

**INDUCCIÓN DE CALLO EN PLANTAS
SILVESTRES DE ZÁBILA (*ALOE VERA*) CON DIFERENTES
COMBINACIONES DE 2,4-D, BA Y KINETINA**

ÁNGELA MATOS-ACURERO

*Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias,
Universidad del Zulia, Apartado 526, Maracaibo 4001, Venezuela
angi69@cantv.net, citogeneticavegetal@yahoo.com*

Resumen. Se estudió el potencial callogénico de *Aloe vera* L. utilizando explantes de hojas jóvenes de plantas silvestres, cultivándolos en medio Murashige y Skoog (MS) suplementado con auxinas y/o citoquininas. Se observó que la adición de sustancias reguladoras del crecimiento no es imprescindible para la obtención de callos, pero sí es necesaria para la obtención de mejores porcentajes de formación de callos. Cuando se añadió 2,4-D sola a medio MS los mejores resultados se obtuvieron con una concentración de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ observándose un 15% de formación de callos. Con citoquininas solas, los mejores resultados se obtuvieron con BA, observándose un 17% de formación de callo con una concentración de 1 mg.L^{-1} . Al añadir 2,4-D y citoquininas al medio de cultivo, los resultados dependieron de la concentración y tipo de combinación auxina/citoquinina empleada, obteniéndose las mejores respuestas (80–87%) con la combinación de 1 mg.L^{-1} de 2,4-D y 2 mg.L^{-1} de BA. Los porcentajes de callogénesis con la combinación 2,4-D/Kinetina fueron menores con un máximo del 68% a una concentración de 2 mg.L^{-1} de 2,4-D y 1 mg.L^{-1} de kinetina. *Recibido: 27 marzo 2007, aceptado: 23 octubre 2007.*

Palabras clave. *Aloe vera*, callos, auxinas, citoquininas.

EFFECT OF DIFFERENT COMBINATIONS OF 2,4-D, BA AND KINETIN
ON CALLUS FORMATION IN WILD SABILA PLANTS (*ALOE VERA*)

Abstract. *Aloe vera* L. callus formation was studied using young, wild plant leaves as explants. Explants were grown in Murashige and Skoog (MS) medium, supplemented with auxins and/or cytokinins. Addition of growth regulators was not essential for callus formation itself, but was necessary to obtain higher percentages of calli. When only 2,4-D was added to the MS medium, best results (15% callus formation) were obtained with a concentration of 0.1 mg.L^{-1} . Using cytokinins only, best results were obtained with BA, observing 17% callus formation with a

concentration of 1 mg.L^{-1} . When 2,4-D and cytokinins were added to the culture medium, results varied depending on the concentration and type of auxin-cytokinin combination present. Best results (80–87%) were obtained using a combination of 1 mg.L^{-1} of 2,4-D and 2 mg.L^{-1} of BA. Callus formation (%) with the 2,4-D/Kinetin combination was less, with a maximum of 68%, using 2 mg.L^{-1} of 2,4-D and 1 mg.L^{-1} of kinetin concentration. Received: 27 March 2007, accepted: 23 October 2007.

Key words. *Aloe vera*, callus formation, auxins, cytokinins.

INTRODUCCIÓN

La zábila (*Aloe vera* L.) se ha constituido en la actualidad en uno de los cultivos más importantes de Venezuela, especialmente por la utilización de sus hojas para la elaboración de productos cosméticos y medicinales (Vega *et al.* 2005). Debido a ello, en los últimos años se han incrementado las investigaciones científicas de esta planta con la finalidad de lograr su mejor aprovechamiento. Sin embargo, la tasa de propagación de esta planta es muy lenta como para suplir la creciente demanda comercial de sus productos y subproductos tanto a nivel nacional e internacional (Piña 2005). El cultivo *in vitro* del *Aloe vera* es una de las alternativas biotecnológicas que permite incrementar el número de plantas de zábila en corto tiempo, con total independencia de las condiciones climáticas, lo que ayudaría a satisfacer las necesidades actuales del mercado.

Una de las técnicas de la propagación *in vitro* es el cultivo de callo. Un callo es una masa de células más o menos organizada que usualmente se origina como resultado de heridas en órganos y tejidos ya diferenciados, por tanto, un callo no es homogéneo sino que por el contrario, está formado por células diferenciadas e indiferenciadas (Chawla 2002).

La formación del callo depende del tipo de regulador del crecimiento y su concentración en el medio depende del genotipo y del contenido endógeno de hormonas del explante, siendo necesario aportar, según el caso, sólo auxinas, sólo citoquininas o ambas. Las auxinas, en concentraciones moderadas a altas son las más usadas para la formación de callos, entre ellas, la más utilizada es el 2,4-D. Una alta concentración de auxina y baja de citoquinina en el medio promueve la proliferación celular en algunas especies, con la consecuente formación de callo. Las citoquininas más utilizadas son la kinetina (Kin) y la benciladenina (BA) y dentro de las auxinas, las más empleadas son ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolacético (AIA) (Chawla 2002).

También son igualmente importantes otros factores para la formación de callos, entre ellos, el tipo de material del que proviene el explante (juvenil o adulto) y la posición original de este en la planta donante, así como también el genotipo, la composición del medio nutritivo y los factores físicos como luz, temperatura, etc. (Polanco *et al.* 1988, Chawla 2002).

La callogénesis en *A. vera* tiene algunas dificultades y existe escasa literatura al respecto. En 1987, Racchi cultivó diferentes explantes de *Aloe ferox* Mill. y obtuvo callos a partir de tejidos de semillas los cuales al ser subcultivados en el mismo medio, produjeron brotes de embriones somáticos que se desarrollaron en plantas. Roy y Sarkar (1991) obtuvieron callos de *A. vera* a partir de explantes de segmentos axilares de tallo con 2,4-D y kinetina.

Aloe pretoriensis y *Aloe barbadensis* se han propagado *in vitro* con 2,4-D y citoquinina en el medio de cultivo. La diferenciación de raíces y tallos en *A. pretoriensis* se obtuvo directamente a partir de explantes de semilla (Groenewald *et al.* 1975) mientras que los callos de *A. barbadensis* producidos en medio suplementado con 2,4-D se hicieron morfogenéticos al añadir esta citoquinina al medio (Natali *et al.* 1990).

En *Lavandula vera* se desarrolló un procedimiento para la regeneración de plantas a partir de callos de hojas, observándose la producción de múltiples brotes y de raíces con el uso de BA y de un sistema abierto de cultivo con cloro piridil fenil urea (CPPU), mientras que la tasa más alta de enraizamiento se obtuvo con AIA (Tsuro *et al.* 2000).

Uno de los principales problemas que se presentan al cultivar *in vitro* plantas de *Aloe* es el ennegrecimiento de los cultivos, resultado de la oxidación de polifenoles que son exudados al medio por los explantes y que pueden llegar a impedir el establecimiento de los cultivos (Matos *et al.* 2000). Este fenómeno ocurre debido a un incremento en la actividad metabólica de las células que están alrededor del área del daño del tejido, las cuales se dividen rápidamente y lo envuelven, lo que implica la producción de polifenoles para endurecer las paredes celulares y proteger la planta contra el ataque de patógenos (Allan 1991).

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto de diferentes concentraciones de la fitohormona 2,4-D en combinación con BA y Kin para la inducción y establecimiento de callo a partir del cultivo *in vitro* de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera*, con el propósito de lograr el mantenimiento del estado de callo de esta planta para su posterior empleo en estudios de

regeneración y cultivos de células para cuantificación de la producción de metabolitos secundarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las plantas de *Aloe vera* empleadas para realizar este estudio procedieron de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, recolectadas en los alrededores de los jardines de la Universidad del Zulia. Se tomaron las hojas de estas plantas para ser usadas como explantes primarios.

Las hojas, de aproximadamente 10 a 20 cm de longitud, se lavaron con agua corriente y se esterilizaron con etanol 70% durante 1 minuto, se colocaron una vez en agua destilada estéril y luego se sumergieron en una mezcla de hipoclorito sódico al 1% con tres gotas de Tween 20 durante 20 minutos. Por último, las hojas se pasaron tres veces por agua destilada estéril para eliminar los restos de hipoclorito y etanol.

Las hojas se cortaron en segmentos de aproximadamente 10–20 mm² bajo condiciones de esterilidad en una cámara de flujo laminar. Los explantes se colocaron en placas de Petri, de 90 mm de diámetro que contenían 25 mL de medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) (MS) suplementado con sacarosa al 3% y agar al 0,9% como agente solidificante. El pH del medio se ajustó a 5,7–5,8 con NaOH 0,1 N ó HCL 0,1 N según las necesidades. También se añadió ácido ascórbico 0,1 g.L⁻¹ con el fin de prevenir la oxidación en el medio de los compuestos fenólicos.

Para la inducción de callos a partir de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera* se añadieron al medio de cultivo MS diferentes combinaciones de la auxina 2,4-D y las citoquininas BA y Kin. Las concentraciones de la hormona 2,4-D fueron 0,1; 0,5; 1 y 2 mg.L⁻¹ combinadas con cada una de las concentraciones utilizadas para BA y Kin de 0,1; 0,5; 1; 2; 3 y 5 mg.L⁻¹. También se probaron la auxina y las citoquininas solas en concentraciones de 0,1; 0,5; 1; 2; 3 y 5 mg.L⁻¹.

Se sembraron 5 placas de Petri con 4 explantes de hoja cada una (20 explantes en total), con tres repeticiones para cada uno de los tratamientos. Las placas sembradas para cada tratamiento se colocaron en cámara de crecimiento con 12 h de luz a 25 ± 1 °C de temperatura.

Se cuantificó el número de explantes que formaron callo en los distintos tratamientos, durante las primeras 4 semanas de cultivo (30 días).

Se empleó un diseño estadístico completamente al azar, los datos se analizaron con el software SPSS utilizando la prueba de varianza ANOVA y las diferencias entre las medias se determinaron mediante el test de Tukey ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS

Se observó que la inducción de callo en explantes de *A. vera* varió con las diferentes combinaciones de las concentraciones de 2,4-D, BA y Kinetina. Cuando los explantes de hojas se cultivaron en medio MS sin hormonas se formaron callos en los cortes realizados a dichos explantes en muy escaso porcentaje (3%); los callos eran pequeños y de textura no friable (compactos). La mayoría de estos callos no sobrevivieron.

Cuando el medio MS se suplementó con la auxina o las citoquininas, éstas promovieron la formación de callo a los 30 días de cultivo dependiendo de la concentración hormonal (Fig. 1). La auxina 2,4-D indujo la formación de callos en un 15%, siendo la concentración más efectiva 0,1 mg.L⁻¹ (Tabla 1) (Fig. 2A, B y C). Los callos eran pequeños, compactos y de color verde-blanquecino (Fig. 2A).

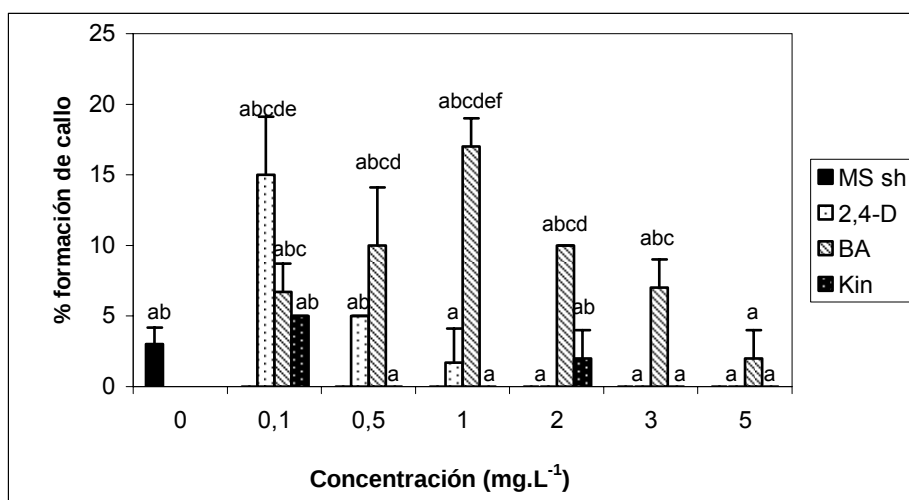


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de 2,4-D y las citoquininas (BA y Kin) solas en la inducción de callo a partir de explantes de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera*. Promedio de 3 experimentos $\pm$ D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($P \leq 0,05$). MS sh: Medio MS sin hormonas (control).

Tabla 1. Efecto de diferentes concentraciones de 2,4-D y las citoquininas (BA y Kin) solas en la inducción de callo a partir de explantes de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera* (promedio de 3 experimentos $\pm$ D.E.).

Hormona	[](mg/L ⁻¹)	% Expl. que forman Callo	% Contaminación	% Necrosis
2,4-D	0,1	15 $\pm$ 4,1	0	0
	0,5	5 $\pm$ 0,0	0	0
	1	1,7 $\pm$ 2,4	0	0
	2	0 $\pm$ 0,0	0	0
	3	0 $\pm$ 0,0	0	0
	5	0 $\pm$ 0,0	0	0
BA	0,1	6,7 $\pm$ 2,0	0	1,7 $\pm$ 2,3
	0,5	10 $\pm$ 4,1	0	0
	1	17 $\pm$ 2,0	0	0
	2	10 $\pm$ 0,0	0	1,7 $\pm$ 2,3
	3	7 $\pm$ 2,0	0	0
	5	2 $\pm$ 2,0	0	0
Kin	0,1	5 $\pm$ 0,0	1,7 $\pm$ 2,3	0
	0,5	0 $\pm$ 0,0	8,3 $\pm$ 11,8	0
	1	0 $\pm$ 0,0	0	0
	2	2 $\pm$ 2,0	0	0
	3	0 $\pm$ 0,0	0	0
	5	0 $\pm$ 0,0	0	0

Como se observa en la Figura 1, al añadir citoquininas al medio MS, el porcentaje máximo de formación de callos fue de 17% con BA en concentración de 1 mg.L⁻¹, mientras que con kinetina el porcentaje máximo logrado fue de 5% con 0,1 mg.L⁻¹ (Tabla 1). Una vez más, los callos fueron pequeños y compactos.

Al añadir conjuntamente la auxina y las citoquininas al medio de cultivo, los resultados obtenidos dependieron de la concentración y tipo de combinación auxina/citoquinina empleada (Fig. 3). Cuando se usó la auxina 2,4-D junto con BA (Fig. 3A), se indujo la formación de callo en número elevado de explantes, obteniéndose respuestas entre el 80% al 87% (Tukey, $P \leq 0,05$) y en muchos casos hasta del 95% con la combinación de 1 mg.L⁻¹ de 2,4-D y 2 mg.L⁻¹ de BA (Tabla 2). Por el contrario, el porcentaje de callogénesis obtenido a partir de hojas de *A. vera* con la combinación de 2,4-D

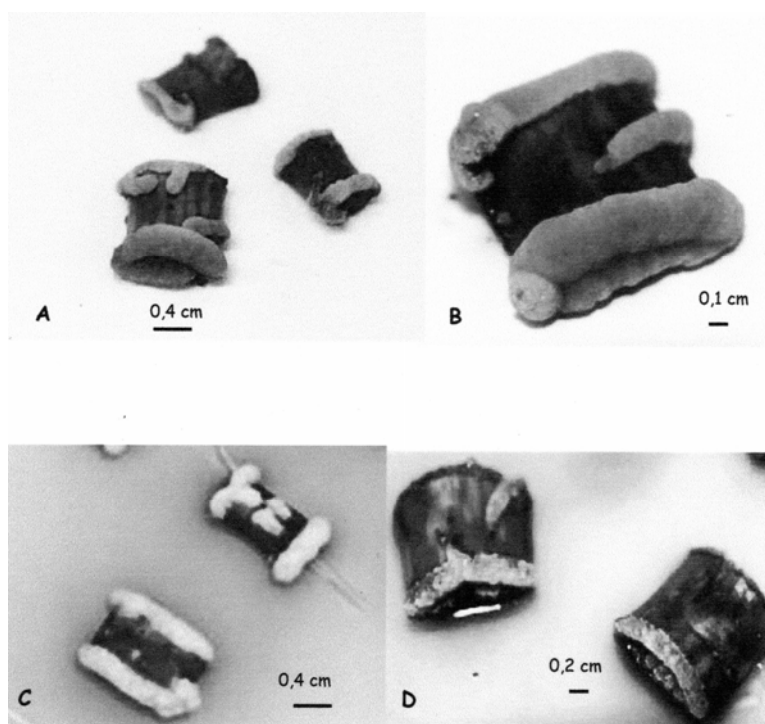


Figura 2. Callos obtenidos a partir de hojas jóvenes de plantas silvestres de *Aloe vera*. A: Callos obtenidos en medio con 1 mg.L^{-1} de 2,4-D y 2 mg.L^{-1} de BA, B: Callos obtenidos en medio con 1 mg.L^{-1} de 2,4-D y 5 mg.L^{-1} de BA, C y D: Efecto del 2,4-D sobre el color de los callos, C: Callos obtenidos con 1 mg.L^{-1} de 2,4-D y 1 mg.L^{-1} de kinetina, y D: Callos obtenidos con 2 mg.L^{-1} de 2,4-D y 1 mg.L^{-1} de kinetina.

y kinetina (Fig. 3B) fue menor con respecto a la combinación anterior, sin embargo la mejor respuesta se obtuvo con 2 mg.L^{-1} de 2,4-D y 1 mg.L^{-1} de kinetina con un 68% de formación de callo (Tabla 3)(Fig. 2D).

La formación de callos en hojas de *A. vera* se vio favorecida en general por una alta concentración de auxina combinada con citoquinina y las combinaciones más efectivas para inducir callogénesis fueron las formadas por 2,4-D/BA (Tukey, $P \leq 0,05$). La mayoría de estos callos eran pequeños y compactos; en las combinaciones con 2,4-D pudo verse que el color fue variando, tornándose más blanquecinos a medida que aumentaba la concentración de 2,4-D (Fig. 2C). Los porcentajes de necrosis fueron mayores en los medios que contenían combinaciones de 2,4-D y kinetina. No se observó organogénesis en estos callos.

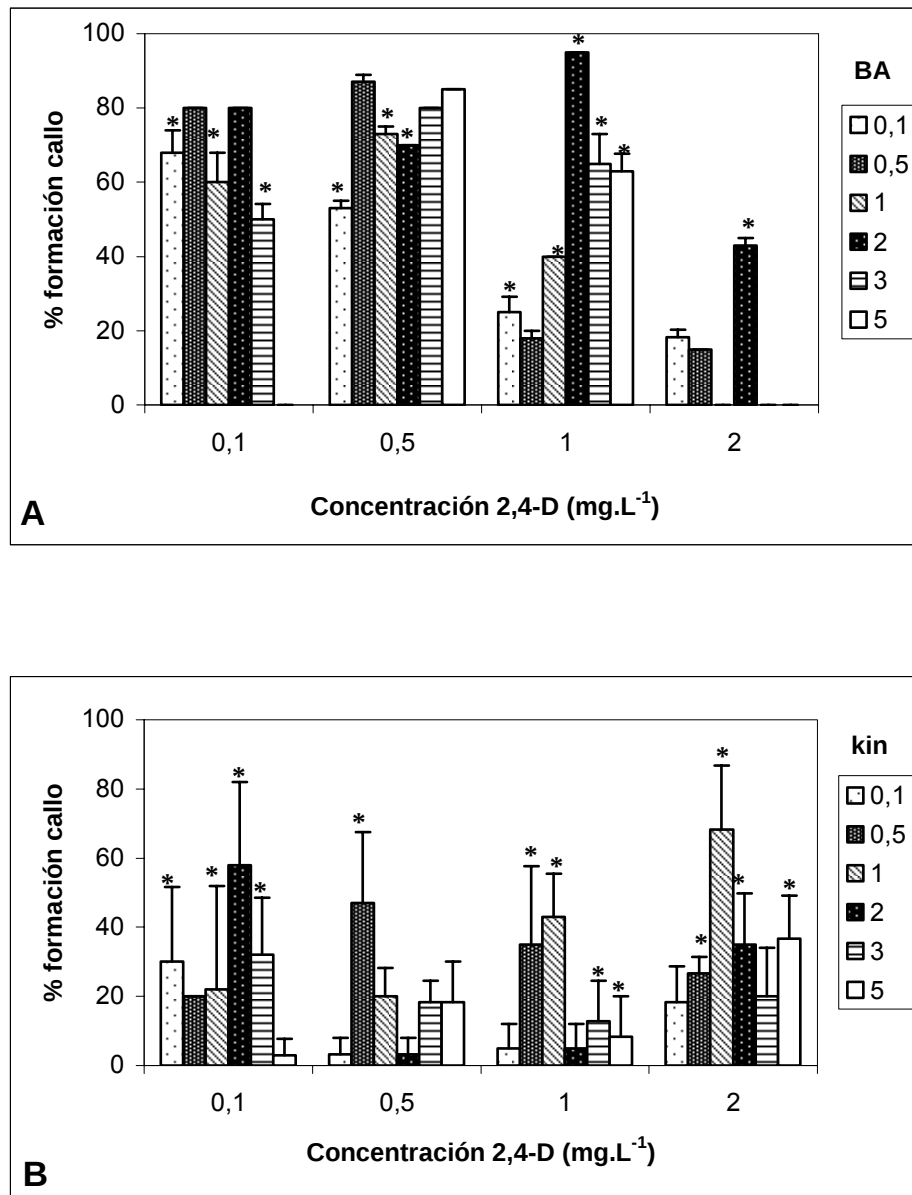


Figura 3. Efecto de diferentes concentraciones de 2,4-D y combinadas con las citoquininas BA (A) y kinetina (kin, B) en la inducción de callo a partir de explantes de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera*. Promedio de 3 experimentos $\pm$ D.E. (*) indica diferencias significativas según Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabla 2. Efecto de diferentes concentraciones de 2,4-D y BA en la inducción de callos a partir de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera* (promedio de 3 experimentos $\pm$ D.E.).

2,4-D (mg/L ⁻¹)	BA (mg/L ⁻¹)	% Expl. que forman Callo	% Contaminación	% Necrosis
0,1	0,1	68 $\pm$ 6,0	15 $\pm$ 7,0	0
	0,5	80 $\pm$ 0,0	0	0
	1	60 $\pm$ 8,0	15 $\pm$ 7,0	0
	2	80 $\pm$ 0,0	0	0
	3	50 $\pm$ 4,1	0	0
	5	0 $\pm$ 0,0	40 $\pm$ 28,2	0
0,5	0,1	53 $\pm$ 2,0	16 $\pm$ 4,7	0
	0,5	87 $\pm$ 2,0	0	0
	1	73 $\pm$ 2,0	0	0
	2	70 $\pm$ 0,0	13 $\pm$ 9,4	0
	3	80 $\pm$ 0,0	0	0
	5	85 $\pm$ 0,0	0	0
1	0,1	25 $\pm$ 4,1	13 $\pm$ 9,4	3 $\pm$ 4,7
	0,5	18 $\pm$ 2,0	13 $\pm$ 9,4	8 $\pm$ 4,7
	1	40 $\pm$ 0,0	0	0
	2	95 $\pm$ 0,0	0	3 $\pm$ 4
	3	65 $\pm$ 8,0	0	5 $\pm$ 4,08
	5	63 $\pm$ 4,7	15 $\pm$ 7,0	0
2	0,1	18,3 $\pm$ 2,0	0	1,7 $\pm$ 2,3
	0,5	15 $\pm$ 0,0	13 $\pm$ 9,4	0
	1	0 $\pm$ 0,0	16,7 $\pm$ 11,7	8 $\pm$ 4,7
	2	43 $\pm$ 2,0	20 $\pm$ 14,1	1,7 $\pm$ 2,3
	3	0 $\pm$ 0,0	30 $\pm$ 21,2	0
	5	0 $\pm$ 0,0	13 $\pm$ 9,4	0

Tabla 3. Efecto de diferentes concentraciones de 2,4-D y kinetina en la inducción de callos a partir de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera* (promedio de 3 experimentos $\pm$ D.E.).

2,4-D (mg/L ⁻¹)	Kin (mg/L ⁻¹)	% Expl. que forman Callo	% Contaminación	% Necrosis
0,1	0,1	30 $\pm$ 21,6	0	20 $\pm$ 21,6
	0,5	20 $\pm$ 0,0	0	23 $\pm$ 20,5
	1	22 $\pm$ 30,0	0	13 $\pm$ 12,4
	2	58 $\pm$ 24,0	0	10 $\pm$ 8,1
	3	32 $\pm$ 16,5	0	0
	5	3 $\pm$ 4,7	0	0
0,5	0,1	3,3 $\pm$ 4,7	0	0
	0,5	47 $\pm$ 20,5	0	0,7 $\pm$ 0,9
	1	20 $\pm$ 8,2	6,7 $\pm$ 9,4	23,3 $\pm$ 20,5
	2	3,3 $\pm$ 4,7	1,7 $\pm$ 2,3	0
	3	18,3 $\pm$ 6,2	0	23 $\pm$ 16,9
	5	18,3 $\pm$ 11,8	0	26,7 $\pm$ 24,9
1	0,1	5 $\pm$ 7,0	0	20 $\pm$ 28,2
	0,5	35 $\pm$ 22,7	4,7 $\pm$ 0,4	3,3 $\pm$ 4,7
	1	43 $\pm$ 12,4	0	13 $\pm$ 18,8
	2	5 $\pm$ 7,0	0	0
	3	12,8 $\pm$ 11,7	6,7 $\pm$ 1,8	23 $\pm$ 32,9
	5	8,3 $\pm$ 11,8	0	0
2	0,1	18,3 $\pm$ 10,3	3,3 $\pm$ 4,7	10 $\pm$ 14,1
	0,5	26,7 $\pm$ 4,7	0	10 $\pm$ 14,1
	1	68,3 $\pm$ 18,4	0	0
	2	35 $\pm$ 14,7	0	0
	3	20 $\pm$ 14,1	0	23 $\pm$ 4,7
	5	36,7 $\pm$ 12,5	0	16,7 $\pm$ 12,4

DISCUSIÓN

En Venezuela, el aumento de la demanda nacional e internacional de la zábila, ha permitido aumentar la producción de los zabilares de los estados Sucre, Anzoátegui, Falcón, Lara y Zulia ocupando una superficie sembrada de más de 10.000 hectáreas para el año 2006 (Imery-Buiza 2006). Sin embargo, la tasa de multiplicación y crecimiento de esta planta es insuficiente para abastecer la demanda del gel y el polvo de esta planta. La técnica de cultivo de tejidos vegetales aparece como una opción para vencer este inconveniente utilizando para ello protocolos de regeneración *in vitro* vía la inducción de callos.

La importancia del cultivo de callos en plantas medicinales radica en que estos resultados pueden ser empleados para realizar estudios fisiológicos, bioquímicos y determinar la producción de metabolitos secundarios en las estructuras formadas. Para realizar este tipo de cultivo es necesario lograr una buena inducción de callos, esto se logra optimizando diferentes factores que influyen en dicha inducción, como por ejemplo los reguladores del crecimiento (Roben *et al.* 1993).

En este trabajo se observó que cuando se añadió solamente la auxina 2,4-D o las citoquininas (BA o Kin) solas al medio de cultivo, la inducción de callo en los explantes de hoja fue baja. Por ejemplo, cuando se añadió la auxina 2,4-D al medio de cultivo, la formación de callo fue del 15%. Cuando los explantes de las hojas de *A. vera* se cultivaron en medio MS con citoquininas solas, los mejores resultados se obtuvieron con BA, observándose un 17% de formación de callo con una concentración de 1 mg.l⁻¹, mientras que con kinetina el porcentaje máximo fue del 5% con una concentración de 0,1 mg.l⁻¹. Resultados similares se obtuvieron en estudios de embriones somáticos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), donde se observó que las citoquininas inducían organogénesis, especialmente la BA (Guohua 1998). De hecho, algunos autores propusieron una acción directa del BA en la inducción callogénica (Centeno *et al.* 1998, Feito *et al.* 1995), mientras que otros (Kuiper *et al.* 1989) apuntaron a un efecto indirecto al incrementar las concentraciones de las citoquininas naturales.

Al añadir conjuntamente 2,4-D y citoquininas al medio de cultivo, los resultados dependieron de la concentración y tipo de combinación auxina/citoquinina empleada. Las mejores respuestas se obtuvieron con la combinación 2,4-D y BA donde los porcentajes de callogénesis fueron superiores a aquellos obtenidos con 2,4-D y Kin en la mayoría de las

combinaciones probadas. La mejor combinación fue 1 mg.L⁻¹ de 2,4-D y 2 mg.L⁻¹ de BA.

Los resultados obtenidos indican que la formación de callo en explantes de hojas silvestres de *A. vera* se vio favorecida en la mayoría de los medios que contenían una alta concentración de auxina (2,4-D) combinada con la citoquinina BA, tal como lo han descrito Natali *et al.* (1990) para *A. vera*. De igual manera, Cura *et al.* (2004) obtuvo buenos resultados en la propagación de esta planta con una combinación de 0,1 mg.L⁻¹ de BA más 1 mg.L⁻¹ de IBA.

Los porcentajes de necrosis fueron mayores en los medios que contenían combinaciones de 2,4-D y Kin, lo que concuerda con lo expuesto por Natali *et al.* (1990) y Roy y Sarkar (1991). En el presente trabajo, tanto con BA como con kinetina, se observó ennegrecimiento de los explantes. Estos resultados concuerdan con los descritos por Natali *et al.* (1990), quienes afirmaron que el uso de BA y Kin causaba ennegrecimiento de los tejidos por la oxidación de los compuestos fenólicos presentes en las hojas de esta planta. Estos callos no presentaron capacidad organogénica, debido, quizás, al difícil establecimiento de los cultivos por la elevada cantidad de compuestos fenólicos presentes en las hojas de *A. vera*.

En cuanto a la morfología de los callos, específicamente en el color, se observaron variaciones al cambiar las concentraciones de 2,4-D en el medio. A medida que se incrementaba la concentración de 2,4-D, los callos se tornaron de color blanquecino, lo que se explica por el hecho de que el 2,4-D es un inhibidor de la síntesis de clorofila (George 1993).

Estos resultados servirán de base para el establecimiento de callos de *A. vera* que serán utilizados para ensayos posteriores, especialmente para medir producción *in vitro* de metabolitos secundarios como aloína y aloe-emodina.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece a María Teresa Herrera por las sugerencias realizadas al manuscrito y a Maribel Colmenares y Carlos Giménez, del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de La Universidad del Zulia bajo el Proyecto de Investigación No. VAC-CONDES 0317-06.

LITERATURA CITADA

- ALLAN, E. 1991. Plant cell culture. Pp. 1–24, en A. Stafford y G. Warren (eds.), Plant cell and tissue culture. Open University Press, London.
- CENTENO, M. L., A. RODRÍGUEZ, M. ALBUERNE, I. FEITO Y B. FERNÁNDEZ. 1998. Uptake, distribution, and metabolism of 6-benzyladenine and cytokin content during callus initiation from *Actinidia deliciosa* tissues. J. Plant Physiol. 152: 480–486.
- CHAWLA, H. S. 2002. Introduction to plant biotechnology. Science Publishers Inc., USA. pp. 189–201.
- CURA, A. A., H. REY, Y. HEBE Y L. MROGINSKI. 2004. Cultivo *in vitro* de tejidos para la regeneración de plantas de *Aloe vera* L. (Liliaceae). Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias, Argentina. Disponible en: [www.unne.edu.ar/ Web/ cyt/ com2004/5-Agrarias/A-006.pdf](http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/5-Agrarias/A-006.pdf).
- FEITO, I., M. CENTENO, R. SÁNCHEZ-TAMÉS Y B. FERNÁNDEZ. 1995. Effect of applied benzyladenine on endogenous cytokinin content during the early stages of bud development of kiwifruit. Physiologia Plantarum 95: 241–246.
- GEORGE, E. F. 1993. Plant propagation by tissue culture, Part 1: The technology (2 ed.). Ed. Exegetics Limited. Edington, Wilts, England, pp. 21–33.
- GROENEWALD, E. G., A. KOELEMAN Y D. WESSELS. 1975. Callus formation and plant regeneration from seed tissue of *Aloe pretoriensis* Pole Evans. Z. Pflanzenphysiol 75: 270–272.
- GUOHUA, M. 1998. Effects of cytokinins and auxins on cassava shoot organogenesis and somatic embryogenesis from somatic embryo explants. Plant Cell, Tissue and Culture 54: 1–7.
- IMERY-BUIZA, J. 2006. Caracterización genética de parentales e híbridos de diploides (VS) y triploides (VVS) entre *Aloe vera* (L.) Burm.f. (2V, 4V) y *Aloe saponaria* Haw. (2S) (Aloaceae). Seminario de Avance de Tesis Doctoral, Postgrado de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, 147 pp.
- KUIPER, D., P. KUIPER, H. LAMBRES, J. SCHUIT Y M. STAAL. 1989. Cytokinin concentration in relation to mineral nutrition and benziladenine treatment in *Plantago major* sp. Pleiosperma. Physiol. Plant. 75: 511–517.
- MATOS, Á., J. MOLINA Y D. ACOSTA. 2000. Establecimiento de una metodología eficiente para el cultivo *in vitro* de *Aloe vera* L. Ciencia 8(3): 280–284.
- MURASHIGE, T. Y F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473–497.
- NATALI, L., I. CASTORENA SÁNCHEZ Y A. CAVALLINI. 1990. *In vitro* culture of *Aloe barbadensis* Mill.: Micropropagation from vegetative meristems. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 20: 71–74.
- PIÑA, H. 2005. Perfil preliminar del mercado de la zábila (*Aloe vera*) en el Estado Falcón, Venezuela. Bioagro 17(2): 85–92.
- POLANCO, C., M. PELÁEZ Y M. RUIZ. 1988. Factors affecting callus and shoot formation from *in vitro* cultures of *Lens culinaris* Medik. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 15(2): 175–182.

- RACCHI, M. I. 1987. Plant regeneration from callus culture of *Aloe ferox*. Proc. International Congr. Plant Tissue Culture, Bogotá, Colombia, 33 pp.
- ROBEN, M., J. REYES Y V. LOYOLA. 1993. Biosíntesis y bioconversión de metabolitos secundarios por células cultivadas *in vitro*. Pp. 219–231, en W. Roca y L. Mroginski (eds.), Cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura (CIAT) No. 151.
- ROY, S. C. Y A. SARKAR. 1991. *In vitro* regeneration and micropropagation of *Aloe vera* L. Scientia Horticulturae 47(1–2): 107–113.
- TSURO, M., M. KODA Y M. INOUE. 2000. Efficient plant regeneration from multiple shoots formed in the leaf-derived callus of *Lavandula vera*, using the “open culture system”. Scientia Horticulturae 86(1): 81–88.
- VEGA, A., N. AMPUERO, L. DIAZ Y R. LEMUS. 2005. El *Aloe vera* (*Aloe Barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. Revista Chilena de Nutrición 32(3): 208–214.