reportaron Millones & Vázquez (2022), al evaluar la tolerancia a la sequía simulada *in vitro* con el uso de manitol en genotipos de *Rubus spp,* quienes observaron una disminución en el contenido de materia fresca y materia seca a medida que aumentó la concentración de manitol, valores que su vez estuvieron afectado por la variedad evaluada.

En relación con esto, Sajid & Faheem (2022), sugieren que el estrés hídrico provocado por la inclusión de manitol en los medios de cultivo, crea un desbalance osmótico que induce la pérdida de tugor de las células, todo esto trae como consecuencias, en la reducción del crecimiento de los cultivos y la disminución de la actividad de los procesos metabólicos de la planta.

El contenido de agua mostró diferencias significativas para los factores concentración de manitol y variedades de forma independiente y para la interacción entre los factores.

De forma general el contenido de agua fue alto con valores superiores al 64 % en todos los tratamientos (Tabla 4), lo cual podría estar relacionado con el alto contenido de humedad que presentan los cultivos mantenidos en condiciones *in vitro*.

El contenido de humedad de manera general disminuyó con la inclusión en el medio de cultivo del manitol, sin diferencias significativas entre las dosis empleadas para las variedades Acorazonada, Criolla y Yu-12, sin embargo, para la variedad Doña Betty se observaron diferencias significativas de los tratamientos con mayores dosis de manitol (29.72 y 44.58 g/L) con respecto al tratamiento control y el tratamiento con menor concentración de manitol empleada.

Resultados obtenidos por Montiel & Belem (2016), relacionados con la conservación *in vitro* por mínimo crecimiento en genotipos de pitahaya (*Hylocereus spp*.) muestran la disminución del contenido de agua a medida que se aumentó la concentración de manitol en el medio de cultivo, lo que atribuyeron al efecto del agente osmótico que ejerce este compuesto químico en el medio de cultivo, impidiendo la entrada el agua al interior de la célula, resultados que coinciden con los obtenidos en la presente investigación.

Tabla 4. Efecto de la concentración de manitol en el contenido de agua (%) de plantas in vitro de morera a los 40 días de cultivo

Variedades	Concentración de manitol (g/L)			
	0.0	14.86	29.72	44.58
Acorazonada	92.89 a	90.28 a	88.16 ab	88.27 ab
Criolla	88.00 ab	83.48 bcd	83.61 bc	83.34 bcd
Doña Betty	90.41 a	79.28 cde	75.93 f	74.32 f
Yu-12	81.77 def	77.75 ef	74.41 f	64.07 g

Letras diferentes para una misma columna indican diferencias significativas según prueba de comparación de medias de Tukey $p \leq 0.05$.EE(X) = 0.82. EE(X): Error estándar de la media

Carlioni *et al*. (2017), en investigaciones relacionadas con la selección *in vitro* de somaclones de pastos en condiciones de estrés hídrico, observaron que el contenido de agua en las *plantas in vitro*, disminuyó significativamente cuando se utilizaron concentraciones de manitol iguales o superiores a 50 µM, resultados que también coinciden con la presente investigación.

4. CONCLUSIÓN

El aumento de la concentración de manitol en los medios de cultivo *in vitro*, provocó la disminución de la supervivencia de los explantes, así como la reducción de la longitud, la masa fresca y el contenido de agua de las plantas *in vitro* en las variedades de morera estudiadas.

En correspondencia con los resultados, la variedad Acorazonada es la más tolerante al estrés hídrico provocado por el manitol.

Contribución de los autores.- Todos los autores contribuyeron a la concepción y diseño del estudio.

La preparación del material, la recopilación de datos y el análisis fueron realizados por Ángel Luis Espinosa Reyes, Natalia Geoconda Zambrano Cuadro y Manuel Alejandro González Palma.

El primer borrador del manuscrito fue escrito por Natalia Geoconda Zambrano Cuadro y Ángel Luis Espinosa Reyes y todos los autores comentaron las versiones anteriores del manuscrito. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

Financiación.- No se recibieron fondos, subvenciones u otro tipo de apoyo.

Conflicto de intereses.- Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

5. REFERENCIAS

Ayed, S., Rezgy, M., Othmani, A., Rezgy, M., Trad, H., Teixeira, J., Ben, M., Ben, H., & Kharrat, M. (2015). Respuesta al estrés hídrico de trigos duros (*Triticum turguidum ssp*. durum) y Harineros (*Triticum aestivum*) de Túnez. Agrociencia, 51, (13-26). Recuperado en 02 de marzo de 2025 de, https://www.scielo.org.mx/

Bello, J., Poot, W., Iglesias, L., Caamal, H., Díaz, M. (2014). Comparación del efecto de osmorreguladores inhibidores del crecimiento en la conservación in vitro de Caña de azúcar, Agrociencia, 48 pp 439. https://www.redalyc.org/pdf/302/30232499008.pdf

Berger, J., Palta, J., Vadez, V. (2016). Review: An integrated framework for crop adaptation to dry environments: Responses to transient and terminal drought. Plant Science, 253, 58-67. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.09.007.

Carmona, O., Diaz, L., Beltrán, J. (2013). Efecto de los osmolitos sacarosa, manitol y sorbitol en la conservación in vitro de Dioscorea alata D. bulbifera, D. rotundata y D. trifida por el método de crecimiento mínimo. Revista Asociación Colombiana deCiencias Biológicas, (25), 1-519.

https://www.redalyc.org/pdf/776/77639196005.pdf

Carloni, E., Tommasino E., Lopéz E.(2017) In vitro selectionand characterization of buffelgrass somaclones with different responses to water stress. https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-017-1220-9

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. (2020) *InfoStat*, versión 2020, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: http://www.infostat.com.ar.

Espinosa, A., Silva, J., Pérez, J., & Zambela, A. (2021). Efecto de las sales minerales y el uso de manitol en la conservación *in vitro* de *Morus alba* L. Pastos y Forrajes, 44:eE20. Recuperado en 02 de marzo de 2025, de https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=view&path%5B%5D=2241>.

Gil, A., Lozano, A., Pérez, O., & Pérez, M. (2023) Use of mulberry (*Morus alba* L.) root culture to improve the production of bioactive compounds. Acta Horticulturae. 1359, (275-80). https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2023.1359.36

Jan, B., Zahiruddin, S., Basist, P., Mohammad,I., Sageer, A,. & Sayeed, A. (2022). Metabolomic profiling and identification of antioxidant and antidiabetic compounds from leaves of different varieties of *Morus alba* Linn grown in Kashmir. ACS Omega, 7 (24317−24328). https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01623

Jolayemi, O. & Opabode, JT. (2018). Respuesta *in vitro* de tres variedades contrastantes de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) al estrés por sequía inducido por manitol. Agricultura tropical y subtropical, 51(3): 125-131. https://doi.org/10.2478/ats-2018.0014

López, P., & Herrera., G. (2022). Germinación asimbiótica, conservación y regeneración *in vitro* de *Catasetum integerrimum*. Polibotánica, 53, 135-149. https://doi.org10.18387/polibotanica.53.9.

Ma, Y., Wei, L., Yan, G., & Shui, Y. (2019). 1-Deoxynojirimycin in mulberry (*Morus indica* L.) leaves ameliorates stable angina pectoris in patients with coronary heart disease by improving antioxidant and anti-inflammatory capacities. Frontiers in Pharmacology, 10, 569. https:// 10.3389/fphar.2019.00569.

Martín, G., Noda, Y., Pentón, G., González, N., Martínez, M., Díaz, M., & Savón, L. (2017). *Morus alba* L. Una planta multipropósito para la producción animal en Cuba. Revista Anales de la Academia de Ciencias de Cuba, 7 (1). Recuperado en 01 de marzo de 2025 de, https://www.revistaccuba.sld.cu Anales.

Mehmandar, M., Rasouli, F., Giglou, M., Zahedi, S., Hassanpouraghdam, M.., Aazami, M.A., Tajaragh, R., Ryant, P., & Mlcek, J. (2023). Polyethylene glycol and sorbitol-mediated in vitro screening for drought stress as an efficient and rapid tool to reach the tolerant *Cucumis melo* L. genotypes. Plants, 12, 870. https://doi.org/10.3390/plants12040870.

Millones, C., & Vásquez, E. (2022). Tolerancia *in vitro* de cultivares de *Rubus* spp. a estrés hídrico simulado con manitol. Agronomía Mesoamericana, 33 (1),1-13. https://dx.doi.org/10.15517/am.v33i1.46442.

Montiel, F. & Laura, B. (2016).Conservación *in vitro* de pitahaya (*Hylocereus ssp*.) mediante el cultivo de mínimo crecimiento. Tesis (Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales). Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Recuperado en 03 de marzo de 2025 de, https://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum, 15(3), 473-97. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Özelçi, D., Akbulut Beker, G,. & Yiğit, E. (2022). Effects of Melatonin on *Morus nigra* cv. 'Eksi Kara' exposed to grought stress. Journal of Agricultural Sciences (Tarim Bilimleri Dergisi), 28, 4, 555-569. https://dx.doi.org/10.15832/ankutbd.953558

Sajid, Z & Faheem A. (2022). Improvement of polyethylene glycol, sorbitol, mannitol, and sucrose-induced osmotic Stress tolerance through modulation of the polyamines, proteins, and superoxide dismutase activity in potato. International Journal of Agronomy, 1 (5158768). https://doi.org/10.1155/2022/5158768

Salama, M., Abdo, A., Mousa, A., Shaheen, A., Elsayed, A., & Soliman. (2022). *Morus alba*

Leaf Extract-Based Biogenic Production of Silver Nanoparticles: Characterization, Antibacterial, and Antiviral Evaluation. Egyptian Journal Chemistry, 65, SI:13B (605-615). https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2022.153506.6682

Salas, J., Agramonte D, Barbón R., Gutierrez O. (2005). Propagación in vitro de Morus Alba L. en medio de cultivo semisólido. Biotecnología Vegetal 5, 87

Sattar, A., Hamooh, B., Wellman, G., Ali, A., Shah, S., Anwar, Y., & Mousa, M. (2021). Growth and biochemical responses of potato cultivars under *in vitro* litium chloride and mannitol simulated salinity and drought stress. Plants, 10 (5), 924. https://doi.org/10.3390/plants10050924.

Tajaragh, R., Rasouli, F., Giglou, M., Zahedi, S., Hassanpouraghdam, M., Aazami, M., Adámková, A., & Mlcek, J. (2022). Morphological and Physiological Responses of In Vitro-Grown Cucurbita sp. Landraces Seedlings under Osmotic Stress by Mannitol and PEG. Horticulturae, 2022, 8, (1117). https://doi.org/10.3390/horticulturae8121117

Tican A., Cioloca M., Bărăscu N., Bădărău C., & Hermeziu M. (2021). *In vitro* screening of potato varieties for drought stress induced with different osmotic agents. Studia Universitatis "Vasile Goldiş", Seria Vieţii, 31, 2, (78 – 84). https://researchgate.net. Vieţii, 31, 2, (78 – 84). https://researchgate.net.

Tran T., Bui V., & Tran H. (2020). Effect of drought stress and thermal pre-treatment on the *in vitro* shoot development of *Solanum lycopersicum* L., Chemical Engineering Transactions, 78, 229-234. https://doi.org/10.3303/CET2078039.