

## Evaluación de reguladores de crecimiento para la inducción de callo en *Aloe vera* L.

Ángela Matos Acurero y Andrea Sánchez

Laboratorio de Citogenética Vegetal, Departamento de Biología,  
Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.  
amatos@fec.luz.edu.ve; civefecluz@gmail.com

### Resumen

La zábila (*Aloe vera* L.) posee innumerables aplicaciones en la industria cosmética y medicinal, debido a los metabolitos secundarios que ella produce. Considerando que el crecimiento de esta planta es lento y que deben esperarse hasta 3 (tres) años para alcanzar grandes rendimientos, en este trabajo se evaluaron diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento para inducir callo en explantes de hojas jóvenes de plantas silvestres, con el fin de lograr altos porcentajes de formación de callos que serán utilizados en futuros estudios para la producción de metabolitos secundarios. Los explantes se cultivaron en medio Murashige y Skoog (MS) suplementado con auxinas y citoquininas. Se observó que la adición de sustancias reguladoras del crecimiento es necesaria para la obtención de mejores porcentajes de formación de callos. Por ejemplo, cuando los explantes se cultivaron en MS sin hormonas (control), la formación de callos fue del 3%. Cuando se añadieron auxinas (AIA y ANA) y citoquininas (BA y kinetina) solas al medio MS los mejores resultados se obtuvieron con 2 mgL<sup>-1</sup> de AIA observándose un 40% 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 mgL<sup>-1</sup>. Al combinar auxinas con citoquininas, los resultados dependieron de la concentración y tipo de combinación auxina/citoquinina empleada, obteniéndose 95% de formación de callos con la combinación de 1 mgL<sup>-1</sup> de AIA y 0,1 mgL<sup>-1</sup> de BA.

**Palabras clave:** zábila, *Aloe vera*, callos, auxinas, citoquinina.

## Evaluation of growth regulators for calli induction in *Aloe vera* L.

### Abstract

*Aloe vera* L. has various uses in the cosmetic and medicinal industries because of the secondary metabolites it produces. Considering that the growth of this plant is very slow and it is necessary to wait up to 3 years to obtain high yields, this study evaluates different growth regulator combinations to induce calli formation using the young leaves of wild plants as explants in order to get high calli formation percentages that could be used in future studies for secondary metabolite production. Explants were cultivated in a Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with auxins and/or cytokinins. It was observed that the addition of growth regulators is essential for obtaining higher percentages of calli formation. For example, when explants were cultivated in MS without hormones (control), calli formation was 3%, while when auxins were added, calli formation was 40% with 2 mgL<sup>-1</sup> of AIA. When cytokinins were added to MS medium, 17% calli formation was observed with 1 mgL<sup>-1</sup> of BA. When auxins and cytokinins were combined, results varied depending on the concentration and type of auxin/cytokinin combination. With a combination of 1 mgL<sup>-1</sup> AIA and 0.1 mgL<sup>-1</sup> BA, 95% calli formation was obtained.

**Key words:** *Aloe vera*, calli, auxins, cytokinins.

### Introducción

La zábila (*Aloe vera* L.) es una planta de amplia distribución en las zonas tropicales y subtropicales, con enorme importancia económica y medicinal [4, 23, 33]. Se adapta de manera natural en las zonas áridas y semiáridas de Venezuela donde desarrolla excelentes bondades agronómicas, no presenta grandes exigencias y permite obtener derivados de calidad que son cotizados en el mercado internacional [9].

Se le atribuyen múltiples aplicaciones, entre éstas, su uso en la medicina folclórica tradicional y en la industria cosmética para la elaboración de champú, lociones, cremas y una infinidad de productos. Los usos medicinales de la zábila son ampliamente conocidos; se ha descrito su acción antiviral, antibacteriana, antimicótica y antiinflamatoria [22], anticancerígena [6] y contra quemaduras [14]. También destaca su actividad contra enfermedades de la piel y en los desórdenes intestinales [36]. Se incluyen propiedades analgésicas y en la cicatrización de heridas [12], como calmante del dolor y regenerador de los tejidos [11], así como laxante [29]. Asimismo, en los últimos años se han publicado trabajos describiendo el uso de la zábila en

la elaboración de bebidas y alimentos funcionales [34] y como anticorrosivo en pinturas epóxicas [27].

En Venezuela, se ha observado un aumento de la extensión de los cultivos de zábila en los estados Sucre, Anzoátegui, Falcón, Lara y Zulia, ocupando una superficie sembrada de más de 10.000 hectáreas para el año 2006 [10].

La producción y el procesamiento del cultivo de zábila en Venezuela es explotado de manera tradicional y artesanal siendo poco aprovechado como fuente de ingresos de las zonas productivas, lo cual resulta, a su vez, en la baja o nula competitividad de Venezuela en el atractivo mercado mundial que ha tenido este rubro durante los últimos años [25, 26]. Asimismo, los productores tradicionales deben esperar hasta 3 años para que la planta alcance la madurez y pueda ser vendida en forma de “pasta” (acábar o exudado de la hoja, deshidratado de forma artesanal) o la penca (hoja entera). Ello ha impulsado el desarrollo de alternativas como los programas de cultivo *in vitro* que aparecen como una opción para la obtención de mayores volúmenes de producción de los metabolitos secundarios de esta planta, utilizados en las industrias cosmética y medicinal.

De esta manera, las técnicas de propagación *in vitro* constituyen en la actualidad una herramienta fundamen-

tal para incrementar el número de plantas sanas en menor tiempo, sin complicaciones climáticas, ya que esta planta no se desarrolla en climas fríos y sin necesidad de grandes extensiones de tierra para cultivos.

El cultivo de callos puede ser una alternativa para la obtención de algunos de estos metabolitos secundarios lo que podría permitir la producción a gran escala de dichos compuestos que presentan gran actividad biológica [15]. Existe escasa información sobre la callogénesis en *A. vera*. En 1987, Racchi [28] cultivó diferentes explantes de *A. ferox* Mill. y obtuvo callos a partir de semillas. Roy y Sarkar [30] obtuvieron callos de *A. vera* a partir de segmentos axilares de tallo con 2,4-D y kinetina. Otros estudios se han llevado a cabo con la finalidad de optimizar protocolos para el cultivo *in vitro* de la zábila [2, 16, 18].

De la aplicación de 2,4-D, BA (N6-benciladenina) y kinetina al medio de cultivo Murashige y Skoog han sido publicados como parte de una serie de trabajos que se vienen adelantando para la obtención de callos de zábila para su conservación en un banco de germoplasma como material base para ser utilizado en futuros estudios de suspensiones celulares [17]. De este modo, se pueden aplicar diferentes sustancias consideradas elicitoras que permitan incrementar el contenido de aloína y aloe-emodina, dos de los compuestos con innumerables propiedades farmacológicas y cosméticas en esta planta.

Este trabajo tuvo como objetivo continuar con los estudios de evaluación de las combinaciones de diferentes reguladores de crecimiento para la inducción de callos en zábila como paso esencial a fin de lograr cultivos de mayor longevidad que luego serán estudiados para verificar su potencial como productores de metabolitos secundarios de interés comercial. Se determinó el efecto del ácido nftalenacético (ANA) y ácido indol acético (AIA) (a diferentes concentraciones), y en combinación con benciladenina (BA) y kinetina (Kin) para la inducción y establecimiento de callo a partir de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera*.

## Materiales y métodos

Las plantas de zábila empleadas para este estudio fueron colectadas de plantaciones ubicadas en los alrededores de los jardines del Departamento de Biología de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia, en el Sector Grano de Oro, Municipio Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. A partir de estas plantas se obtuvieron las hojas que fueron utilizadas 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 lavaron 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 mm<sup>2</sup> 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 (MS) [20] suplementado con sacarosa al 3%, agar al 0,9% y 0,1 gL<sup>-1</sup> de ácido ascórbico con el fin de prevenir la oxidación del medio por los compuestos fenólicos. El pH del medio se ajustó a 5,7-5,8.

Para la inducción de callos a partir de hojas de plantas silvestres de *A. vera* se añadieron al medio de cultivo MS diferentes combinaciones de ANA y AIA y de las citoquininas BA y Kin. Las concentraciones de ANA y AIA fueron 0,1; 0,5; 1 y 2 mgL<sup>-1</sup> combinadas con cada una de las concentraciones utilizadas para BA y Kin de 0,1; 0,5; 1; 2; 3 y 5 mgL<sup>-1</sup>. También se probaron las auxinas y las citoquininas solas en concentraciones de 0,1; 0,5; 1; 2; 3 y 5 mgL<sup>-1</sup>. Como control, se sembraron explantes de hojas en medio MS sin hormonas.

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 cuarto de crecimiento con 12 horas de luz (intensidad de luz de 60  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) a 25  $\pm$  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 fueron analizados con el software SPSS (SPSS Statistics 17) utilizando el test de varianza ANOVA y las diferencias entre las medias se determinaron mediante el test Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## Resultados y discusión

La mayoría de los estudios en *A. vera* se han llevado a cabo usando 2,4-D; por ello, en este trabajo se probaron otras auxinas como ANA y AIA combinándolas con BA y kinetina.

Al añadir las diferentes concentraciones de auxinas y citoquininas, los resultados en cuanto a inducción de callo

en los explantes de *A. vera*, fueron variables. Cuando los explantes de hojas se cultivaron en medio MS sin hormonas (control) se formaron callos en los cortes realizados a dichos explantes en muy escaso porcentaje (3%). Esta formación de callo en el medio sin hormonas podría explicarse por la presencia en el explante (hojas) de cierto nivel endógeno de auxinas que permite la dediferenciación y proliferación celular [35]. De igual manera, cuando se añadieron auxinas (AIA y ANA) y citoquininas (BA o Kin) solas al medio de cultivo, la inducción de callo en los explantes de hoja fue baja, promoviendo la formación de callo a los 30 días de cultivo dependiendo de la concentración hormonal (Figura 1). Con AIA, el máximo porcentaje de formación de callos fue de 40%, con una concentración de 2 mgL<sup>-1</sup>. El uso de ANA indujo la formación de callos en un 7%, siendo la concentración más efectiva 5 mgL<sup>-1</sup>. Cuando los explantes de 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 mgL<sup>-1</sup>, mientras que con kinetina el porcentaje máximo fue del 5% con una concentración de 0,1 mgL<sup>-1</sup>.

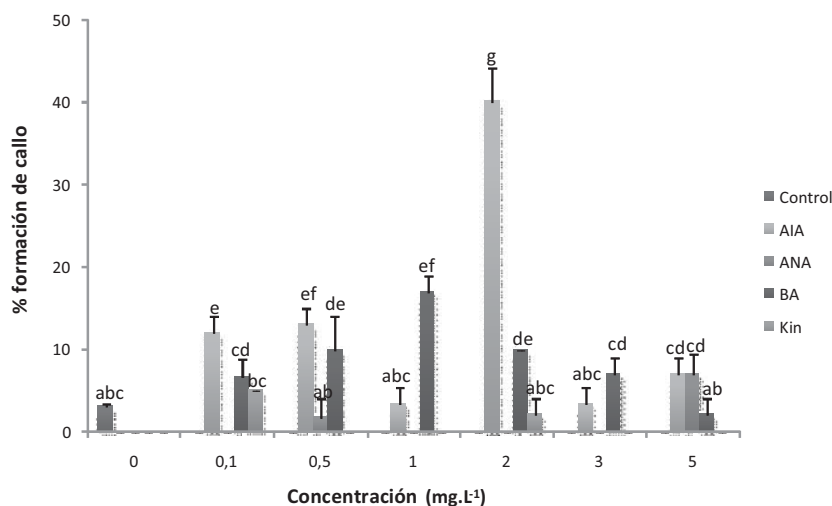
Al añadir conjuntamente auxinas y citoquininas al medio de cultivo, los resultados obtenidos dependieron de la concentración y tipo de combinación auxina/citoquinina empleada (Figura 2). La mejor respuesta se obtuvo al combinar AIA y BA, llegándose a encontrar un 95% de formación de callos con la combinación 1 mgL<sup>-1</sup> de AIA y 0,1 mgL<sup>-1</sup> de BA (la diferencia entre las medias fue significativa al nivel p=0,05, según Tukey). Con AIA y kinetina el porcentaje máximo de formación de callo fue de 72% con 0,1 mgL<sup>-1</sup> de AIA y 5 mgL<sup>-1</sup> de kinetina.

Cuando se usó ANA junto con BA (Figura 3A), se indujo la formación de callo en número elevado de explantes, obteniéndose respuestas del 75% (Tukey, p=0,05) con la combinación de 0,5 mgL<sup>-1</sup> de ANA y 0,5 mgL<sup>-1</sup> de BA. Los porcentajes de callogénesis fueron superiores a aquellos obtenidos con ANA y Kin (Figura 3B) en la mayoría de las combinaciones probadas y superiores también a los encontrados con ANA y las citoquininas solas. La mejor respuesta se obtuvo con 0,5 mgL<sup>-1</sup> de ANA y 3 mgL<sup>-1</sup> de kinetina con 50% de formación de callo. En *Castilleja tenuiflora* también se obtuvieron bajos porcentajes (10%) de formación de callos usando ANA (10 μM) y medio MS en explantes de hojas [32]. No obstante, en *Hevea brasiliensis*, al combinar 1 mgL<sup>-1</sup> de ANA con 1 mgL<sup>-1</sup> de BA en los clones pb254 y fx3864, se obtuvo mayor número de callos después de 25 días de cultivo (60 y 70% respectivamente) [3].

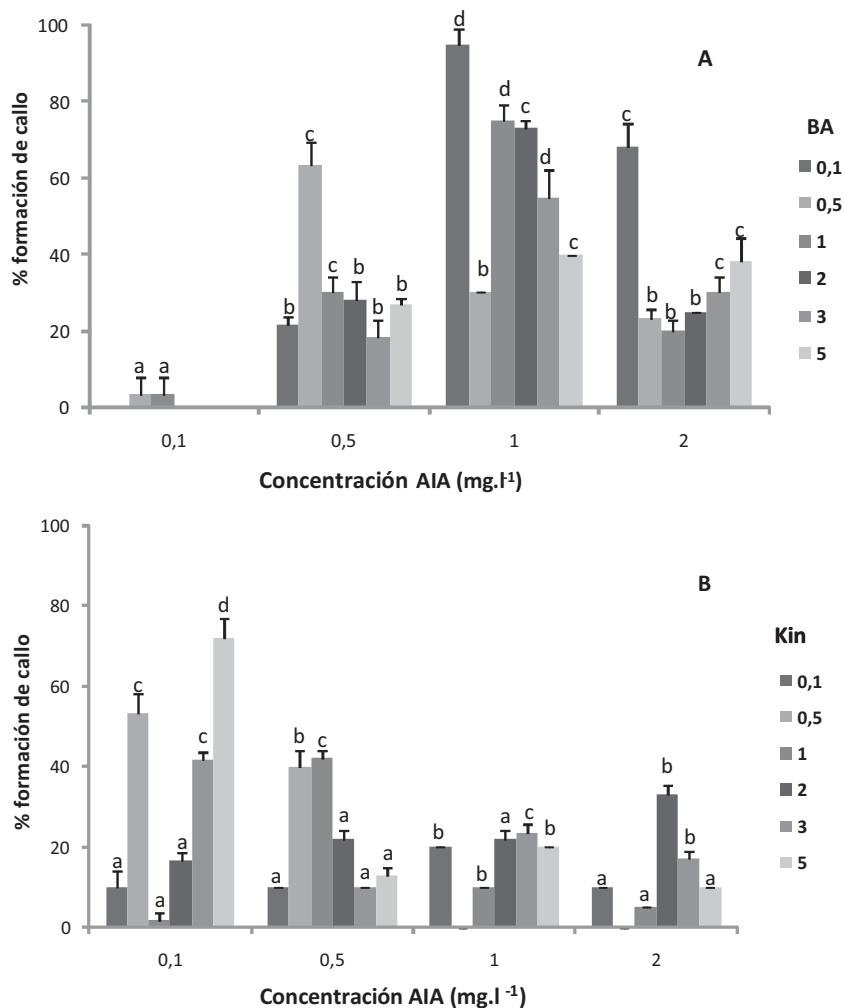
En un estudio anterior [17] se iniciaron cultivos *in vitro* de callos a partir de hojas jóvenes de plantas silvestres de *A. vera* combinando 2,4-D con BA y kinetina obteniéndose resultados más altos (entre 80 y 87% hasta 95%) que los encontrados en el presente trabajo, con la mayoría de las combinaciones de 2,4-D y BA.

Las desviaciones estándar fueron muy variables tanto en los tratamientos con auxinas y citoquininas solas como al combinar ambas. Esto puede deberse a que el explante inicial posee algunas células diferenciadas y otras indiferenciadas por lo que la respuesta se manifestará de acuerdo a la diversidad de tejidos presentes, ocasionando mayor variación.

Como se ha podido observar, los resultados obtenidos indican que la formación de callo en explantes de hojas silvestres de zábila se ve favorecida al combinar auxinas y ci-



**Figura 1.** Efecto de diferentes concentraciones de AIA, ANA 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 + D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

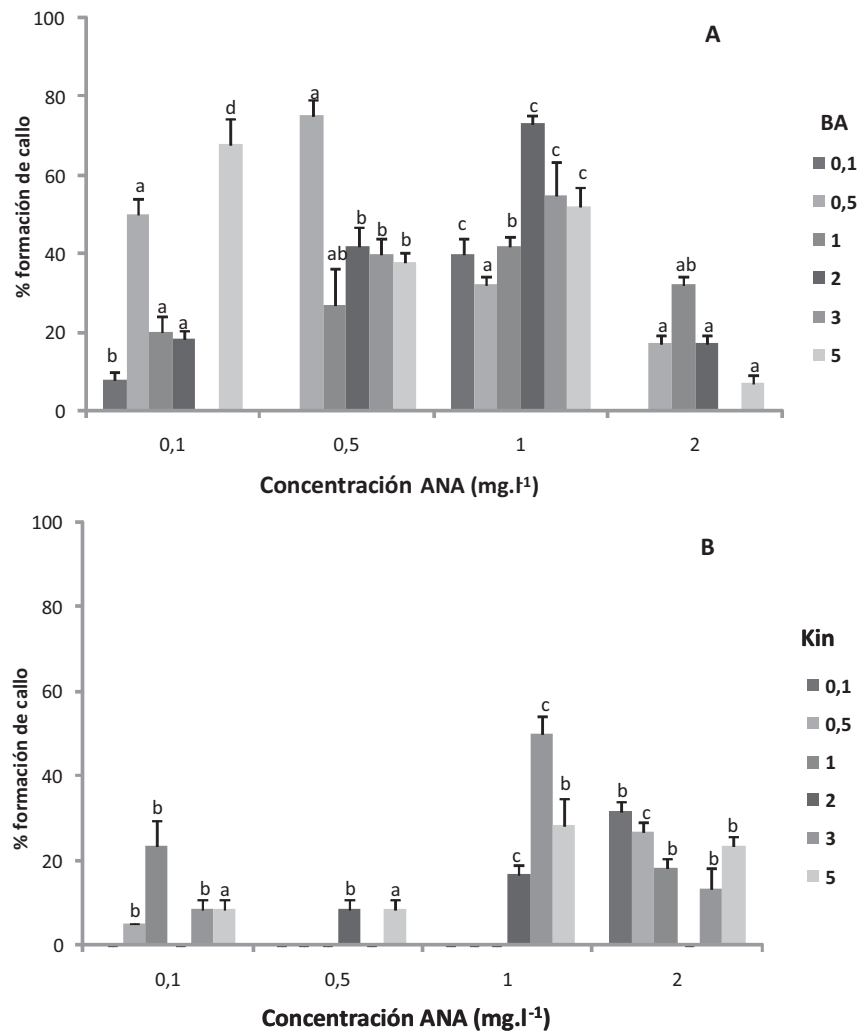


**Figura 2.** Efecto de diferentes concentraciones de AIA combinadas con las citoquininas BA (A) y kinetina (kin, B) en la inducción de callo a partir de explantes de hojas de plantas silvestres de *Aloe vera*. Promedio de 3 experimentos + D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas según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

toquininas, demostrando que el balance auxina:citoquinina es importante para la formación de callos en altos porcentajes y que las respuestas *in vitro* son altamente dependientes del genotipo, del estado de desarrollo de la planta donadora y del tipo de explante en sí [24]. Tomando en cuenta el bajo porcentaje de formación de callos con AIA y ANA solas, es probable que la presencia de BA al combinarla con AIA y ANA, sea determinante para lograr mejores respuestas. Es bien conocido el efecto promotor del BA en la formación de callo en otras plantas [1]. De hecho, algunos autores propusieron una acción directa del BA en la inducción callogénica [5, 7], mientras que otros [13] apuntaron a un efecto indirecto al incrementar las concentraciones de las citoquininas naturales. En otros estudios se ha observado que el uso de BA puede inducir cambios en las células parenquimáticas localizadas alrededor de los haces vasculares, promoviendo la formación de agregados celulares o meristemoides, que conducen a la for-

mación de callo [31]. Sin embargo, existen evidencias del gran potencial del AIA en la inducción de callos, lo que explicaría el alto porcentaje obtenido al combinar AIA con BA como una respuesta a la posible acción del AIA en el desarrollo de tejidos vasculares [19]. Asimismo, los altos porcentajes de formación de callos con AIA y ANA, pueden deberse a una alta concentración endógena de auxinas en el explante, ya que se ha descrito que la aplicación exógena de auxinas induce la acumulación endógena de éstas [8].

En el presente trabajo, tanto con BA como con kinetina, se observó ennegrecimiento de los explantes; sin embargo, los porcentajes de necrosis fueron mayores en los medios que contenían combinaciones de AIA y Kin. Estos resultados concuerdan con los descritos en otros trabajos donde se ha observado que la adición de kinetina y BA en el medio de cultivo puede oscurecer el color de los callos [3, 21] por la oxidación de los compuestos fenólicos presentes en las hojas de esta planta.



**Figura 3.** Efecto de diferentes concentraciones de ANA 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 + D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## Consideraciones finales

Los resultados del presente estudio muestran que a través de la manipulación del medio de cultivo y de las concentraciones de reguladores de crecimiento se puede inducir la formación de callo (desdiferenciación celular) a partir de hojas jóvenes de plantas silvestres de *Aloe vera*, lo que ofrece grandes posibilidades para el desarrollo futuro de estudios posteriores, especialmente para medir producción *in vitro* de metabolitos secundarios como aloína y aloe-emodina, con innumerables aplicaciones médicas y cosméticas.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado parcialmente por el Consejo de Desarrollo de la Universidad del Zulia (Maracaibo-Venezuela) bajo el No. VAC-CONDES 0174-08.

## Referencias

- [1] ALARCÓN, J.C.; CASTAÑO, H.I.; CORRALES, L.L.; JIMÉNEZ, S.L.; DÍAZ, A. 2006. Evaluación de algunas combinaciones de reguladores de crecimiento inductoras de callos en achote (*Bixa orellana* L.), planta activa contra la mordedura de serpientes. *Vitae* 13(1): 17-23.
- [2] ALBANY, N.; VÍLCHEZ, J.; LEÓN DE SIERRALTA, S.; MOLINA, M.; CHACÍN, P. 2006. Una metodología para la propagación *in vitro* de *Aloe vera* L. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 23: 213-222.
- [3] CADAVID, S.; HERNÁNDEZ, C.A.; HOYOS, R.; MEDINA, M.; RESTREPO, L.F. 2006. Estudios preliminares en la estandarización de un protocolo para la obtención de callos embriogénicos en dos clones de caucho (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) de diferentes orígenes geográficos. *Rev. Colomb. Biotecnol.* VIII(1): 32-47.
- [4] CARTER, S. 1994. *Flora of tropical East Africa, Aloaceae*. Royal Botanic Garden, Kew, U.K. 61pp.



- [5] CENTENO, M.L.; RODRÍGUEZ, A.; ALBUERNE, M.; FEITO, I.; FERNÁNDEZ, B. 1998. Uptake, distribution, and metabolism of 6-benzyladenine and cytokin content during callus initiation from *Actinidia deliciosa* tissues. **J. Plant Physiol.** 152: 480-486.
- [6] CHEN, S-H.; LIN, K-Y.; CHANG, C-C.; FANG, C-H. 2007. Aloe-emodin induced apoptosis in human gastric carcinoma cells. **Food and Chemical Toxicology** 45(11): 2296-2303.
- [7] FEITO, I.; CENTENO, M.; SÁNCHEZ-TAMÉS, R.; FERNÁNDEZ, B. 1995. Effect of applied benzyladenine on endogenous cytokinin content during the early stages of bud development of kiwifruit. **Physiologia Plantarum** 95: 241-246.
- [8] FLORES ORTIZ, C.M.; CABAÑAS-CABRERA, A.; PEÑALOSA, I.; QUINTANA, R.E.; VÁZQUEZ, J.; URZÚA, M.A. 2009. Auxinas endógenas, AIA-oxidasa y enraizamiento en *Vigna radiata* L. Wilczek inducido por auxina libre y conjugada. **Rev. Fitotec. Mex.** 32(1): 61-66.
- [9] FUENTES, R.; GONZÁLEZ, J.; VÍLCHEZ, J.; COLMENARES, C.; BRACHO, B. 2007. **Efecto del ácido indolbutírico y el tipo de sustrato en el enraizamiento ex vitro de zábila (*Aloe vera* L.)**. Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Departamento de Estadística. Cátedra de investigación Agropecuaria. Maracaibo, Venezuela, 36pp.
- [10] 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). Tesis doctoral. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Postgrado de Botánica. 147p.
- [11] JASSO DE RODRÍGUEZ, D.; HERNÁNDEZ-CASTILLO, D.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, R.; ANGULO-SÁNCHEZ, J.L. 2005. Antifungal activity *in vitro* of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. **Industrial Crops and Products** 21(1): 81-87.
- [12] JIA, Y.; ZHAO, G.; JIA, J. 2008. Preliminary evaluation: The effects of *Aloe ferox* Miller and *Aloe arborescens* Miller on wound healing. **Journal of Ethnopharmacology** 120 (2): 181-189.
- [13] KUIPER, D.; KUIPER, P.; LAMBRES, H.; SCHUIT, J.; STAAL, M. 1989. Cytokinin concentration in relation to mineral nutrition and benziladenine treatment in *Plantago major* sp. *Pleiosperma*. **Physiol. Plant.** 75: 511-517.
- [14] Maenthaisong, R.; Chaiyakunapruk, N.; Niruntraporn, S.; Kongkaew, C. 2007. The efficacy of *Aloe vera* used for burn wound healing: A systematic review. **Burns** 33(6):713-718.
- [15] MATOS, A. 2008. Aloesin, aloin and aloe-emodin production in *Aloe vera* L. calli. **Ciencia** 16 (4): 389-395.
- [16] MATOS, A. 2007a. Optimización de un protocolo de cultivo *in vitro* para la micropropagación de *Aloe vera* L. **Ciencia**, 15 (3): 319-330.
- [17] MATOS, A. 2007b. Inducción de callo en plantas silvestres de Zábila (*Aloe vera*) con diferentes concentraciones de 2,4-D, BA y kinetina. **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas**, 41 (4): 503-516.
- [18] MATOS, A.; MOLINA, J.; ACOSTA, D. 2000. Establecimiento de una metodología eficiente para el cultivo *in vitro* de *Aloe vera* L. **Ciencia** 8 (3): 280-284.
- [19] MESEJO, C.; MARTÍNEZ-FUENTES, A.; MARTÍNEZ, J.; ALMELA, V.; AGUSTÍ, M. 2003. Vascular tissues development of *Citrus* fruit peduncle is promoted by synthetic auxins. **Plant Growth Regul.** 39: 131-135.
- [20] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15: 473-497.
- [21] NATALI, L.; CASTORENA SÁNCHEZ, I.; CAVALLINI, A. 1990. *In vitro* culture of *Aloe barbadensis* Mill.: Micropropagation from vegetative meristems. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 20: 71-74.
- [22] NDHLALA, A.R.; AMOO, S.O.; STAFFORD, G.I.; FINNIE, J.F.; VAN STADEN, J. 2009. Antimicrobial, anti-inflammatory and mutagenic investigation of the South African tree aloe (*Aloe barberae*). **Journal of Ethnopharmacology** 124 (3): 404-408.
- [23] OLIVEIRA, F.Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. 2007. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Rev. Bras. Farmacogn.** 17: 466-476.
- [24] PHILLIPS, G. 2004. *In vitro* morphogenesis in plants-recent advances. **In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant**, 40: 342-345.
- [25] PIÑA, H. 2005. Perfil preliminar del mercado de la zábila (*Aloe vera*) en el Estado Falcón, Venezuela. **Bioagro** 17(2): 85-92.
- [26] PIÑA-ZAMBRANO, H.; CHIRINO, L. 2008. Mercado de la zábila (*Aloe vera* L.) en el estado Falcón. **Rev. Fac. Agron. (LUZ)** 25: 364-392.
- [27] PRATO, M.; AVILA, R.; DONQUIS, C.; MEDINA, E.; REYES, R. 2008. Antraquinonas en *Aloe Vera Barbardensis* de zonas semiáridas de Falcón, Venezuela, como inhibidores de la corrosión. **Multiciencias** 8 (2): 148-154.
- [28] RACCHI, M.I. 1987. Plant regeneration from callus culture of *Aloe ferox*. **Proc. Int. Congr. Plant Tissue Culture**. Bogotá. pp. 33.
- [29] RIVERO, M.R.; RODRÍGUEZ, L.A.; MENÉNDEZ, C.R.; FERNÁNDEZ, R.J.A.; ALONSO, G.; GONZÁLEZ, S.M.L. 2002. Obtención y Caracterización preliminar de un extracto de *Aloe vera* L. con actividad antiviral. **Rev. Cubana. Plant Med.** 7(1): 32-38.
- [30] ROY, S.C.; SARKAR, A. 1991. *In vitro* regeneration and micropropagation of *Aloe vera* L. **Scientia Horticulturae** 47(1-2): 107-113.
- [31] SALAZAR, R.; VARGAS, T.E.; DE GARCÍA, E.; OROPEZA, M. 2005. Micropropagación y organogénesis de *Aster ericoides* cultivar "Monte Cassino". **Interciencia** 30(5): 295-299.
- [32] SALCEDO-MORALES, G.; ROSAS-ROMERO, G.; GABOR-CORREA, N.; BERMÚDEZ-TORRES, K.; LÓPEZ-LANDO, A.R.; TREJO-TAPIA, G. 2009. Propagation and conservation of *Castilleja tenuiflora* Benth. ("Hierba del Cáncer") through *in vitro* culture. **Polibotánica** 28: 11-137.

- [33] SILVEIRA, P.; BANDEIRA, M.; ARRAIS, P. 2008. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Rev. Bras. Farmacogn.** 18: 618-626.
- [34] VEGA, A.; AMPUERO, N.; DÍAZ, L.; LEMUS, R. 2005. El *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. **Revista Chilena de Nutrición** 32 (3): 208-214.
- [35] VILLALOBOS, I.; ARIAS, O. 1987. Inducción y multiplicación de callos *in vitro* en tres cultivares comerciales de caña de azúcar (*Saccharum spp.*). **Agronomía Costarricense** 11(1): 39-44.
- [36] YUN, N.; LEE, C-H.; SUN, M-L. 2009. Protective effect of *Aloe vera* on polymicrobial sepsis in mice. **Food and Chemical Toxicology** 47 (6): 1341-1348.
-