

SEP

POLIBOTÁNICA

ISSN 1405-2768

ISSN 2395-9525



Núm. 61

Ciencia y
Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades,
Tecnología e Innovación

Enero 2026



Enero 2026

Núm. 61

POLIBOTÁNICA



PÁG.

CONTENIDO

- 1 La familia *Buxaceae* en México
The *Buxaceae* family in Mexico
Rafael Fernández N. | María de la Luz Arreguín Sánchez
- 23 Riqueza de epífitas vasculares en la reserva El Peñón, municipio de Valle de Bravo, Estado de México, México
Vascular epiphyte richness in The Peñón reserve, municipality of Valle de Bravo, Estado de México, Mexico
Ivonne Gomez | Bruno Téllez | Adolfo Espejo-Serna | Ana Rosa López-Ferrari
- 55 Variación de umbrales dnbr y rbr en la detección de incendios forestales en el área Iztaccíhuatl-Popocatepetl México
Variation of dnbr and rbr thresholds in forest fire detection in the Iztaccíhuatl-Popocatepetl area, Mexico
Ederson Steven Cobo Muelas | Pablito Marcelo López Serrano | Daniel José Vega Nieva | Jose Javier Corral Rivas | José López García | Lilia de Lourdes Manzo Delgado
- 75 Dinámica fenológica mensual de especies de bosque mixto.
Monthly phenological dynamics of mixed forest species.
Cynthia Judith Carranza Ojeda | Juan Antonio Reyes Agüero | Carlos Alfonso Muñoz Robles | Anuschka Van't Hooft | Jorge Alberto Flores Cano | José Villanueva Díaz
- 101 Servicios ecosistémicos de provisión en comunidades de pueblos Otomí y Matlazincas del Estado de México, México
Provision of ecosystem services in indigenous communities in the State of Mexico, Mexico
Laura White-Olascoaga | David García-Mondragón | Carmen Zepeda-Gómez
- 115 Comparación de tasas de respiración del suelo en ecosistemas agrícola, agostadero y urbano en una zona semiárida en Juárez, Chihuahua, México
Comparison of soil respiration rates in agricultural, rangeland, and urban ecosystems at semiarid areas in Juárez, Chihuahua, Mexico
Juan Pedro Flores Margez | Alejandra Valles Rodríguez | Pedro Osuna Avila | Dolores Adilene Garcia Gonzalez
- 133 Caracterización ecológica de la zona de proliferación del hongo blanco de pino (*Tricholoma mesoamericanum*) en “El Guajolote” Hidalgo, México
Ecological characterization of the fruiting area of the pine white mushroom (*Tricholoma mesoamericanum*) in “El Guajolote” Hidalgo, Mexico
Alvaro Alfonso Reyes Grimaldo | Ramón Razo Zárate | Oscar Arce Cervantes | Magdalena Martínez Reyes | Jesús Pérez Moreno | Rodrigo Rodríguez Laguna
- 145 Influencia de la variabilidad climática y del fenómeno ENOS en el crecimiento radial de *Pinus rzedowskii* y *P. martinezii* en Michoacán, México
Influence of climate variability and the ENSO phenomenon on the radial growth of *Pinus rzedowskii* and *P. martinezii* in Michoacán, Mexico
Ulises Manzanilla Quiñones | Patricia Delgado Valerio | Teodoro Carlón Allende
- 165 Caracteres morfométricos y patrones de germinación de semillas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. de diferentes procedencias
Morphometric characteristics and germination patterns of *Pinus pseudostrobus* Lindl. seeds from different sources
Daniel Madrigal González | Nahum Modesto Sánchez-Vargas | Mariela Gómez-Romero | María Dolores Uribe-Salas | Alejandro Martínez-Palacios | Selene Ramos-Ortiz
- 181 Germinación de *Ormosia macrocalyx* Ducke (Fabaceae), árbol nativo en peligro de extinción
Germination of *Ormosia macrocalyx* Ducke (Fabaceae), an endangered native tree
Brenda Karina Pozo Gómez | Carolina Orantes García | Dulce María Pozo Gómez | Alma Gabriela Verdugo Valdez | María Silvia Sánchez Cortés | Rubén Antonio Moreno Moreno
- 193 Propagación in vitro de callos de morera (*Morus alba* L.) como alternativa alimenticia para larvas de gusanos de seda (*Bombyx mori*)
In vitro propagation of *Morus alba* L. calli as an alternative feed for silkworm (*Bombyx mori*) larvae
Alma Rosa Hernández Rojas | José Luis Rodríguez-de la O | Alejandro Rodríguez-Ortega | Elvis García-López | Manuel Hernández-Hernández | Jessica Lizbeth Sebastián-Nicolás | Rosita Deny Romero-Santos
- 205 Mejoras en un método comercial de extracción de ADN para obtener extractos de ácido nucleico de alta calidad a partir de yemas vegetativas de *Populus tremuloides* Michx.
Improvements to a commercial DNA extraction method for high-quality nucleic acid extractions from *Populus tremuloides* Michx. vegetative buds
Cecilia Gutierrez | Marcelo Barraza Salas | Ilga Mercedes Porth | Christian Wehenkel
- 221 Crecimiento de plántulas de *Laelia autumnalis* y *Encyclia cordigera* en función de la concentración de sacarosa y carbón activado.
Growth of *Laelia autumnalis* and *Encyclia cordigera* seedlings as a function of sucrose and activated charcoal concentration
Marcela Cabañas Rodríguez | María Andrade Rodríguez | Oscar Gabriel Villegas Torres | Iran Alia Tejacal | Porfirio Juarez López | José Antonio Chávez García
- 235 Dinámica fenologica mensual de especies de bosque mixto
Montly phenological dynamics of mixed forest species
Andrea Cecilia Acosta-Hernández | Eduardo Daniel Vivar Vivar | Marin Pompa-García

PÁG.

CONTENIDO

- 259 Efecto de hongos micorrízicos arbusculares sobre la supervivencia y el crecimiento de plantas de *Dalbergia congestiflora* propagadas in vitro y por semilla en condiciones de invernadero
Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the survival and growth of *Dalbergia congestiflora* plants propagated in vitro and from seed under greenhouse conditions
Enrique Ambríz | Carlos Juan Alvarado López | Yoshira López Antonio | Hebert Jair Barrales Cureño | Rafael Salgado Garciglia | Alejandra Hernández García
- 273 Crioconservación de explantes florales encapsulados de cacao (*Theobroma cacao* L.) mediante deshidratación y vitrificación
Cryopreservation of encapsulated floral explants of cacao (*Theobroma cacao* L.) by dehydration and vitrification
Eliud Rodríguez Olivera | Leobardo Iracheta Donjuan | José Luis Rodríguez de la O | Carlos Hugo Avendaño Arrazate
- 295 Análisis de la diversidad genética en cacao (*Theobroma cacao* L.) y pataxte (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) de los estados de Tabasco y Chiapas, México
Genetic diversity analysis in cocoa (*Theobroma cacao* L.) and pataxte (*T. bicolor* Humb. & Bonpl.) from Tabasco and Chiapas, Mexico
Fernanda Sarahi Hernández Montes | Guadalupe Concepción Rodríguez Castillejos | Guillermo Castañón Nájera | Octelina Ruiz Castillo | Christian Asur Christian Asur | Hernán Wenceslao Araujo Torres | Régulo Ruíz Salazar
- 311 Respuesta morfogénica de *Agave angustifolia* al gradiente auxina-citocinina durante el desarrollo de embriones somáticos indirectos
Morphogenetic response of *Agave angustifolia* to the auxin-cytokinin gradient during the development of indirect somatic embryos
Jesús-Ignacio Reyes-Díaz | Rosa María Nava-Becerril | Amaury-Martín Arzate-Fernández
- 329 Efecto del ácido salicílico en el incremento de biomasa y azúcares reductores en *Agave cupreata* y *Agave salmiana*
Effect of salicylic acid on increase of biomass and reducing sugars in *Agave cupreata* and *Agave salmiana*
Hilda Guadalupe GARCÍA NÚÑEZ | Amaury Martín Arzate-Fernández | Ana María Roque-Otero | Martín Rubí-Arriaga | Aurelio Domínguez-López
- 343 Contribución al conocimiento tradicional sobre el uso y manejo de los recursos vegetales en el municipio de Malinalco, Estado de México, México.
Contribution to traditional knowledge of plant resource use and management in Malinalco, State of Mexico, Mexico
Margarita Micaela Avila Uribe | Blanca Margarita Berdeja-Martínez | Ana María Mora-Rocha | Yajaira Cerón-Reyes | Karla Mariela Hernández-Sánchez | María Eugenia Ordorica Vargas | Lidia Cevallos-Villanueva
- 365 La agrobiodiversidad del agroecosistema traspatio como estrategia contra la pobreza extrema en Platón Sánchez, Veracruz, México
Agrobiodiversity in the backyard agroecosystem as a strategy against extreme poverty in Platon Sanchez, Veracruz, Mexico
Rubén Purroy-Vásquez | Gregorio Hernández-Salinas | Jorge Armida-Lozano | Alejandro Llaguno-Aguñaga | Karla Lissete Silva-Martínez | Nicolás Francisco Mateo-Díaz
- 385 Quelites entre cocineras tradicionales nahuas y totonacas de la Sierra Norte de Puebla, México
Quelites among nahua and totonac traditional cooks from the Northern Sierra of Puebla, Mexico
Victoria Ortiz-Trápala | Heike Vibrans | María Edelmira Linares-Mazari | Diego Flores-Sánchez
- 409 *Litsea glaucescens* y *Clinopodium macrostemon* recursos forestales no maderables en mercados tradicionales de los Valles Centrales de Oaxaca
Litsea glaucescens and *Clinopodium macrostemon* non-timber forest resources in traditional markets of the Central Valleys of Oaxaca
Domitila Jarquín-Rosales | Gisela Virginia Campos Angeles | Valentín José Reyes-Hernández | Salvador Lozano-Trejo | Juan José Alpuche-Osorno | Gerardo Rodríguez-Ortiz
- 427 Sistemas verticales rústicos para la producción de alimentos en espacios limitados: un aporte a la seguridad alimentaria familiar
Rustic vertical home gardens for food production in limited spaces: a contribution to household food security
Pablo Yax-Lopez | Kevin Manolo Noriega Elías | Jorge Rubén Sosof Vásquez
- 443 Orquídeas silvestres comercializadas en cinco mercados tradicionales de Oaxaca, México
Wild orchids sold in five traditional markets in Oaxaca, Mexico
María Hipólita Santos Escamilla | Gisela Virginia Campos Angeles | José Cruz Carrillo Rodríguez | Nancy Gabriela Molina Luna
- 457 Proceso artesanal de elaboración de jabón de corozo (*Attalea butyracea* (Mutis ex L.F.) Wess. Boer) en la región de la Chontalpa, Tabasco, México
Artisanal process of making corozo soap (*Attalea butyracea* (Mutis ex L.F.) Wess. Boer) in the Chontalpa region, Tabasco, Mexico
Elsa Chávez García
- 479 La comercialización de plantas del bosque tropical caducifolio y su importancia cultural en el centro de México
The commercialization of tropical deciduous forest plants and their cultural importance in central Mexico
Ofelia Sotelo Caro | Alejandro Flores Palacios | Susana Valencia Díaz | David Osvaldo Salinas Sánchez | Rodolfo Figueroa Brito

POLIBOTÁNICA

Núm. 61

ISSN electrónico: 2395-9525

Enero 2026

Portada



Sistema de cultivo vertical integrado por módulos contenedores uniformes que albergan diversas especies herbáceas y foliares. La disposición estratificada optimiza el uso del espacio y favorece la eficiencia en la captación de luz, mientras que la heterogeneidad morfológica de las plantas evidencia la plasticidad fenotípica asociada a condiciones de cultivo intensivo en ambientes urbanos. Este sistema representa una forma de infraestructura verde orientada a la producción vegetal sustentable y a la mejora microclimática en entornos metropolitanos.

BA vertical cultivation system composed of uniform container modules housing a variety of herbaceous and foliage plant species. The stratified arrangement optimizes space use and enhances light capture efficiency, while the morphological heterogeneity of the plants reflects phenotypic plasticity under intensive cultivation conditions in urban environments. This system represents a form of green infrastructure aimed at sustainable plant production and microclimate improvement in metropolitan settings.

por/by
Rafael Fernández Nava

REVISTA BOTÁNICA INTERNACIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

EDITOR EN JEFE

Rafael Fernández Nava

EDITORA ASOCIADA

María de la Luz Arreguín Sánchez

COMITÉ EDITORIAL INTERNACIONAL

Christiane Anderson
University of Michigan
Ann Arbor, Michigan, US

Delia Fernández González
Universidad de León
León, España

Heike Vibrans
Colegio de Postgraduados
Estado de México, México

José Angel Villarreal Quintanilla
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Saltillo, Coahuila, México

Hugo Cota Sánchez
University of Saskatchewan
Saskatoon, Saskatchewan, Canada

Luis Gerardo Zepeda Vallejo
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Fernando Chiang Cabrera
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Claude Sastre
Muséum National d'Histoire Naturelle
Paris, Francia

Thomas F. Daniel
California Academy of Sciences
San Francisco, California, US

Mauricio Velayos Rodríguez
Real Jardín Botánico
Madrid, España

Francisco de Asis Dos Santos
Universidade Estadual de Feira de Santana
Feira de Santana, Brasil

Noemí Waksman de Torres
Universidad Autónoma de Nuevo León
Monterrey, NL, México

Carlos Fabián Vargas Mendoza
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Julieta Carranza Velázquez
Universidad de Costa Rica
San Pedro, Costa Rica

José Luis Godínez Ortega
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Tom Wendt
University of Texas
Austin, Texas, US

José Manuel Rico Ordaz
Universidad de Oviedo
Oviedo, España

Edith V. Gómez Sosa
Instituto de Botánica Darwinion
Buenos Aires, Argentina

Edith V. Gómez Sosa
Instituto de Botánica Darwinion
Buenos Aires, Argentina

Dr. Juan Ramón Zapata Morales
Universidad de Guanajuato
Guanajuato, México

Jorge Llorente Bousquets
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

DISEÑO Y FORMACIÓN ELECTRÓNICA

Luz Elena Tejeda Hernández

OPEN JOURNAL SYSTEM Y TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN

Pedro Aráoz Palomino

POLIBOTÁNICA, revista botánica internacional del Instituto Politécnico Nacional, incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales en el área. Tiene una periodicidad de dos números al año, con distribución y Comité Editorial Internacional.

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación son sometidos por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisan y evalúan y son los que finalmente recomiendan la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES PARA LA PUBLICACIÓN DE TRABAJOS

Se aceptarán aquellos originales que se ajusten a las prescripciones siguientes:

POLIBOTÁNICA incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales que no hayan sido publicados.

1. El autor deberá anexar una carta membretada y firmada dirigida al Editor, donde se presente el manuscrito, así como la indicación de que el trabajo es original e inédito, ya que no se aceptan trabajos publicados o presentados anterior o simultáneamente en otra revista, circunstancia que el autor(es) deberá declarar expresamente en la carta de presentación de su artículo.
2. Al quedar aceptado un trabajo, su autor no podrá ya enviarlo a ninguna otra revista nacional o extranjera.
3. Los artículos deberán estar escritos en español, inglés, francés o portugués. En el caso de estar escritos en otros idiomas diferentes al español, deberá incluirse un amplio resumen en este idioma.
4. Como parte de los requisitos del CONACYT, POLIBOTÁNICA ahora usa la plataforma del Open Journal System (OJS); para la gestión de los artículos sometidos a la misma. Así que le solicitamos de la manera más atenta sea tan amable de registrarse y enviar su artículo en la siguiente liga: www.polibotanica.mx/ojs/index.php/polibotanica
 - a) cargar el trabajo en archivo electrónico de office-word, no hay un máximo de páginas con las siguientes características:
 - b) en páginas tamaño carta, letra times new roman 12 puntos a doble espacio y 2 cm por margen
5. Las figuras, imágenes, gráficas del trabajo deben estar incluidas en el documento de Word original:
 - a) en formato jpg
 - b) con una resolución mínima de 300 dpi y un tamaño mínimo de 140 mm de ancho
 - c) las letras deben estar perfectamente legibles y contrastadas
6. Todo trabajo deberá ir encabezado por:
 - a) Un título tanto en español como en inglés que exprese claramente el problema a que se refiere. El formato para el título es: negritas, tamaño 14 y centrado;
 - b) El nombre del autor o autores, con sus iniciales correspondientes, sin expresión de títulos o grados académicos. El formato para los autores es: alineados a la izquierda, cada uno en un párrafo distinto y tamaño 12. Cada autor debe tener un número en formato superíndice indicando a qué afiliación pertenece;
 - c) La designación del laboratorio e institución donde se realizó el trabajo. La(s) afiliación(es) debe(n) estar abajo del grupo de autores. Cada afiliación deberá estar en un párrafo y tamaño

12. Al inicio de cada afiliación estará el número en superíndice que lo relaciona con uno o más autor/es.

d) El autor para correspondencia deberá estar en el siguiente párrafo, alineado a la izquierda, tamaño 12.

7. Todo trabajo deberá estar formado por los siguientes capítulos:

a) RESUMEN y ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. El resumen debe venir después de la afiliación de los autores, alineado a la izquierda, tamaño 12. La palabra “Resumen: / Abstract:” debe venir en negritas y con dos puntos. El texto del resumen debe empezar en el párrafo siguiente, tamaño 12 y justificado. El texto “Palabras clave / Key Words:” debe venir en negritas seguido de dos puntos. Cada una de las palabras clave deben estar separadas por coma o punto y coma, finalizadas por punto.

b) INTRODUCCIÓN y MÉTODOS empleados. Cuando se trate de técnicas o métodos ya conocidos, solamente se les mencionará por la cita de la publicación original en la que se dieron a conocer. El formato para todas las secciones en esta lista es: negritas, tamaño 16 y centrado.

c) RESULTADOS obtenidos. Presentación acompañada del número necesario de gráficas, tablas, figuras o diagramas de tamaño muy cercano al que tendrá su reproducción impresa (19 x 14 cm).

d) DISCUSIÓN concisa de los resultados obtenidos, limitada a lo que sea original y a otros datos relacionados directamente y que se consideren nuevos.

e) CONCLUSIONES.

ESPECIFICACIONES DE FORMATO PARA EL CUERPO DEL TRABAJO

1. Secciones/Subtítulos de párrafo: Fuente tamaño 16, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula.
2. Subsecciones/Subtítulos de párrafo secundarios : Fuente tamaño 14, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula. Cuando existan subsecciones de subsección formatear en tamaño 13 negrita y centrado.
3. Cuerpo del texto: Fuente tamaño 12, justificado. NO debe haber saltos de línea entre párrafos.
4. Las notas de pie de página deben estar al final de cada página, fuente tamaño 12 justificadas.
5. Cita textual con mas de tres líneas: Fuente tamaño 12, margen izquierdo de 4 cm.
6. Título de imágenes: Fuente tamaño 12, centrado y en negritas, separado por dos puntos de su descripción. Descripción de las imágenes: tamaño 12.
7. Notas al pie de las imágenes: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la imagen, la primera letra debe estar en mayúsculas.
8. Imágenes: deben estar en el cuerpo del texto, insertadas en formato png o jpg, a por lo menos 300 dpi de resolución y centradas. Las imagenes deben estar en línea con el texto. Se consideran imágenes: gráficos, cuadros, fotografías, diagramas y, en algunos casos, tablas y ecuaciones.
9. Tablas de tipo texto: El título de las columnas de las tablas debe estar en negritas y los datos del cuerpo de la tabla con fuente normal. Los nombres científicos deben estar en *italicas*. Se recomienda utilizar las Tablas como imágenes, estas deberán de ir centradas (a por lo menos 300 dpi de resolución).
10. Notas al pie de la tabla: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la tabla, la primera letra debe estar en mayúsculas.
11. Ecuaciones pueden estar en Mathtype 1 o en imagen. En este último caso, seguir instrucciones del punto 8.
12. Citas del tipo autor y año deben estar entre paréntesis, con el apellido del autor seguido por el año (Souza, 2007), primera letra en mayúscula.

- 8. LITERATURA CITADA,** Se tomara como base el Estilo APA para las Referencias Bibliográficas, formada por las referencias mencionadas en el texto del trabajo y en orden alfabético. Es obligatorio utilizar Mendeley® (software bibliográfico). El propósito de utilizar este tipo de software es asegurar que los datos contenidos en las referencias están correctamente estructurados y corresponden a las citas del cuerpo del texto.

ESTRUCTURA Y FORMATO DE LOS AGRADECIMIENTOS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Los Agradecimientos deberán estar después de la última sección del cuerpo del texto. Esta información debe tener como título la palabra “Agradecimientos”, o su equivalente en otro idioma, en negritas, tamaño 12 y centrado. El texto de esta información debe estar en tamaño 12 justificado.
2. Las Referencias bibliográficas deben estar en orden alfabético sin salto de línea de párrafo, alineados a la izquierda, en tamaño 12.
3. Apéndices, anexos, glosarios y otros materiales deben incluirse después de las referencias bibliográficas. En caso de que estos materiales sean extensos deberán ser creados como archivos PDF.

9. REVISIÓN Y PUBLICACIÓN

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación serán sometidos a una revisión “doble ciego”, se enviarán por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisarán y evaluarán y serán los que finalmente recomienden la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

Una vez aceptado el trabajo, se cobrarán al autor(es) \$299 por página más IVA, independientemente del número de fotografías que contenga.

PUBLICATION GUIDELINES

POLIBOTÁNICA, an international botanical journal supported by the National Polytechnic Institute, only publishes material resulting of original research in the botanic area. It has a periodicity of two issues per year with international distribution and an international Editorial Committee.

All articles submitted to POLIBOTÁNICA for publication are reviewed by at least a couple of referees. National or international recognized experts will evaluate all submitted materials in order to recommend the appropriateness or otherwise of a publication. Therefore, the quality of published papers in POLIBOTÁNICA is of the highest international standards.

FOR PUBLICATION OF ARTICLES

Originals that comply with the following requirements will be accepted:

1. POLIBOTÁNICA includes only items that represent the results of original research which have not been published. The author should attach an official and signed letter to Editor stating that the work is original and unpublished. We do not accept articles published or presented before or simultaneously in another journal, a fact that the author (s) must expressly declare in the letter.
2. When an article has been accepted, the author can no longer send it to a different national or foreign journal.
3. Articles should be written in Spanish, English, French or Portuguese. In the case of be written in

languages other than Spanish, it should include an abstract in English.

4. The article ought to be sent to the POLIBOTÁNICA's Open Journal System <http://www.polibotanica.mx/ojs> in an office-word file without a maximum number of pages with the following features:

a) on letter-size pages, Times New Roman font type, 12-point font size, double-spaced and 2 cm margin

5. The figures, images, graphics in the article must be attached as follows:

a) in jpg format

b) with a minimum resolution of 300 dpi and a minimum size of 140 mm wide

c) all characters must be legible and contrasted

6. All articles must include:

a) a title in both Spanish and English that clearly express the problem referred to. The format for this section is: bold, font size 14 and centered.;

b) the name of the author or authors, with their initials, no titles and no academic degrees. The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number indicating the affiliation;

c) complete affiliations of all authors (including laboratory or research institution). The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number at the beginning of the affiliation;

d) correspondence author should be in the next paragraph, font size 12 and aligned to the left.

7. All work should be composed of the following chapters:

a) RESUMEN and ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. The format for this section is: bold, font size 12 and centered. Both words (RESUMEN: and ABSTRACT:) must include a colon, be in bold and aligned to the left. The body of the abstract must be justified and in font size 12. Both palabras clave: and keywords: must include a colon, be in bold and aligned to the left. Keywords must be separated by a comma or semicolon, must be justified and in font size 12.

b) INTRODUCTION y METHODS. In the case of techniques or methods that are already known, they were mentioned only by appointment of the original publication in which they were released.

c) RESULTS. Accompanied with presentation of the required number of graphs, tables, figures or diagrams very close to the size which will be printed (19 x 14 cm).

d) DISCUSSION. A concise discussion of the results obtained, limited to what is original and other related directly and considered new data.

e) CONCLUSIONS. The format for sections Introduction, Results, Discussion and Conclusions is: bold, font size 16 and centered.

FORMAT SPECIFICATIONS FOR THE BODY OF WORK

1. Sections: Font size 16, centered, bold, with the first letter capitalized.
2. Subsections / Secondary Subtitles: Font size 14, centered, bold, with the first letter capitalized. When there are second grade subsections format in size 13 bold and centered.
3. Body: Font size 12, justified. There should NOT be line breaks between paragraphs.
4. Footnotes should be at the bottom of each page, font size 12 and justified.
5. Textual quotation with more than three lines: Source size 12, left margin of 4 cm.
6. Image Title: Font size 12, centered and bold, separated by two points from its description. Description of the images: size 12.
7. Images Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the image, the first letter must be in capital letters.
8. Images: must be in the body of the text, inserted in png or jpg format, at least 300 dpi resolution and centered. Images should be in line with the text. Graphs, charts, photographs, diagrams and, in some cases, tables and equations are considered images.
9. Text Tables: Only The title of the columns of the tables must be in bold. Scientific names must be in italics. It is recommended to use the Tables as images, they should be centered (at least 300 dpi resolution).
10. Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the table, the first letter must be in upper case.
11. Equations can be in Mathtype 1 or in image. In the latter case, follow the instructions in point 8.
12. Quotations of the author and year type must be in parentheses, with the author's last name followed by the year (Souza, 2007), first letter in capital letters.

8. LITERATURE CITED. All references must be cited using the APA stile. POLIBOTÁNICA requires the use of Mendeley® (free reference manager) for the entire bibliography.

STRUCTURE AND FORMAT OF ACKNOWLEDGMENTS AND BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

1. Acknowledgments must be after the last section of the body of the text. This information should be titled the word "Acknowledgments", or its equivalent in another language, in bold, size 12 and centered. The text of this information must be in size 12 justified.
2. Bibliographical references should be in alphabetical order without paragraph line jump, aligned to the left, in size 12.
3. Appendices, annexes, glossaries and other materials should be included after the bibliographic references. If these materials are extensive they should be created as PDF files.

9. REVIEW AND PUBLICATION

All articles submitted to the journal for publication will undergo a review "double-blind", they will be sent at least a couple of referees, recognized national or international experts that reviewed and evaluated and will be finally recommended the relevance or the publication of the article, it is noteworthy that this is the means that we have to take care of the level and quality of published articles.

Once accepted the article, the author will be charged \$15 USD per text page, regardless of how many pictures it contains.

Toda correspondencia relacionada con la revista deberá ser dirigida a:

Dr. Rafael Fernández Nava
Editor en Jefe de

POLIBOTÁNICA

Departamento de Botánica
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional
Apdo. Postal 17-564, CP 11410, Ciudad de México

Correo electrónico:
polibotanica@gmail.com
rfernand@ipn.mx

Dirección Web
http://www.polibotanica.mx

POLIBOTÁNICA es una revista indexada en:

CRMICYT - Sistema de Clasificación de Revistas Mexicanas de Ciencia y Tecnología

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Google Académico - Google Scholar.

DOAJ, Directorio de Revistas de Acceso Público.

Dialnet portal de difusión de la producción científica hispana.

REDIB Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico.

LATINDEX, Sistema regional de información en línea para revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal.

PERIODICA, Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.



Ciencia y Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades,
Tecnología e Innovación



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Director General: *Dr. Arturo Reyes Sandoval*

Secretario General: *M. en C. Ismael Jaidar Monter*

Secretario Académico: *M. en E.N.A. María Isabel Rojas Ruíz*

Secretario de Innovación e Integración Social: *M.C.E. Yessica Gasca Castillo*

Secretario de Investigación y Posgrado: *Dra. Martha Leticia Vázquez González*

Secretario de Servicios Educativos: *Dr. Marco Antonio Sosa Palacios*

Secretario de Administración: *M. en C. Javier Tapia Santoyo*

Director de Educación Superior: *Lic. Tomás Huerta Hernández*

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Director:

Dr. Isaac Juan Luna Romero

Subdirectora Académica:

Biol. Elizabeth Guarneros Banuelos

Jefe de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación:

Lic. Edgar Gregorio Cárcamo Villalobos

Subdirector de Servicios Educativos e Integración Social:

Biól. Gonzalo Galindo BecerriL

POLIBOTÁNICA, Año 30, No. 61, enero 2026, es una publicación semestral editada por el Instituto Politécnico Nacional, a través de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México, D.F. Teléfono 57296000 ext. 62331. <http://www.herbario.encb.ipn.mx/>, Editor responsable: Rafael Fernández Nava. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-011309001300-203. ISSN impreso: 1405-2768, ISSN digital: 2395-9525, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Unidad de informática de la ENCB del IPN, Rafael Fernández Nava, Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas CP 11340 Delegación Miguel Hidalgo México, D.F.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

**Polibotánica**

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

PROPAGACIÓN *in vitro* DE CALLOS DE MORERA (*Morus alba* L.) COMO ALTERNATIVA ALIMENTICIA PARA LARVAS DE GUSANOS DE SEDA (*Bombyx mori*)

In vitro PROPAGATION OF *Morus alba* L. CALLI AS AN ALTERNATIVE FEED FOR SILKWORM (*Bombyx mori*) LARVAE

Hernández Rojas, A.R., J.L. Rodríguez-de la O, A. Rodríguez-Ortega, E. García-López, R.D. Romero-Santos, J.L. Sebastián-Nicolás, M. Hernández-Hernández

PROPAGACIÓN *in vitro* DE CALLOS DE MORERA (*Morus alba* L.) COMO ALTERNATIVA ALIMENTICIA PARA LARVAS DE GUSANOS DE SEDA (*Bombyx mori*)

In vitro PROPAGATION OF *Morus alba* L. CALLI AS AN ALTERNATIVE FEED FOR SILKWORM (*Bombyx mori*) LARVAE

**Instituto Politécnico Nacional**

Núm. 61: 193-204 México. Enero 2026

DOI: 10.18387/polibotanica.61.11



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional).

Propagación *in vitro* de callos de morera (*Morus alba* L.) como alternativa alimenticia para larvas de gusanos de seda (*Bombyx mori*)

***In vitro* propagation of *Morus alba* L. calli as an alternative feed for silkworm (*Bombyx mori*) larvae**

Alma Rosa Hernández Rojas,
José Luis Rodríguez-de la O,
Alejandro Rodríguez-Ortega,
Elvis García-López, Rosita
Deny Romero-Santos, Jessica
Lizbeth Sebastián-Nicolás,
Manuel Hernández-Hernández

PROPAGACIÓN *in vitro* DE
CALLOS DE MORERA
(*Morus alba* L.) COMO
ALTERNATIVA
ALIMENTICIA PARA
LARVAS DE GUSANOS DE
SEDA (*Bombyx mori*)

In vitro PROPAGATION OF
Morus alba L. CALLI AS AN
ALTERNATIVE FEED FOR
SILKWORM (*Bombyx mori*)
LARVAE

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 61: 193-204. Enero 2026

DOI:
10.18387/polibotanica.61.11

Alma Rosa Hernández-Rojas / ar.hernandez@uicmh.edu.mx 

<https://orcid.org/0009-0004-8627-077X>

Universidad Intercultural del Estado de Hidalgo. Carretera Tenango a San Bartolo
Km 2.5, CP 43487, El Desdavi, Tenango de Doria, Hidalgo, México

José Luis Rodríguez-de la O <https://orcid.org/0000-0002-2331-9984>

Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnía,
Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco, Km 38.5, Chapingo,
Estado de México, CP 56230

Alejandro Rodríguez-Ortega <https://orcid.org/0000-0002-9716-4778>

Universidad Politécnica de Francisco I Madero. Domicilio Conocido SN, 42660,
Tepatepec, Hidalgo

Elvis García-López <https://orcid.org/0000-0003-3532-6812>

Rosita Deny Romero-Santos <https://orcid.org/0000-0001-8586-9298>

Jessica Lizbeth Sebastián-Nicolás <https://orcid.org/0000-0002-2206-4991>

Universidad Intercultural del Estado de Hidalgo. Carretera Tenango a San Bartolo
Km 2.5, CP 43487, El Desdavi, Tenango de Doria, Hidalgo, México

Manuel HernándezHernández <http://orcid.org/0000-0001-6057-6667>

Universidad Intercultural de Puebla. Calle Principal a Lipuntahuaca s/n.
Lipuntahuaca, Huehuetla, Puebla

ABSTRACT: Mulberry *Morus alba* L. is a deciduous tree which leaves yield is a feeding source with high nutrients content and digestibility. The *in vitro* culture allows the vegetal tissue proliferation from young explants and the addition of growth regulators. The subject of the present research is to promote the undifferentiation cellular in leave tissue and origin callogenesis in plants of *Morus alba*, L. var. SLP5 and SLP3 supplemented with plant growth regulators 2,4-D and TDZ and evidence the acceptability of *in vitro* cultured mulberry calli in the feeding of the first silkworm larvae stages (*Bombyx mori*). The three portions of mulberry leaves var. SLP5 and SLP3 were cultured in MS modified medium supplemented with 7.0 g L⁻¹ agar, 3% sucrose, 0.4 mg L⁻¹ thiamine and 100 mg L⁻¹ myo-inositol with 2,4- dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D, 1 and 3 mg L⁻¹) combine with thidiazuron (TDZ, 1 and 3 mg L⁻¹), in a completed randomized design (1:1; 1:3; 3:1 and 3:3 mg L⁻¹) with 5 replicates among two months. The SLP5 variety displayed a bigger weight 2.49±0.48 g and volume 2.83±0.86 cm³ than SLP3 variety. The calli obtained in treatment 4 (3 mg L⁻¹ of 2,4-D and 3 mg L⁻¹ TDZ) displayed a bigger volume 3.39±0.80 cm³ and weight 2.93±0.33 g (p≤0.05). In regard to the leaves sections, the explants growth calli do not show significantly differences (p≤0.05). The silkworm larvae growth was bigger for treatment 4 weight 2.66±1.87 g and length de 2.62±2.10 cm (p≤0.05). It is worth to mention that the *in vitro* cultured mulberry calli as food acceptance was similar for all treatments. In this research the *in vitro* propagation of white mulberry calli was independent from the plant variety. The calli white mulberry propagated *in vitro* were accepted in the feeding of silkworm larvae under laboratory conditions.

Key words: *Morus* sp, plant growth regulators, calli, *Bombyx mori*.

RESUMEN: La morera *Morus alba* L. es un árbol caducifolio cuya producción de hojas es utilizada como fuente alimenticia por sus altos contenidos de nutrientes y digestibilidad. El cultivo *in vitro* permite la proliferación de tejidos vegetales a partir de explantes jóvenes y la adición de reguladores de crecimiento. El objetivo de la presente investigación es promover la desdiferenciación celular en tejido de hojas y originar callogénesis en plantas de *Morus alba*, L. var. SLP5 y SLP3 suplementado con reguladores de crecimiento 2,4-D y TDZ y evidenciar la aceptabilidad de los callos de morera cultivados *in vitro* en la alimentación de los primeros estadios larvarios de los gusanos de seda (*Bombyx mori*). Se cultivaron explantes de tres porciones de hojas de morera de var. SLP5 y SLP3 en medio de cultivo modificado de MS suplementado con 7.0 g L⁻¹ agar, 3% sacarosa, 0.4 mg L⁻¹ tiamina y 100 mg L⁻¹ mio-inositol con 2,4- ácido diclorofenoxiacético (2,4-D, 1 y 3 mg L⁻¹) combinado con tidiazuron (TDZ, 1 y 3 mg L⁻¹), bajo un diseño completamente al azar (1:1; 1:3; 3:1 y 3:3 mgL⁻¹) con 5 repeticiones durante dos meses. La variedad SLP5 mostró mayor peso 2.49±0.48 g y volumen 2.83±0.86 cm³ que la variedad SLP3. Los callos obtenidos en el tratamiento 4 (3 mg L⁻¹ de 2,4-D y 3 mg L⁻¹ TDZ) mostraron mayor volumen 3.39±0.80 cm³ y peso 2.93±0.33 g (p≤0.05). Respecto a las secciones de hoja, los callos crecidos a partir de los explantes no mostraron diferencias significativas (p≤0.05). El crecimiento de las larvas de gusano de seda fue mayor para el tratamiento 4 con un peso 2.66±1.87 g y longitud de 2.62±2.10 cm (p≤0.05). Cabe mencionar que la aceptación de los callos de morera producidos *in vitro* en la alimentación de larvas de gusano de seda fue similar para todos los tratamientos. En esta investigación la propagación *in vitro* de los callos de morera blanca fue independiente de la variedad de planta. Los callos de morera propagados *in vitro* fueron aceptados en la alimentación de larvas de gusano de seda bajo condiciones de laboratorio. **Palabras clave:** *Morus* sp, reguladores de crecimiento en plantas, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

The *Morus* sp (mulberries) are flowering and deciduous plants of *Moraceae* family. Mulberries have been domesticated over thousands of years and are cultivated in Asian, European, American, and African continents (Özgen *et al.*, 2009). There are many applications to mulberries, which include livestock feeding (Sánchez, 2000; Milera *et al.*, 2010; Islam *et al.*, 2014) gardening or landscaping (Ljubojević *et al.*, 2023), environmental safety (Mallick & Sengupta, 2022), and natural products (Özgen *et al.*, 2009; Mallick & Sengupta, 2022). Their multiple applications led to great exploitation worldwide, from smallholders to large-scale production (Sánchez, 2002). The impressive adaptability of mulberries comes from their simple cultivation, fast growth, and survival under challenging environments (Rahman & Islam, 2021).

The main agronomic application of mulberries is for leaf harvest and thus feeding the silkworm (*Bombyx mori*) under sericulture or silk farming (Özgen *et al.*, 2009; Bobis *et al.*, 2018; Mallick & Sengupta, 2022). Importantly, mulberries leaves are the sole food provided to silkworms (Kumar *et al.*, 2012; Rahman & Islam, 2021). Data from multiple reports indicated that fruits and leaves have high content of crude protein, sugars, fatty acids, micronutrients, and dry-matter digestibility, which supports its multiple applications (Bamikole *et al.*, 2005; Liang *et al.*, 2012; Koyunco *et al.*, 2014; Zach *et al.*, 2017). However, mulberries require adequate management practices to provide such high nutritional content (Benavides *et al.*, 1994). Mulberry are deciduous trees and their leaf production is destined to feeding the silkworm larvae, however through winter and under plague and disease attack thous yield is diminished and the leaves quality reduce (Banday *et al.*, 2017).

In vitro culture of plant tissues allows large-scale propagation of desirable genotypes under sterile conditions (Sharma & Thorpe, 1990; Sil, 2021). Such approaches usually rely on young explants for *in vitro* propagation, since there is greater viability (Acuña, 2020), alongside the use of plant growth regulators (Freire-Seijo, 2003; Ikeuchi *et al.*, 2013; Geetha & Murugan, 2017). *In vitro* mulberry calli culture is strongly influence by the addition of plant growth regulators to the culture media. The auxin and cytokinine stimulate necessary reactions for the calli, steam or

rooths *in vitro* culture from an explant (Ikeuchi *et al.*, 2013). Bhau y Wakhlu (2001) report the use of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and benzyladenine (BA) (1.0 mg L^{-1} y 0.5 mg L^{-1}) successfully in the propagation of mulberry calli from leaf explants, internodes and stalk.

The *in vitro* propagation of mulberries calli offers the possibility of feeding silkworm larvae continuously. The utilization of sterile mulberry calli production as a model in silkworm larvae feeding guaranty the availability of silkworms as a research organism model in further applications (Ashraf & Qamar, 2023).

The aim of this study was to determine the effect of variety alongside plant growth regulator supplementation on *in vitro* propagation of white mulberries (*Morus alba* L.) calli and its application as a supplementary feed for growing silkworm larvae.

MATERIAL AND METHODS

Location and vegetal material

The project was developed according to institutional and national legislation. The experiments were performed in the plant tissue culture laboratory at the Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, located in Texcoco, Mexico in 2014.

The vegetative material was obtained from two years old white mulberry trees (*Morus alba* L.) of the SLP3 and SLP5 varieties grew and acclimated in a greenhouse. The white mulberry characteristics were SLP3 larger $\approx 20\text{cm}$ softer (pliable) and thinner leaves and SLP5 smaller $\approx 15\text{cm}$ visibly thicker and brittle leaves.

Plants were placed in 40 x 40 cm polyethylene pots filled with 3 to 6 mm tezontle substrate and were irrigated with 250 ml tap water twice a day and supplemented weekly with a 3 ml L^{-1} Byfolan[®], 0.5g L^{-1} Aliette[®] and 1.5g L^{-1} AgrimyCu[®] solution by sprinkled to control contamination in plants. Plants were cultivated by 1.5 years.

In vitro growth leaves culture

The *in vitro* culture was established with 20 SLP3 and 20 SLP5 young leaves (seven to eight cm length) that were washed with Roma[®] detergent (5g L^{-1}) and Tween[™]-80 (Fisher Chemical) hi-purity (1 ml L^{-1}) in distilled water for 20 min. Further, leaves were surface disinfest with 70% ethanol for three minutes, and subsequently in a solution of 10 ml•100 ml sodium hypochlorite (Cloralex[®]). Leaves of mulberries were transferred to Petri dishes and rinsed three times with sterile ultra-purify water.

The culture medium to *in vitro* propagation was based on a modified version of the MS medium (Sigma Aldrich[®]) (Murashige & Skoog, 1962) supplemented with 7.0 g L^{-1} Meyer[®] agar ($\geq 99\%$), 3% sucrose (99.5%) (Sigma Aldrich[®]), 0.4 mg L^{-1} thiamine ($\geq 99\%$) (Sigma Aldrich[®]), and 100 mg L^{-1} myo-inositol ($\geq 99\%$) (Sigma Aldrich[®]). The pH of the solution was adjusted to 5.7 ± 0.1 . 20 ml the culture medium was placed in (200 ml) Gerber[®] flasks, which were sealed with polyethylene tops, and sterilized by autoclaving at 121°C , 15 PSI for 40 min. Afterwords the flasks were set at room temperature $22 \pm 1^\circ\text{C}$ and the plant growth regulators 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ($\geq 95\%$) and thidiazuron (TDZ) both from Sigma Aldrich[®] were added as is described in experimental design treatments.

Leaves rinsed in sterile ultra-purify water were dissected with scalpel in three portions: apical, medium and basal according to Freschi *et al.* (2010). Each leaf portion were placed randomly in Gerber[®] flasks with culture medium MS for each treatment. Flasks were sealed to avoid contamination and placed in a dark growth chamber at $22 \pm 1^\circ\text{C}$, culture was performed for 60 days.

Explants decontamination protocol

The explants exposed to contamination were retrieved from *in vitro* culture and submerged in a Roma[®] detergent (5g L^{-1}) and Tween[™]-80 (Fisher Chemical) hi-purity (1ml L^{-1}) solution in distilled water. Subsequently, explants were submerged in 70% ethanol for three min, submerged in 10 ml•100 ml sodium hypochlorite (Cloralex[®]) solution for 15 min, and placed with 4%

calcium hypochlorite for 15 min. Additionally, explants were exposed to a 100% Timsen[®] solution for 15 min, Benlate[®] and Fungimycin 100[®] 2g L⁻¹ solutions for 10 min, and rinsed in 100% Protect[®] H₂O₂ before being placed in a Petri dish containing MS medium.

Experimental Design

To determinate the effect of mulberries (*Morus Alba* L.) variety and supplementation of plant growth regulators on *in vitro* mulberry calli propagation, a completely randomized design was performed with four treatments: i) 1 mg L⁻¹ 2,4-D/ 3 mg L⁻¹ TDZ, ii) 3 mg L⁻¹ 2,4-D/1 mg L⁻¹ TDZ, iii) 1 mg L⁻¹ 2,4-D/1 mg L⁻¹ TDZ and vi) 3 mg L⁻¹ 2,4-D/3 mg L⁻¹ TDZ with five replicates; each flask was an experimental unit. There were evaluate weight and volume as non-destructive measurements (quantitative variables) and visual coloring as qualitative variable for *in vitro* grown calli, during the culture period in 14 days intervals.

Evaluation of in vitro grown calli to feed Bombyx mori larvae

The unhatching silkworm eggs were obtained from the Universidad Politécnica Francisco I. Madero, Tepatepec - Hidalgo, Mexico and were maintained at room temperature at 22±1°C in the plant tissue culture laboratory until larvae hatching.

Five silkworm larvae were placed in 10 cm disposable Petri dishes at room temperature at 22 ±1°C immediately after hatching. The explant *in vitro* grown and calli were used to feed the silkworm larvae totally the first 21 days, twice a day (9:00 and 19:00 h). The effect of feeding with *in vitro* grown calli of white mulberries was determined by measuring the weight and length of silkworm larvae at seven days intervals. The silkworm larvae survival percent was determined at the end of the 21 days experiment. Subsequently the larvae were feed 25 days more with mulberry leaves until the cocoon weave at day 46 and the emerging of the moth after 12 to 15 days after.

Statistical analysis

The variables weight and volume of the *in vitro* grow mulberry calli and the length and weight of the silkworm larvae feed with *in vitro* grow calli were analyzed with an analysis of variance (ANOVA) and the *post-hoc* analysis was done with Tukey's mean test at 5% significance level with the software Statistical Analysis System[®] (SAS) 9.0.

RESULTS AND DISCUSSION

In vitro propagation of white mulberries calli from leaves explants

The differences in development of white mulberries calli *in vitro* became evident from week two onward (**Figure 1**).

The treatment T4 and T2 displayed the best traits, which included calli weight and volume (**Table 1**) ($p \leq 0.05$). Under the comparison between varieties of white mulberries, the variety SLP5 was different in weight and volume than the variety SLP3, ($p \leq 0.05$) (**Table 2**).

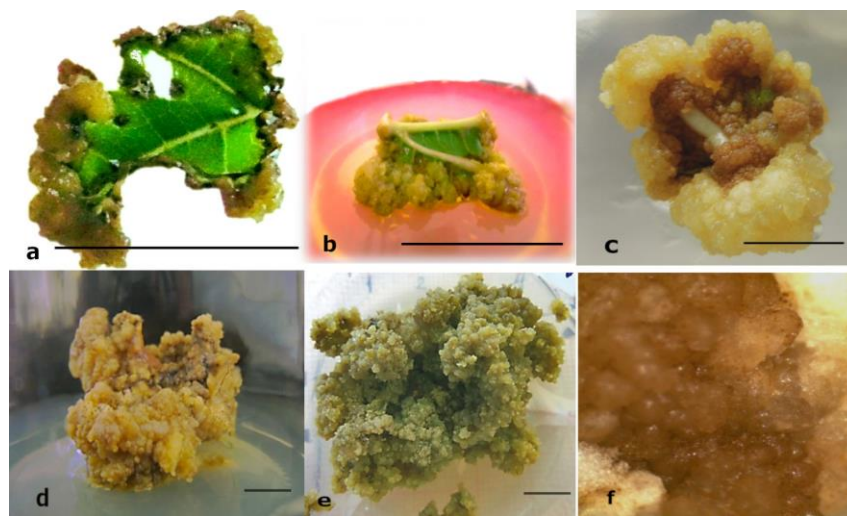


Figure 1. *In vitro* culture of *Morus alba* L. calli from leaf explants. a-c) Second, fourth, and sixth week after *in vitro* culture respectively; d-e) Eighth week; f) Enlarged view of calli during the eighth week of culture. Scale barr 0.5 cm.
Figura 1. Cultivo *in vitro* de callos de *Morus alba* L. a partir de explantos foliares. a-c) Segunda, cuarta y sexta semana después del cultivo *in vitro*, respectivamente; d-e) Octava semana; f) Vista ampliada de los callos durante la octava semana de cultivo. Barra de escala de 0.5 cm.

Table 1. Mean weight and volume *in vitro* grow calli of white mulberry (*Morus alba* L.) supplemented with 2,4-D and TDZ.

Tabla 1. Peso y volumen medio de callos de cultivo *in vitro* de morera blanca (*Morus alba* L.) suplementados con 2,4-D y TDZ.

Treatment*	Weight (g)	Volume (cm ³)
4	2.93±0.33 ^{***}	3.39±0.79 ^a
2	2.89±0.24 ^a	3.20±0.55 ^a
1	2.07±0.19 ^b	2.080±0.17 ^b
3	2.02±0.11 ^b	2.28±0.34 ^b
MSD	0.1097	0.2414

*Treatments 1) 1 mgL⁻¹ 2,4-D/ 3 mgL⁻¹ TDZ, 2) 3 mgL⁻¹ 2,4-D/1 mgL⁻¹ TDZ, 3) 1 mgL⁻¹ 2,4-D/1 mgL⁻¹ TDZ and 4) 3 mgL⁻¹ 2,4-D/3 mgL⁻¹ TDZ.

**Means different superscript letters, within the same columns are statistically difference significative Tukey's test (<0.05).

Table 2. Comparison of variety on weight and volume of *in vitro* grown calli of white mulberry (*Morus alba* L.).

Tabla 2. Comparación de variedades en peso y volumen de callos cultivados *in vitro* de morera blanca (*Morus alba* L.).

Variety	Weight (g)	Volume (cm ³)
SLP5	2.48±0.48 ^{a*}	2.83±0.86 ^a
SLP3	2.46±0.51 ^a	2.68±0.67 ^b
MSD	0.0591	0.13

*Means different superscript letters, within the same columns are statistically difference significative Tukey's test (<0.05). MSD: minimum statistical difference.

However, the portions of leaves did not affect significantly *in vitro* growth (**Table 3**). The *in vitro* grown calli displayed friable texture, separately from the treatment. Further, most *in vitro* grown calli of white mulberries were spongy-like and granular. The color of *in vitro* grown calli changed during their growth (**Table 4**), gradually mulberry calli acquired a darker coloring due the natural tissue oxidation (**Figure 2**).

Table 3. Mean weight and volume of *in vitro* grown calli of white mulberry (*Morus alba* L.) obtained from three different leaf sections.**Tabla 3.** Peso y volumen medio de callos cultivados *in vitro* de morera blanca (*Morus alba* L.) obtenidos de tres secciones de hojas diferentes.

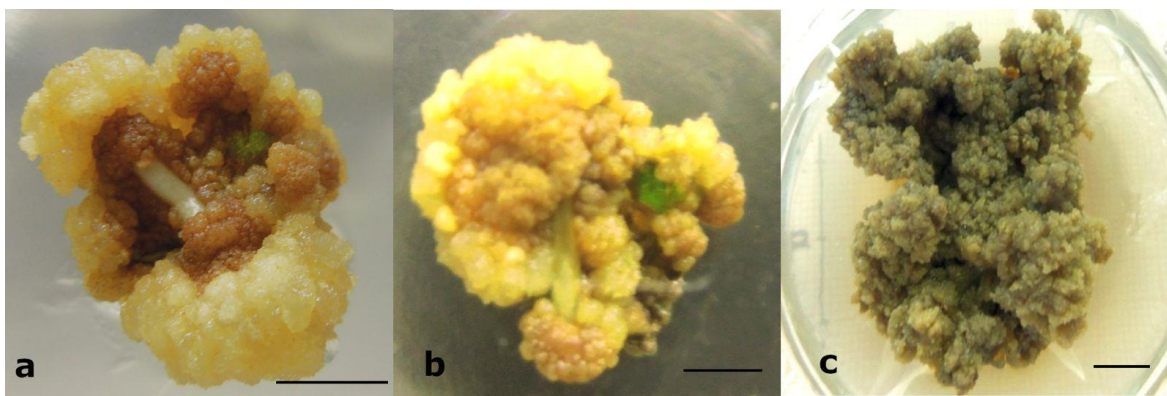
Leaf part	Weight (g)	Volume (cm ³)
Basal	2.52±0.19 ^{a*}	2.72±0.39 ^a
Medium	2.46±0.19 ^a	2.69±0.42 ^a
Apical	2.44±0.26 ^a	2.79±0.56 ^a
MSD	0.0866	0.1906

*Means different superscript letters, within the same columns are statistically difference significant Tukey's test (<0.05). MSD: minimum statistical difference.

Table 4. Calli color obtained from *in vitro* culture of white mulberry (*Morus alba* L.) varieties exposed to different auxin supplementation.**Tabla 4.** Color de callos obtenidos del cultivo *in vitro* de variedades de morera blanca (*Morus alba* L.) expuestas a diferentes suplementaciones de auxinas.

Days	Variety	Treatments*			
		T1	T2	T3	T4
14	SLP5	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
28	SLP5	Yellow	Yellow-cream	Yellow-cream	Yellow
42	SLP5	Yellow-cream	Yellow-orange	Yellow-orange	Yellow-orange
56	SLP5	Orange-coffee	Yellow-coffee	Yellow-coffee	Yellow-orange
14	SLP3	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
28	SLP3	Yellow	Yellow-cream	Yellow-cream	Yellow
42	SLP3	Yellow-cream	Yellow-orange	Yellow-orange	Yellow-orange
56	SLP3	Orange-coffee	Yellow-coffee	Yellow-coffee	Yellow-orange

*T1: 1mgL⁻¹ 2,4-D/ 3mgL⁻¹ TDZ; T2: 3mgL⁻¹ 2,4-D/1mgL⁻¹ TDZ; T3: 1mgL⁻¹ 2,4-D/1mgL⁻¹ TDZ and T4: 3mgL⁻¹ 2,4-D/3mgL⁻¹ TDZ.

**Figure 2.** Color of *Morus alba* L. calli under *in vitro* conditions. a) Fourth week of culture. b) Seventh week of culture. c) Necrosis in calli at the eighth week of culture. Scale barr 1 cm.**Figura 2.** Color de los callos de *Morus alba* L. en condiciones *in vitro*. a) Cuarta semana de cultivo. b) Séptima semana de cultivo. c) Necrosis en los callos en la octava semana de cultivo. Barra de escala de 1 cm.

Plant growth regulators supplementation with 2,4-D was the best approach for growing *in vitro* calli of white mulberries. The culture conditions are paramount for plant regeneration during *in vitro* propagation (Taha *et al.*, 2020), while much progress was made in this technology for

mulberries (Thomas, 2002; Vijayan *et al.*, 2011; Taha *et al.*, 2020). Plant growth regulators are instrumental to calli induction and plant regeneration under *in vitro* conditions (Freire-Seijo, 2003; Geetha & Murugan, 2017). Ikeuchi *et al.* (2013) mention that the auxin and cytokinin stimulate necessary reactions for the calli, stem and roots *in vitro* cultured from an explant. Several growth regulators (e.g., auxins, cytokinins) have been tested for *in vitro* propagation of mulberries (Geetha & Murugan, 2017; Fonseca-Carrasco *et al.*, 2020; Taha *et al.*, 2020). The most prominent role of 2,4-D was similar to several previous studies (Pierik, 1990; Bhau & Wakhlu, 2001; Cholo & Delgado, 2011; Espinosa *et al.*, 2012), thus demonstrating its prominent role of the growth and development of mulberries.

During experiment the grow *in vitro* explants get contaminated with fungi and bacteria from 120 flasks get contaminated 13 flasks (11%) and was recuperated 10 flasks (80%) by the decontamination protocol. In Hernández & González (2010), mentioned that the season of the year and the collection procedure are a frequently origin of contamination and made emphasis in the need of developing decontamination protocols for *in vitro* culture plant tissues.

Feeding silkworm larvae with white mulberries calli

The feeding silkworm larvae with *in vitro* grown white mulberry calli with different concentration of plant growth regulator affect the larvae growth, denote a bigger weight and length in T4 (**Table 5**).

Table 5. Mean length and weight of silkworm (*Bombyx mori*) larvae fed with *in vitro* grown calli of white mulberry (*Morus alba* L.) for 21 days

Tabla 5. Longitud y peso promedio de larvas de gusano de seda (*Bombyx mori*) alimentadas con callos de morera blanca (*Morus alba* L.) cultivados *in vitro* durante 21 días

Treatment*	Length (cm)	Weight (g)
4	2.62±2.10 ^{a**}	2.66±1.87 ^a
2	2.52±2.04 ^{ab}	2.60±1.85 ^a
3	2.47±2.00 ^b	2.59±1.85 ^a
1	2.35±1.92 ^c	2.46±1.77 ^b
MSD	0.1020	0.0771

*Treatments 1) 1 mgL⁻¹ 2,4-D/ 3 mgL⁻¹ TDZ, 2) 3 mgL⁻¹ 2,4-D/1 mgL⁻¹ TDZ, 3) 1 mgL⁻¹ 2,4-D/1 mgL⁻¹ TDZ and 4) 3 mgL⁻¹ 2,4-D/3 mgL⁻¹ TDZ.

**Means different superscript letters, within the same columns are statistically difference significative Tukey's test (<0.05).

The silkworm larvae stage has a variable duration that depends from the environmental conditions; at 20 °C the cycle length is about 50 to 55 days (Rodríguez *et al.*, 2012), in this research the larval stage showed a 45 days duration in normal conditions at room temperature at 22±1°C (**Figure 3**). The survival of silkworm larvae was 57.14%, from this, 23 larvae, 100% weaved silk cocoons emerge into moths. Silk cocoons had a mean length of 2.54 ±0.20 cm and a mean diameter of 1.315 ± 0.09 cm (**Figure 4**).

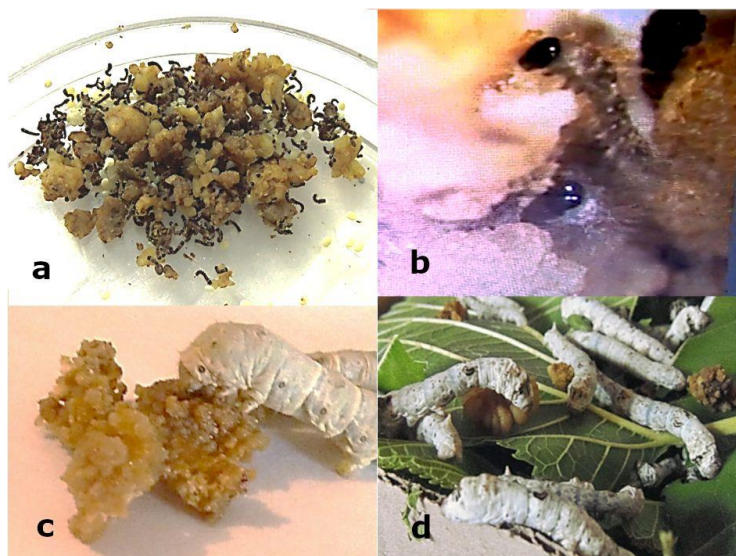


Figure 3. Feeding silkworm (*Bombyx mori*) larvae with *in vitro* grown calli of *Morus alba* L. a-b) First larval stage. c-d) Fourth larval stage.

Figura 3. Alimentación de larvas de gusano de seda (*Bombyx mori*) con callos cultivados *in vitro* de *Morus alba* L. a-b) Primer estadio larvario. c-d) Cuarto estadio larvario.

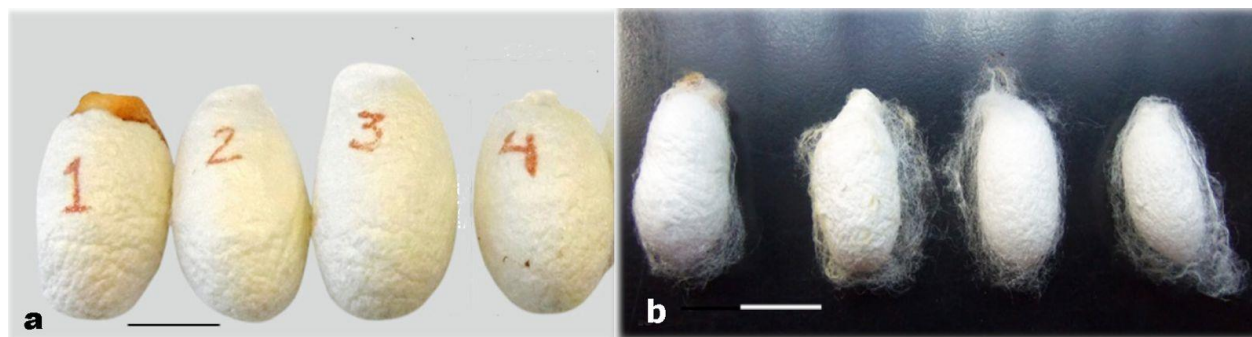


Figure 4. Cocoons obtained from adult silkworms (*Bombyx mori*) fed for 35 days with *in vitro* grown calli of *Morus alba* L. varieties SLP5 (a) and SLP3 (b). Scale barr 1 cm.

Figura 4. Capullos obtenidos de gusanos de seda adultos (*Bombyx mori*) alimentados durante 35 días con callos cultivados *in vitro* de *Morus alba* L., variedades SLP5 (a) y SLP3 (b). Barra de escala de 1 cm.

The fact that silkworm feeding relies solely on mulberries makes it susceptible to undersupply if the plant faces environmental challenges or incidence of disease and blight (Kumar *et al.*, 2012; Caccam & Mendoza, 2015; Rahman & Islam, 2021). Therefore, technology alternatives that safeguard the feeding supply for silkworms is highly desirable. As far as is known, the *in vitro* grown mulberries have not been tested for feeding silkworms. Under such scenario, in this research the *in vitro* propagation of mulberries calli were feeding acceptable by silkworm larvae under sterile conditions (Sharma & Thorpe, 1990; Sil, 2021).

The white mulberry SLP5 variety was the most productive between those tested here for *in vitro* growth of calli. There is vast evidence that mulberry variety plays an important role on *in vitro* propagation efficiency (Bhatnagar *et al.*, 2001; Taha *et al.*, 2020). These results were similar to previous reports on the growth rate of plants (Rodríguez-Ortega *et al.*, 2013), thus suggesting that *in vitro* growth may mirror the *in vivo* growth kinetics among varieties.

CONCLUSION

In this research the *in vitro* propagation of white mulberry was independent on plant variety. White mulberry *in vitro* growth calli under treatment four and two (3mgL^{-1} 2,4-D/ 3mgL^{-1} TDZ and 3mgL^{-1} 2,4-D/ 1mgL^{-1} TDZ) performed the best characteristics in the evaluated variables. The *in vitro* propagation of mulberries calli were acceptable as food by silkworm larvae under laboratory conditions.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Plant Tissue Culture Laboratory at the Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo for the facilities in the development of this research.

REFERENCES

- Acuña, C. (08 de 01 de 2020). *La biotecnología forestal*. Obtenido de Argenbio: <https://www.argenbio.org/recursos/biblioteca?task=download.send&id=83&catid=3&m=0>
- Ashraf H. & Qamar A. (2023). Silkworm *Bombyx mori* as a model organism: A review. *Physiological Entomology*, 48 (4):107–121. doi: 10.1111/phen.12421
- Bamikole, M., Ikhatua, M., Ikhatua, U., & Ezenwa, I. (2005). Nutritive Value of Mulberry (*Morus* spp.) Leaves in the Growing Rabbits in Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4, 231-236. doi: 10.3923/pjn.2005.231.236
- Banday, M., Rasool Mir, M., Raja Reshi, R., Farooq Baqual, M., Lateef Khan, I., & Naqash, F. (2017). Floristic Composition and Phytosociology of Weed Flora of Mulberry (*Morus* spp.) Gardens of Kashmir Valley. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 5(6), 1304-1311. doi:http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.5310
- Benavides, J. E., Lachaux, M., & Fuentes, M. (1994). Efecto de la aplicación de estiércol de cabra en el suelo sobre la calidad y producción de biomasa de Morera (*Morus* sp.). En J. E. Benavides, *Árboles y arbustos forrajeros en América Central* (págs. 495-514). Turrialba, CR: CATIE.
- Bhau, B. S., & Wakhlu, A. K. (2001). Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 66, 25-29. <https://doi.org/10.1023/A:1010617212237>
- Bhatnagar, S., Kapur, A., & Khurana, P. (2001). TDZ-Mediated Differentiation in Commercially Valuable Indian Mulberry, *Morus indica* Cultivars K2 and DD. *Plant biotechnology*, 18(1), 61-65. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.18.61>
- Bobis, O., Dezmirean, D. S., Marghitas, L. A., Bonta, V., Urcan, A., Pasca, C., & Moise, A. R. (2018). *Morus* sp. for revigorating silkworm breeding in romania and promoting health benefits of leaves and fruits. *Scientific Papers. Series B, Horticulture., LXII*, 211-216. Obtenido de <https://horticulturejournal.usamv.ro/pdf/2018/Art36.pdf>
- Caccam, M. M., & Mendoza, T. C. (2015). Improving Mulberry (*Morus alba* L.) Leaf Yield and Quality to Increase Silkworm Productivity in Northern Luzon, Philippines. *Annals of Tropical Research*, 37(1), 1-25. doi:<https://doi.org/10.32945/atr3711.2015>
- Cholo Masapanta, L. F., & Delgado Rodríguez, H. B. (2011). Formación de callos en el cultivo de la morera (*Morus alba* L.). (*Tesis de Licenciatura*). Universidad de Granma, Facultad de Ciencias Agrícolas, Bayamo, Cuba. Obtenido de <https://repositorio.utc.edu.ec/server/api/core/bitstreams/d39b0a62-12ed-49a9-bcbc-f01d42e25b2e/content>
- Espinosa, A., Silva, J., Sariego, S., Cholo Masapanta, L., & Delgado, H. (2012). Effect of explant type and concentration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on callus formation in *Morus*

- alba* L. *Pastos y Forrajes*, 35(4), 407-416. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000400006
- Fonseca-Carrasco, Y. Y., Brizuela-Fuentes, L., & Silva-Pupo, J. J. (2020). Obtainment of calluses from *Morus alba* L. var. *acorazonada* with different culture media and explant types. *Pastos y Forrajes*, 43(1), 63-70. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942020000100066
- Freire-Seijo, M. (2003). Aspectos básicos de la embriogénesis somática. *Bioteología Vegetal*, 3(4), 195-209. Obtenido de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/263/html>
- Freschi, L., Takahashi, C. A., Cambui, C. A., Semprebom, T. R., Bertinatto, C. A., Tamoso, M. P. & Mercier, H. (2010). Specific leaf areas of the tank bromeliad *Guzmania monostachia* perform distinct functions in response to water shortage. *Journal of Plant Physiology*, 526-533. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.10.011>
- Geetha, T., & Murugan, N. (2017). Plant Growth Regulators in Mulberry. *Annual Research & Review in Biology*, 13(3), 1-11. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2017/29637>.
- Hernández, Y. & González, M. E. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento *in vitro* de frutales perenes. *Revista Cultivos Tropicales*, 31(4):58-69.
- Ikechu, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, 25(9), 3159-3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
- Islam, M. R., Siddiqui, M. N., Khatun, A., Siddiky, M. N., Rahman, M. Z., Bostami, A. M., & Selim, A. S. (2014). Dietary effect of Mulberry leaf (*Morus alba*) meal on growth performance and serum cholesterol level of broiler chickens. *SAARC Journal of Agriculture*, 79-89. <https://doi.org/10.3329/sja.v12i2.21920>
- Koyunco, F., Cetinbas, M., & Erbal, İ. (2014). Nutritional constituents of wild-grown black mulberry (*Morus nigra* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87. doi:<https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.014>
- Kumar, V., Kodandaramaiah, J., & Rajan, M. V. (2012). Leaf and anatomical traits in relation to physiological characteristics in mulberry (*Morus* sp.) cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 683-689. <https://doi.org/10.3906/bot-1003-48>
- Liang, L., Wu, X., Zhu, M., Zhao, W., Li, F., Zou, Y., & Yang, L. (2012). Chemical composition, nutritional value, and antioxidant activities of eight mulberry cultivars from China. *Pharmacogn Mag*, 8(31), 215-24. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.99287>
- Ljubojević, M., Šavikin, K., Zdunić, G., Bijelić, S., Mrđan, S., Kozomara, M., . . . Narandžić, T. (2023). Selection of Mulberry Genotypes from Northern Serbia for 'Ornafruit' Purposes. *Horticulturae*, 9(1), 1-14. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010028>
- Mallick, P., & Sengupta, M. (2022). Prospect and Commercial Production of Economically Important Plant Mulberry (*Morus* Sp.) Towards the Upliftment of Rural Economy. En S. Gupta, & P. Chaturvedi, *Commercial Scale Tissue Culture for Horticulture and Plantation Crops* (págs. 219-243). Singapore: Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-19-0055-6_10
- Milera, M., Sánchez, T., & Martín, G. (2010). *Morus* sp. para la alimentación de bovinos en desarrollo. *Pastos y Forrajes*, 33(1), 73-79. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000100006
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Özgen, M., Serce, S., & Kaya, C. (2009). Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientia Horticulturae*, 119(3), 275-279. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.08.007>
- Pierik, R. L. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Rahman, M. S., & Islam, S. M. (2021). Studies on Food, Health and Environmental Perspectives In Mulberry (*Morus* Spp.) – A Review. *Journal of Bio-Science*, 29(1), 163-179. <https://doi.org/10.3329/jbs.v29i0.54832>

Recibido:
4/marzo/2025

Aceptado:
19/diciembre/2025

- Rodríguez O. A., Vargas M. J., Ventura M. A., Martínez M. A., Rodríguez M. J., Muhammad, E., & Lara V. F. M. (2012). *Manual de sericultura en Hidalgo*. México: UPFIM. Obtenido de <https://upfim.edu.mx/wp-content/investigacion/libros/Libro%202012%20Manual%20de%20Sericultura%20en%20Hidalgo.pdf?t=1686948044>
- Rodríguez-Ortega, A., Martínez-Menchaca, A., Ventura-Maza, A., Vargas-Monter, J., Ehsan, M., & Lara Viveros, F. M. (2013). Evaluación de variedades de morera en la alimentación del gusano de seda (*Bombyx mori*) en Hidalgo, México*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(5), 701-712. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000500004
- Sánchez, M. (2000). Mulberry: an exceptional forage available almost worldwide! *World Animal Review*, 93(1), 1-21. Obtenido de chrome-exte<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=80483ccd819586471d8e8a565a59a95411e7ceec>
- Sánchez, M. D. (2002). Mulberry for Animal Production. *World distribution and utilization of mulberry and its potential for animal feeding*. 147, págs. 1-9. Roma: Food and Agriculture Organization of the United National. Obtenido de Food and Agriculture Organization of the United Nations, Proceedings of an electronic conference: <https://www.fao.org/4/x9895e/x9895e02.htm#bm02>
- Sharma, K. K., & Thorpe, T. A. (1990). In vitro propagation of mulberry (*Morus alba* L.) through nodal segments. *Scientia Horticulturae*, 42(4), 307-320. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(90\)90054-I](https://doi.org/10.1016/0304-4238(90)90054-I)
- Sil, S. K. (2021). Influence of Auxin and Cytokinin on Callus Induction of Mulberry. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25(4), 2310-2318. Obtenido de <https://www.proquest.com/openview/dbc595157f3d981e1584af7d39ec8280/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2031963>
- Taha, H., Ghazy, U. M., Gabr, A. M., EL-Kazzaz, A. A., Ahmed, E. M., & Haggag, K. M. (2020). Optimization of *in vitro* culture conditions affecting propagation of mulberry plant. *Bulletin of the National Research Centre*, 44, 1-9. doi:<https://doi.org/10.1186/s42269-020-00314-y>
- Thomas, T. D. (2002). Advances in mulberry tissue culture. *Journal of Plant Biology*, 45, 7-21. <https://doi.org/10.1007/BF03030427>
- Vijayan, K., Tikader, A., & Teixeira da Silva, J. A. (2011). Application of Tissue Culture Techniques for Propagation and Crop Improvement in Mulberry (*Morus* spp.). *Tree and Forestry Science and Biotechnology*, 5(1), 1-13. Obtenido de chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/[http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2011/TFSB_5\(SI1\)/TFSB_5\(SI1\)1-13o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2011/TFSB_5(SI1)/TFSB_5(SI1)1-13o.pdf)
- Zach, A., Trull, H. E., Ortiz, M. L., Brem, J. J., & Brem, J. C. (2017). Degradación ruminal de materia seca de *Morus* sp en caprinos en diferentes estaciones del año. *Revista Veterinaria*, 28(2), 141-144. Obtenido de <https://www.scielo.org.ar/pdf/revet/v28n2/v28n2a10.pdf>