

Efecto del cloruro de sodio en plantas *in vitro* de *Morus alba* (Original)**Effect of sodium chloride on *Morus alba* plants *in vitro* (Original)**

Jorge Luis Pérez Domínguez. Ingeniero Agrónomo. Universidad de Granma. Bayamo. Granma.

Cuba. perezdominguezjorge6@gmail.com 

Edel García Padrón. Ingeniero Forestal. Gobierno Provincial Granma. Bayamo. Granma. Cuba.

edgarcia9304@gmail.com 

Jorge Liusvert Pérez Pérez. Ingeniero Agrónomo. Doctor en Ciencias Agrícolas. Profesor Titular.

Universidad de Granma. Bayamo. Granma. Cuba. jperez@udg.co.cu 

Recibido: 03-04-2024/Aceptado: 18-05-2024

Resumen

La morera es una planta forrajera de alto contenido proteico, pero no todas las variedades responden de la misma forma a las condiciones de salinidad. En el artículo se evalúa la respuesta *in vitro* de las plantas de morera, variedades Criolla, Yu-62, Doña Betty y Acorazonada, en medios de cultivo de multiplicación y enraizamiento con diferentes valores de conductividad eléctrica (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 dS.m⁻¹). La investigación se realizó en el Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Granma. Los resultados mostraron que el incremento de las concentraciones de cloruro de sodio, afectó la respuesta morfológica de las plantas en los cuatro genotipos evaluados; de ellos, la variedad Acorazonada mostró la mayor tolerancia a este factor. Se concluye que el estrés salino inducido con cloruro de sodio afecta el tejido foliar de los cuatro genotipos de morera; la mayor afectación ocurre en niveles de salinidad iguales o superiores a 0,8 dS.m⁻¹ en el medio de cultivo.

Palabras clave: biotecnología; estrés salino; explante; morera; regeneración; salinidad.

Abstract

Mulberry is a forage plant with high protein content, but not all varieties respond in the same way to salinity conditions. The article evaluates the in vitro response of mulberry plants, Criolla, Yu-62, Doña Betty and Acorazonada varieties, in multiplication and rooting culture media with different values of electrical conductivity (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 and 1,0 dS.m⁻¹). The research was carried out at the Center for the Study of Plant Biotechnology of the University of Granma. The results showed that the increase in sodium chloride concentrations affected the morphological response of the plants in the four genotypes evaluated; of these, the Acorazonada variety showed the greatest tolerance to this factor. It is concluded that salt stress induced with sodium chloride affects the leaf tissue of the four mulberry genotypes; the greatest affectation occurs at salinity levels equal to or higher than 0.8 dS.m⁻¹ in the growing medium.

Keywords: biotechnology; salt stress; explant; mulberry; regeneration; salinity.

Introducción

La morera (*Morus alba* L.) es una planta forrajera que ha demostrado excelentes cualidades para la alimentación de diferentes especies de animales. Sus hojas constituyen la fuente exclusiva para la alimentación del gusano de la seda (*Bombyx mori* L.) (Sarkar et al., 2018). Sin embargo, no todas las variedades de morera responden de la misma forma bajo condiciones estresantes de salinidad, pues el nivel de susceptibilidad o tolerancia varía de una a otra (Vijayan et al., 2004).

La principal característica de los suelos salinos es la deposición de sales minerales como NaCl, Na₂SO₄, MgSO₄, NaHCO₃, Na₂CO₃, CaSO₄, CaCO₃. La acumulación de sal en la superficie del suelo, se produce debido al aumento del nivel del agua subterránea, que con el tiempo se satura

de sales. La tolerancia a la salinidad en un cultivo se puede definir como su capacidad para tolerar al exceso de concentración de sal (Mishra et al., 2021).

El estrés salino puede reducir la productividad en las plantas de morera mediante inhibición del crecimiento vegetativo y la fotosíntesis afecta la biosíntesis de clorofila e induce cambios morfo-químicos y anatómicos (Wulandari et al., 2021). Los estudios realizados en morera se concentran en países asiáticos y su realización en condiciones de campo tienen como limitantes que requieren una gran cantidad de recursos y espacio, unido a las complejas interacciones entre las plantas y los diferentes componentes del suelo (Vijayan et al., 2004).

Singh et al. (2020, citado por García et al., 2024) considera que: "Una alternativa para estos estudios es el cultivo *in vitro*, como una vía más rápida que las herramientas convencionales para identificar y seleccionar plantas tolerantes a estos tipos de estrés abiótico, en condiciones controladas con espacios y tiempos limitados" (p. 185). Por ello, el presente artículo tiene como objetivo evaluar el efecto del cloruro de sodio en plantas *in vitro* de morera.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal (CEBVEG) de la Universidad de Granma. A partir de brotes rejuvenecidos y con ayuda de una tijera, se tomaron segmentos nodales que contenían una yema axilar, los cuales fueron utilizados como material inicial para el cultivo *in vitro* de las variedades Acorazonada, Criolla, Doña Betty y Yu-62.

La esterilización de los platos metálicos, frascos y medios de cultivo, se realizó en autoclave vertical (BK-75) a 121 °C y 1,2 kgf.cm⁻² de presión por 20 minutos. Las pinzas y bisturíes, se desinfectaron a 300 °C durante cinco minutos, en esterilizadores eléctricos.

La desinfección de los explantes se realizó en cabina de flujo laminar horizontal con hipoclorito de sodio 1,0 % por 20 minutos; al finalizar se enjuagó tres veces con agua desionizada estéril. Luego fueron colocados en frascos de vidrio que contenían medio de cultivo de iniciación, con las sales y vitaminas MS (Murashige y Skoog, 1962) 4,32 g.L⁻¹, bencilaminopurina (6-BAP) 0,5 mg.L⁻¹, sacarosa 30 g.L⁻¹, Agar 6,0 g.L⁻¹ y pH 5,8.

Después de cuatro semanas de cultivo, las yemas fueron individualizadas y transferidas por igual periodo de tiempo, a un medio de cultivo de multiplicación con las sales y vitaminas MS 100%, 6-BAP 2,5 mg.L⁻¹, ANA 0,5 mg.L⁻¹, ácido giberélico 0,3 mg.L⁻¹, sacarosa 30 g.L⁻¹, Agar 6,0 g.L⁻¹ y pH 5,8 en diferentes concentraciones de cloruro de sodio con conductividad eléctrica de 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 dS.m⁻¹ durante 30 días. Posteriormente los brotes de plantas *in vitro* fueron subcultivados a medio de cultivo de enraizamiento en iguales concentraciones de sales y se utilizó como regulador de crecimiento, el ácido indolbutírico (AIB) 1,0 mg.L⁻¹.

Los frascos de cultivo se colocaron en cámaras de crecimiento con luz solar indirecta a una temperatura de $25 \pm 2,0$ °C, humedad relativa 70 a 80 %, fotoperiodo 11-12 horas luz e intensidad luminosa 60-70 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Al cabo de los 30 días de cultivo, se evaluó la presencia de clorosis o necrosis en las hojas de las plantas sometidas al estrés con cloruro de sodio y en el tratamiento control. En cada tratamiento fueron seleccionadas 10 plantas por variedad para su evaluación *in vitro*.

Para determinar el grado de afectación de las plantas *in vitro* por efecto del cloruro de sodio, se utilizó una escala cualitativa que permitió diferenciar los diferentes grados de formación de clorosis: Grado 1 - sin afectación, Grado 2 - clorosis inicial en el borde, Grado 3 - clorosis en el interior de la hoja < 25 %, Grado 4 - clorosis 25-50 % de la hoja, Grado 5 - clorosis 50-75 % de la hoja, Grado 6 - clorosis 75-90 % de la hoja y Grado 7 - clorosis 100 % de la hoja.

Además se realizaron evaluaciones morfológicas cuantitativas y se determinó: número de hojas y raíces, longitud del brote (cm) y supervivencia (%).

Los frascos por tratamiento fueron ubicados bajo un diseño completamente al azar. Para determinar la normalidad de los datos se aplicó la prueba de Shapiro Wilks modificado ($n < 30$) y para la homogeneidad de varianza la prueba de Levene. Para la comparación de medias en la variable longitud del brote se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0,05$) y el número de hojas según Dunnett C ($p < 0,05$) con empleo del programa SPSS versión PASW Statistics 18. Para la variable supervivencia se realizó la comparación de proporciones con el programa CompaProWin_2.0.1.

Análisis y discusión de los resultados

Se evidenció una marcada diferencia entre los tratamientos y genotipos de morera en condiciones de estrés salino. La regeneración de brotes ocurrió a partir de las yemas axilares que se adaptaron a las condiciones de estrés propias del cultivo *in vitro* y cuyo medio de cultivo contenía los compuestos nutritivos y reguladores de crecimiento que favorecen el crecimiento de las plantas, sin presencia de cloruro de sodio (Figura 1).

Figura 1. Plantas *in vitro* de morera variedades Acorazonada (A), Criolla (B), Doña Betty (C) y Yu-62 (D), en medio de cultivo de multiplicación sin presencia de cloruro de sodio a los 15 días de cultivo.



Fuente: elaboración propia.

En el tratamiento control, los explantes tardaron entre cinco y seis días en brotar. Las plantas presentaron un crecimiento normal, con abundante biomasa foliar, hojas anchas y alargadas propias de la variedad y superaron en longitud al resto de los tratamientos.

Por el contrario, la adición de cloruro de sodio al medio de cultivo retrasó la brotación en alrededor de ocho días a partir del tratamiento con $0,4 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$. Bajo estas condiciones de estrés continuo, disminuyó el crecimiento de las plantas y sus hojas, con un incremento del grado de clorosis en las mismas. Por último, la máxima concentración de NaCl causó necrosis en la totalidad de los explantes sin lograr su regeneración (Figura 2).

Figura 2. Plantas *in vitro* de *Morus alba* (variedad Acorazonada) en diferentes condiciones de estrés inducido con NaCl, en medio de cultivo de multiplicación, a los 30 días de cultivo.

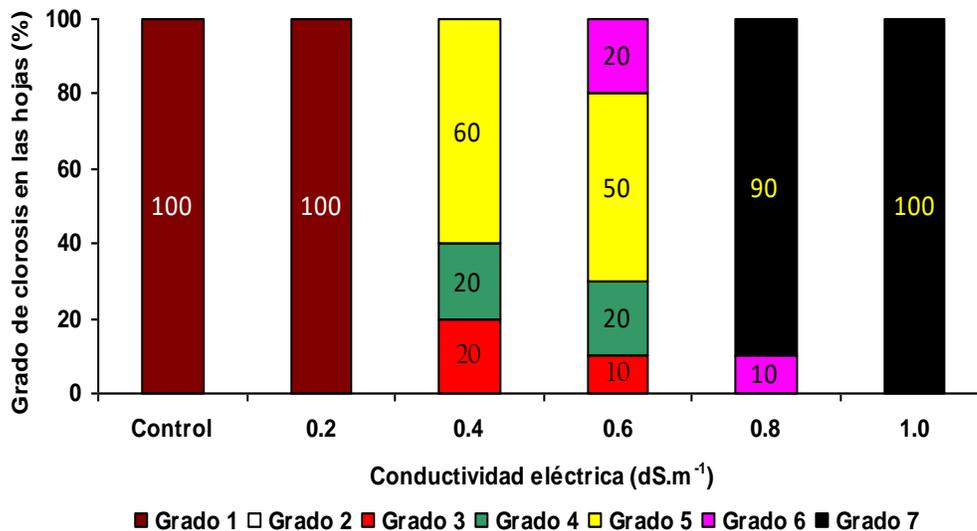


Fuente: elaboración propia.

Al evaluar el grado de clorosis en las hojas, se apreció una respuesta similar en todos los genotipos, con presencia de plantas con diferentes grados de clorosis dentro de cada tratamiento, excepto en el control, y la menor concentración salina evaluada, donde no fueron visibles afectaciones en las hojas.

Este efecto se incrementó hasta provocar el 100 % de afectación y necrosis de las hojas, con una mayor presencia en las mayores concentraciones estudiadas y la respectiva conductividad eléctrica del agua utilizada en la preparación del medio de cultivo (Figura 3).

Figura 3. Efecto de la concentración salina en el grado de clorosis de las hojas en la variedad Acorazonada, a los 40 días en medio de cultivo de multiplicación.



Fuente: elaboración propia.

Además, en la mayoría de los casos no se observó formación de raíces a los 30 días de cultivo, lo que pudo estar influido tanto por la presencia de NaCl como por la de un callo basal que inhibió el desarrollo de raíces, respuesta que se observó en todos los genotipos evaluados, lo cual indica que altos tenores de salinidad afectan la capacidad de inducción de raíces en esta especie vegetal. Una respuesta similar fue encontrada por Vijayan et al. (2003), quienes refieren que con NaCl 0,4 %, una concentración igual a la utilizada en la presente investigación, no hubo formación de raíces, aunque los ápices de los brotes permanecieron verdes de 7 a 10 días.

Estos mismos investigadores indicaron que el desarrollo de raíces a concentraciones más bajas de NaCl dependió de la capacidad de enraizamiento de los genotipos y el número de genotipos con enraizamiento a concentraciones de sal más altas, se redujo de 63 en los controles a cinco, con una longitud de raíz superior a 0,5 cm con NaCl 0,2 %.

Respecto a estos criterios, Vijayan et al. (2003) identificaron un genotipo como tolerante a la sal, pero no comprobaron si la tolerancia a la salinidad expresada en condiciones *in vitro* pudiera expresarse en suelo salino. Agregan que en morera muchos genotipos, especialmente

aquellos procedentes de regiones templadas de India, Japón y China, presentan un pobre enraizamiento en condiciones naturales, así como en condiciones *in vitro*.

En correspondencia con el número de brotes que regeneraron plantas, tanto en el tratamiento control como en la menor concentración salina, no hubo afectaciones en la supervivencia de los brotes. lo que indica tolerancia de la morera a este nivel de salinidad. Sin embargo, a partir del uso de $4,0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ hubo un incremento en la toxicidad del cloruro de sodio sobre los tejidos vegetales, lo que provocó mortalidad en la totalidad de los brotes en la máxima concentración de sales en estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la concentración de cloruro de sodio en la supervivencia de los brotes en cuatro genotipos de morera, en medio de cultivo de multiplicación, a los 30 días de cultivo.

Tratamientos	NaCl ($\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$)	Supervivencia (%)			
		Acorazonada	Criolla	Doña Betty	Yu-62
1	0,0	100 a	100 a	100 a	100 a
2	0,2	100 a	100 a	100 a	100 a
3	0,4	85 ab	70 b	75 b	65 b
4	0,6	65 b	65 c	60 c	25 c
5	0,8	25 c	20 d	20 d	15 d
6	1,0	0 e	0 e	0 e	0 e

Leyenda: Letras diferentes en una misma columna implican que difieren significativamente según la prueba de comparación de proporciones ($p < 0,05$) $n=20$

Fuente: elaboración propia.

Estos resultados son comparables con los descritos por Vijayan et al. (2003) al comparar siete genotipos de *Morus alba* para determinar el nivel de tolerancia a la salinidad. Según estos autores la brotación disminuyó en todos los genotipos con el incremento de la salinidad en el medio de cultivo y el retraso fue mayor en los genotipos sensibles.

Este retraso en la brotación puede deberse al aumento del potencial osmótico del medio salino: el mayor potencial osmótico del medio afecta la absorción de agua y nutrientes, lo que a

su vez puede inhibir las actividades metabólicas necesarias para la iniciación y el crecimiento de las yemas (Vijayan et al., 2003).

La supervivencia de las yemas axilares se redujo a mayor salinidad. Según estos autores, con 0,75 % y al 1,0 % de NaCl, la capacidad de supervivencia disminuyó en un 76,9 % y un 98,1 %, respectivamente. De las 63 accesiones probadas, solo 16 lograron brotar en NaCl al 1,0 % y 13 de estos sobrevivieron hasta 30 días. Este resultado difiere del encontrado en la presente investigación donde no se logró la supervivencia de los brotes de la variedad Acorazonada en el tratamiento con NaCl 0,4 %, lo que muestra una mayor susceptibilidad a estas concentraciones.

Respecto a la longitud de los brotes, no se encontraron diferencias significativas entre los primeros tres tratamientos, los cuales tuvieron valores por encima de un centímetro. En los tratamientos con 0,6 y 0,8 dS.m⁻¹, los brotes mostraron un menor crecimiento con una media inferior a un centímetro de longitud (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de la concentración de cloruro de sodio en la longitud de los brotes en cuatro genotipos de morera, en medio de cultivo de multiplicación, a los 30 días de cultivo.

Tratamientos	NaCl (dS.m ⁻¹)	Longitud del brote (cm)			
		Acorazonada	Criolla	Doña Betty	Yu-62
1	0,0	1,58 a	1,50 a	1,55 a	1,50 a
2	0,2	1,54 a	1,53 a	1,57 a	1,40 a
3	0,4	1,26 a	1,34 a	1,20 a	1,23 a
4	0,6	0,75 b	0,67 b	0,70 b	0,69 b
5	0,8	0,52 c	0,45 c	0,50 c	0,48 c

Leyenda: Letras diferentes en una misma columna implican que difieren significativamente según la prueba de Tukey ($p < 0,05$)

Fuente: elaboración propia.

Los valores alcanzados en la longitud de los brotes son inferiores a los descritos previamente por Vijayan et al. (2003). Estos autores informaron que la longitud media de los brotes se redujo de 2,4 cm en los controles, a 0,2 cm en NaCl 1,0 % y el número de genotipos que mostraron un crecimiento de más de 0,5 cm se redujo de 45 en los controles, a siete en NaCl

al 1,0 %. Estos resultados difieren de los encontrados en esta investigación debido a que la concentración de cloruro (1,0 %) es más del doble del máximo valor evaluado. La disminución del crecimiento de las plantas también puede ser causada por un exceso de sal que ingresa a la hoja a través de la transpiración, dañando las células (Meguekam et al., 2021).

Otra variable evaluada fue el número de hojas, la cual mostró una alta afectación en los primeros 30 días de cultivo de multiplicación, donde con el tratamiento control tenía alrededor de dos hojas, pero en la medida que se incrementó la concentración de NaCl esta respuesta fue inhibida.

En tal sentido esta variable se evaluó al concluir la fase de enraizamiento y no se apreciaron diferencias numéricas entre variedades en un mismo tratamiento. El tratamiento control tuvo la máxima expresión sin diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento dos, con valores superiores a las siete hojas por brotes. En tanto los tratamientos del dos al cuatro no difirieron entre ellos y, a su vez, superaron al tratamiento cinco, donde se logró la menor regeneración en solo cinco brotes y la formación de una hoja por brote (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de la concentración de cloruro de sodio en el número de hojas por brotes de morera, en medio de cultivo de enraizamiento, a los 30 días de cultivo.

Tratamientos	NaCl (dS.m ⁻¹)	Número de hojas (U)			
		Acorazonada	Criolla	Doña Betty	Yu-62
1	0,0	10,30 a	9,90 a	9,80 a	9,60 a
2	0,2	7,50 b	7,30 b	6,80 b	6,90 b
3	0,4	5,50 c	5,50 c	4,90 c	4,50 c
4	0,6	5,20 c	4,90 c	4,60 c	4,20 c
5	0,8	1,30 d	1,10 d	1,0 d	1,10 d
±EE		0,434	0,426	0,418	0,418

Leyenda: Letras diferentes en una misma columna implican que difieren significativamente según la prueba Dunnett C ($p < 0,05$)

Fuente: elaboración propia.

Un estudio reciente desarrollado por Wulandari et al. (2023), en siete genotipos de morera procedentes de Indonesia, arrojó que el número de hojas estuvo afectado por la interacción entre las accesiones y la concentración de cloruro de sodio. El valor medio de las hojas en las concentraciones de NaCl fue reducido en todos los genotipos con el menor valor en presencia de 80 mM NaCl.

La sensibilidad de las hojas a la toxicidad producto al NaCl, fue demostrado por varios autores incluidos Vijayan et al. (2003), quienes informaron que el crecimiento de las hojas de muchas plantas de cultivo como la morera son más sensibles a las condiciones salinas que el de las raíces.

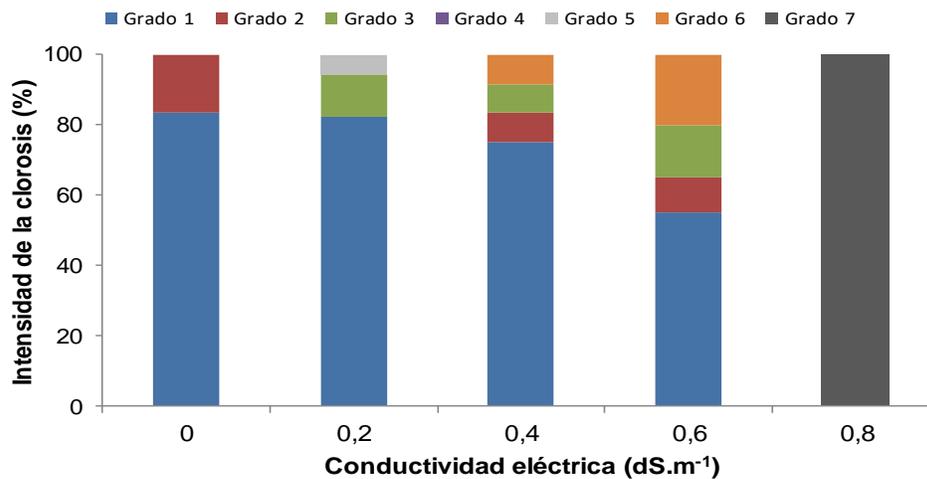
La toxicidad del cloruro de sodio sobre las hojas se constató mediante la clorosis y necrosis de las hojas con empleo de una escala de grado. En el tratamiento control más del 80 % de los brotes clasificaron como grado uno al no mostrar ninguna afectación y en menos del 20 % de los brotes se apreciaron pequeños cambios de color en los bordes de las hojas, lo que pudo estar atribuido a cambios epigenéticos en el tejido vegetal, producto del cultivo *in vitro*, lo que no afecta necesariamente los procesos fisiológicos en las hojas de estos brotes.

Sin embargo, en la medida que aumentó la concentración de NaCl, fue evidente un incremento en el número de brotes con diferentes grados de afectación en sus hojas, con un ligero descenso en las hojas sin síntomas de clorosis. Esta afectación tuvo su máxima expresión en el tratamiento con $0,8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, donde la totalidad de las hojas que se mantuvieron activas tuvieron clorosis o necrosaron con el transcurso del tiempo de exposición al NaCl (Figura 4).

El crecimiento de los brotes y la emisión de hojas, también pudo estar influenciado por la época del año en que se realizó la investigación. Esto fue demostrado por Kashyap y Sharma (2006), quienes informaron que al utilizar NaCl 0,5 % en explantes colectados de julio a octubre

y de noviembre a febrero, estos mostraron una producción tardía de brotes y una reducción significativa en el número de raíces y hojas por brotes.

Figura 4. Efecto de la concentración salina en el grado de clorosis de las hojas en la variedad Acorazonada, a los 40 días, en medio de cultivo de multiplicación.



Fuente: elaboración propia.

Bajo condiciones de estrés salino, se incrementan las afectaciones en la supervivencia ya que el estrés salino en concentraciones moderadas por largos periodos de tiempo o en altas concentraciones durante un corto periodo de tiempo, causa inhibición del crecimiento de las plantas y puede conducir a su muerte (Singh et al., 2021).

En este experimento, la morera (variedad Acorazonada) toleró un sustrato *in vitro* con una conductividad eléctrica de 0,4-0,6 dS.m⁻¹, equivalente al 0,2-0,3 % de salinidad, donde más del 75 y 55 % de las hojas, respectivamente, no son afectadas por el NaCl, lo cual está en correspondencia con lo planteado por otros autores que informan que la morera crece normalmente en suelos con 0,2 % de salinidad, categorizados como medianamente salinos (Ke, 2008).

Se ha documentado que para varios cultivos, la conductividad eléctrica puede variar desde 0,4 hasta 11,4 dS.m⁻¹, lo cual dependerá del clima, las condiciones del suelo y las prácticas

culturales (Mishra et al., 2021); mientras que para Munns y Tester (2008, citados por Wang et al., 2023), el suelo se clasifica como salino cuando la conductividad eléctrica de su extracto de saturación supera los 4,0 dS.m⁻¹, aproximadamente 40 mM de NaCl.

Teniendo en cuenta que existe poca información sobre el efecto de la salinidad en esta fase del cultivo *in vitro* de la morera, es necesario realizar nuevos estudios para profundizar en el conocimiento sobre la tolerancia a la salinidad en las variedades que componen el banco cubano de germoplasma de morera.

Conclusiones

1. El estrés salino inducido con cloruro de sodio afecta el tejido foliar de los cuatro genotipos de morera estudiados (Acorazonada, Criolla, Yu-62 y Doña Betty).
2. La mayor afectación en la respuesta morfológica de las plantas *in vitro* de morera, ocurre en niveles de salinidad igual o superior a 0,8 dS.m⁻¹ en el medio de cultivo.

Referencias bibliográficas

- García, E., González, O. S. & Pérez, J. L. (2024). Respuesta morfológica en genotipos de *Morus alba* bajo estrés salino inducido con Cloruro de Sodio. *REDEL, Revista Granmense de Desarrollo Local*, 8(1). <https://revistas.udg.co.cu/index.php/redel/article/view/4320>
- Kashyap, S. & Sharma, S. (2006). *In vitro* selection of salt tolerant *Morus alba* and its field performance with bioinoculants. *Horticultural Science*, 33(2), 77-86.
<https://hortsci.agriculturejournals.cz/pdfs/hor/2006/02/05.pdf>
- Ke, Y. (2008). *Mulberry adaptability to salinity and its salt tolerant mechanism and application to saline-alkali soils*. Chinese Academy of Forestry.
- Meguekam, T.L., Moualeu, D.P., Taffouo, V.D. & Stützel, H. (2021). Changes in plant growth, leaf relative water content and physiological traits in response to salt stress in peanut

- (*Arachis hypogaea* L.) varieties. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(1), 1-13. <https://www.repo.uni-hannover.de/handle/123456789/15878>.
- Mishra, P., Mishra, J. & Kumar, N. (2021). Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants - Recent developments and prospects: A review. *Microbiological Research*, 252, 126861. DOI: 10.1016/j.micres.2021.126861.
- Sarkar, T., Mogili, T., Gandhi, S. & Sivaprasad, V. (2018). Tissue culture in mulberry (*Morus* spp.) intending genetic improvement, micropropagation and secondary metabolite production: A Review on Current Status and Future Prospects. En: Kumar, N. (ed.). (2018). *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants: Conservation, genetic improvement and utilization*. Springer Nature Singapore. DOI: 10.1007/978-981-13-0535-1_21.
- Singh, M., Nara, U., Kumar, A., Choudhary, A., Singh, H. & Thapa, S. (2021). Salinity tolerance mechanisms and their breeding implications. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19, 173. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34751850/>
- Vijayan, K., Chakraborti, S.P. & Ghosh, P.D. (2003). In vitro screening of mulberry (*Morus* spp.) for salinity tolerance. *Plant Cell Reports*, 22(5), 350-357. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12942311/>.
- Vijayan, K., Chakraborti, S.P. & Ghosh, P.D. (2004). Screening of mulberry (*Morus* spp.) for salinity tolerance through *in vitro* seed germination. *Indian Journal of Biotechnology*, 3, 47-51. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20043028629>.
- Wang, Y., Zhang, N., Wu, A., Lv, Z., Wei, J. & Li, Y. (2023). Effect of benomyl-mediated mycorrhizal association on the salinity tolerance of male and monoecious mulberry clones. *Plant Physiol and Biochemistry*, 195, 67-76. DOI: 10.1016/j.plaphy.2022.12.027

Wulandari, Y.R.E., Sulistyarningsih, Y.C., Suprayogi, A., Rahminiwati, M., Triadiati, T. (2023).

Morpho-physiology of Mulberry (*Morus* sp.) plant on salinity stress tolerance. *HAYATI*

Journal of Biosciences, 30(4), 683-691.

<https://journal.ipb.ac.id/index.php/hayati/article/view/43366>.