

Efecto del sustrato en la aclimatización de plantas *in vitro* de *Aloe vera* L.

Naivy Pérez-Alonso, Alina Capote, Anabel Pérez, Leticia Gómez, Borys Chong-Pérez

Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54830.
e-mail: naivy@ibp.co.cu

RESUMEN

Aloe vera L. por sus propiedades terapéuticas excepcionales tiene gran importancia económica. Sin embargo, la principal problemática, especialmente en Cuba, radica en las escasas plantaciones comerciales. El desarrollo de protocolos de propagación *in vitro* puede contribuir a este fin. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el efecto del sustrato en la aclimatización de plantas *in vitro* de *Aloe vera*. Se formularon sustratos con diferentes proporciones de Compost y zeolita (100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100). Se logró un 100% de supervivencia, 8.38 hojas por planta con una altura de 9.02 cm y el mayor número de raíces por planta (7.69) en el sustrato que contenía el 100% de compost. Las plantas *in vitro* mostraron en condiciones de campo 100% de supervivencia, similar a las plantas obtenidas por métodos tradicionales. Sin embargo, el número de hijuelos por planta *in vitro* cultivada en campo fue de cinco mientras que las plantas cultivadas por métodos tradicionales fue de 2.7 a los 60 días de plantadas. En Cuba la presente investigación constituye el primer informe del efecto del sustrato en la aclimatización de plantas *in vitro* como última fase de un protocolo de propagación *in vitro* y su respuesta en condiciones de campo. Estos resultados cierran el ciclo de cultivo de plantas *in vitro* que corroboran la posibilidad de emplearlas en el establecimiento de plantaciones comerciales para el uso en las industrias farmacéuticas y de cosméticos.

Palabras clave: condiciones *ex vitro*, compost, plantas *in vitro*, zeolita

Effect of substrate in the acclimatization of *Aloe vera* L. *in vitro* plants

ABSTRACT

Aloe vera L. for its exceptional therapeutic properties has great economic importance. However, the main problem, especially in Cuba, lies in the scarce commercial plantations. The development of *in vitro* propagation protocols may contribute to this end. The present work was carried out with the objective of determining the effect of the substrate in the acclimatization of *in vitro* plants of *Aloe vera*. Substrates were formulated with different ratios of compost and zeolite (100: 0, 75:25, 50:50, 25:75, 0: 100). A 100% survival rate was achieved, 8.38 leaves per plant with a height of 9.02 cm and the highest number of roots per plant (7.69) in the substrate containing 100% compost. *In vitro* plants showed 100% survival in field conditions, similar to plants obtained by traditional methods. However, the number of shoots per *in vitro* plant cultivated in the field was five while the plants cultivated by traditional methods were 2.7 after 60 days of planted. In Cuba, the present research constitutes the first report about the effect of the substrate on the acclimatization of *in vitro* plants as the last stage of an *in vitro* propagation protocol and its response under field conditions. These results close the cycle of *in vitro* plant culture that corroborates the possibility of using them in the establishment of commercial plantations for use in the pharmaceutical and cosmetic industries.

Keywords: compost, *ex vitro* conditions, *in vitro* plants, zeolite

INTRODUCCIÓN

Las plantas son consideradas una fuente natural de sustancias activas empleadas en las industrias farmacéuticas, agroquímicas, bioplaguicidas, de alimentos y de cosméticos. El mercado internacional le ha concedido a la biotecnología un interés especial para la obtención y producción de metabolitos

secundarios a través de la aplicación de técnicas más productivas y eficientes debido a la elevada demanda de dichos productos naturales (Parsaeimehr *et al.*, 2011).

Aloe vera L. conocida como sábila, es una planta de la costa noroccidental de África que se cultiva principalmente en África del Sur, América Latina y el Caribe (Grace, 2011).

Existen alrededor de 300 especies de *Aloe*, de las cuales se han demostrado científicamente que son cuatro las que presentan las mayores propiedades medicinales: *Aloe barbadencis* Miller, *Aloe perry* Baker, *Aloe arborencens* Miller. No obstante, *A. barbadencis* Miller (= *Aloe vera* L.), es considerada como la más utilizada en la medicina curativa y la más popular en el mundo entero (Vega *et al.*, 2005).

La planta ha sido usada como laxante (Rivero *et al.*, 2002), como calmante del dolor, regenerador de los tejidos, antimicótico analgésico, en la cicatrización de heridas y agente antimicrobiano (Jasso *et al.*, 2005; Ndhlala *et al.*, 2009) y en la industria alimentaria (Vega *et al.*, 2005) y en la de cosméticos (Das *et al.*, 2010) en la que se encuentra bajo muchas formas: gel, pomada, loción, crema y jabón.

La micropropagación de *A. vera* ha sido informada en los últimos años por Matos (2007), Das *et al.* (2010), Jayakrishna *et al.* (2011), Pérez-Alonso *et al.* (2015) quienes refieren el estudio de varios factores que influyen en la eficiencia de los procesos. La aclimatización de las plantas *in vitro* es un aspecto fundamental en la culminación de dicho proceso. En esta fase juega un papel fundamental el sustrato. Investigaciones como la desarrollada por Vilchez *et al.* (2007) informan del uso de fuentes de materia

orgánica de disponibilidad local para la aclimatización de *A. vera* con buenos resultados al emplear el humus de lombriz.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, en este trabajo se propuso como objetivo determinar la respuesta de las plantas *in vitro* a diferentes sustratos durante la aclimatización. En Cuba, hasta el momento no existen investigaciones previas sobre la aclimatización de plantas *in vitro* de *A. vera* y su respuesta en condiciones de campo. Este trabajo pretende dar continuidad a resultados previos (Pérez-Alonso *et al.*, 2015) y constituye el primero descrito y utilizado para fomentar cultivos comerciales de la especie en Cuba.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

Como material vegetal inicial se emplearon plantas *in vitro* en el noveno subcultivo en la fase de multiplicación. Estas presentaban una coloración verde bosque (#228B22, código hexadecimal) en sus hojas. Eran vigorosas y turgentes, sin síntomas de hiperhidricidad, con una altura entre 3.5 a 10.5 cm, con tres a doce hojas y raíces de una hasta cinco (Figura 1) obtenidas mediante el protocolo desarrollado por Pérez-Alonso *et al.* (2015).



Figura 1. Plantas *in vitro* de *Aloe vera* previo a la plantación en condiciones *ex vitro*.

Tabla 1. Combinaciones de sustratos para la aclimatización de *A. vera* en casa de cultivo.

Tratamiento	Compost de cachaza (%)	Zeolita (%)
I	100	0
II	0	100
III	75	25
IV	50	50
V	25	75

Tabla 2. Características físico-química de la zeolita.

Composición química	%
Silicio (SiO ₂)	70.10
Aluminio (Al ₂ O ₃)	11.20
Hierro (Fe ₂ O ₃)	2.20
Hierro (FeO)	0.30
Magnesio (MgO)	0.60
Calcio (CaO)	4.50
Sodio (Na ₂ O)	1.50
Potasio (K ₂ O)	1.30
Fósforo (P ₂ O ₅)	0.07
Agua (H ₂ O)	4.70
Composición mineral	%
Clinoptilolita	40.00
Modernita	40.00
Otros (Calcita, cuarzo, feldespato)	20.00
Propiedades físicas	Valor
Tamaño de la partícula	0.01-1.0 mm
Densidad (δ)	0.37 g cm ⁻³
Densidad de la fase sólida (γ)	1.77 g cm ⁻³
Porosidad total (PT)	80.59 % vol.

Fase de aclimatización

Previo a la plantación en sustrato las plantas *in vitro* fueron separadas del medio de cultivo, lavadas con agua corriente e individualizadas. Posteriormente se plantaron según su tratamiento en bandejas de polipropileno negras de 28 alvéolos con una capacidad de 200 cm³

cada uno. Se formularon sustratos con distintas combinaciones de compost de cachaza y zeolita como se muestra en la tabla 1 que fueron mezclados manualmente.

Las características físico-químicas de los sustratos utilizados se muestran en las tablas 2 y 3. La zeolita utilizada fue producida por la

Tabla 3. Composición química de la cachaza.

Composición química	Valor
Calcio (CaO)	2312.3 mg l ⁻¹
Potasio (K ₂ O)	125.20 mg l ⁻¹
Fósforo (P ₂ O ₅)	1008.80 mg l ⁻¹
Materia orgánica	41.30%
C.E	1.14 mol cm ⁻³
pH	7.60



Figura 2. Plantas *in vitro* de *Aloe vera* en fase de aclimatización, plantadas en sustrato 100% compost de cachaza (A), después de 60 días previo a la individualización para la plantación en condiciones de campo (B).

Empresa GEOMINERA de Villa Clara. La cachaza fue obtenida del Complejo Agroindustrial Azucarero Efraín Alfonso de Villa Clara.

Una vez plantados, los brotes se colocaron en condiciones de casa de cultivo para su aclimatización, a una temperatura promedio durante el día de $30 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa del 70% e intensidad luminosa que osciló entre 224 y 457 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ medida con un luxómetro EXTECH Light meter 401 025. Se utilizó un sistema de riego automatizado por micro-aspersión. La frecuencia de riego fue de 3.0 min de duración dos veces al día.

Se utilizaron 26 plantas por tratamiento para un total de 130. La supervivencia, se definió como el número de plantas que sobrevivieron a los 15 días. Luego de pasar 60 días se midió la altura de las plantas (cm) desde la base hasta el extremo distal de la hoja más larga, se cuantificó el número de hojas, de hijos y de raíces por planta. Además, se midió el largo de las raíces (cm) y se describió la

coloración de los brotes para lo cual se utilizó el código hexadecimal de colores (<http://www.cwp.linnet.edu/cwis/cwp.html>).

Para el análisis de los datos se realizó la prueba de Kruskal Wallis/ Mann Whitney al no cumplirse los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 18.0 sobre Windows.

Plantación en condiciones de campo

Finalmente, para el cierre del ciclo del cultivo, se desarrolló el protocolo obtenido para la propagación de plantas *in vitro* de *A. vera* a partir de la integración de los resultados de Pérez-Alonso *et al.* (2015) y los obtenidos en el presente trabajo. La figura 2 muestra las plantas recién plantadas en fase de aclimatización (A) y a los 60 días de aclimatización (B) previo a la plantación en condiciones de campo. Las plantas *in vitro* fueron individualizadas y 200 de ellas plantadas en condiciones de campo (Figura 3).



Figura 3. Plantas obtenidas *in vitro* e hijuelos de plantas de *Aloe vera* obtenidos por métodos tradicionales cultivados en condiciones de campo.

Las plantas *in vitro* fueron plantadas en la Granja Suburbana Finca Sandino del municipio de Remedios, Villa Clara. Se utilizó un diseño de bloques al azar bajo iguales condiciones de cultivo y manejo con el fin de comparar su respuesta con hijuelos provenientes de plantas cultivadas por métodos tradicionales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de aclimatización

Los resultados indicaron que el manejo realizado bajo condiciones de casa de cultivo garantizó una alta supervivencia de las plantas *in vitro* sin diferencias significativas entre los tratamientos. En el tratamiento que contenía 100% de zeolita la supervivencia de las plantas fue del 96.1%, mientras que en los restantes fue del 100%.

La capacidad de las plántulas de *A. vera* para adaptarse a condiciones *ex vitro*, sin mayor inconveniente, pudo deberse a que las hojas de esta planta contienen más de 98.5% de agua (Lee *et al.*, 2011). Esta especie posee un mecanismo fotosintético ácido crasuláceo y al pasar de la condición heterótrofa (*in vitro*) a autótrofa (*ex vitro*) posee mayor resistencia a la pérdida de agua por excesiva transpiración lo cual se ha informado como una de las principales causas de muerte de plantas en diferentes especies en esta fase (Agramonte *et al.*, 1998). Resultados similares en cuanto a un 100% de supervivencia fueron descritos por Vilchez *et al.* (2007) independientemente de la fuente de materia orgánica utilizada.

Por otra parte, es de destacar que las plantas *in vitro* durante la fase de multiplicación se encontraban en cámaras de crecimiento con luz solar con un fotoperíodo de 13/11h de luz/oscuridad e intensidad luminosa entre 23.2 y 44.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Matos (2007) demostró que la capacidad de las plantas de *A. vera* para resistir la aclimatización dependía del fotoperíodo. En su trabajo refiere que las plantas que se multiplicaron con 12 h de luz, iluminadas con lámparas fluorescentes GroLux presentaron 71% de supervivencia, mientras que aquellas que se multiplicaron con 16 h luz mostraron solo un 50%. Los porcentajes alcanzados en esta investigación (96.1 y 100 %) superaron los informados por dicho autor.

Por el contrario otros resultados en investigaciones realizadas en *A. vera* han mostrado como mejor composición de sustrato: suelo de jardín, compost y arena a una proporción de 1:1:1 (Jayakrishna *et al.*, 2011); pero con este sustrato solamente alcanzaron 75% de supervivencia.

A los 10 días de estar las plántulas en condiciones *ex vitro* se observó un cambio de coloración de verde bosque (#228B22) a madera fornida (#DEB887) que comenzó a evidenciarse en el ápice y luego se extendió a toda la hoja (Figura 4, Panel superior). Esto fenómeno se hizo más evidente en las hojas más viejas. Luego de 30 días las plantas adquirieron su coloración inicial, como se muestra en la figura 4, panel inferior.



Figura 4. Plantas de *Aloe vera* L. en la casa de cultivo durante la fase de aclimatización, panel superior: a los 10 días, panel inferior: a los 30 días de plantadas.

Estos resultados pudieran estar relacionados con las características que presentan las hojas de las plantas obtenidas *in vitro*. Frecuentemente, las plantas se desarrollan en condiciones de alta humedad relativa y moderada intensidad luminosa, por lo que presentan menor cantidad de cera epicutelar o una composición química alterada de esta y la cutícula no está totalmente desarrollada (Ziv y Chen, 2008). Igualmente, en algunas plantas los estomas formados son incapaces de completar el cierre estomático bajo las condiciones *ex vitro*, lo que conlleva a una pérdida excesiva de agua cuando son trasladadas a estas condiciones (George y Debergh, 2008). Sumado a lo anterior, esta especie es del tipo CAM y acumula gran cantidad de ácidos en sus vacuolas. Al enfrentarse entonces a un estrés debido al cambio de condiciones de *in vitro* a *ex vitro*, los ácidos son trasladados a los cloroplastos para transformar la clorofila a feofitina. Pasado los días, las plantas se adaptaron a su nuevo ambiente y cuando se eliminó el estrés regresaron a su coloración inicial. Al mismo

tiempo, pudo influir en esta respuesta las diferencias en la intensidad de la luz que incidían en la cámara de crecimiento *in vitro* y la casa de cultivo *ex vitro*. Las mediciones promedio de la intensidad de la luz en ambos lugares fueron de $33.85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $345 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivamente, con una diferencia de aproximadamente 100 veces mayor *ex vitro*.

Los mejores resultados a los 60 días de aclimatizadas las plantas en la casa de cultivo, se obtuvieron con el sustrato que contenía 100% de compost de cachaza. En el análisis de la variable número de hojas el mayor valor se alcanzó con el sustrato referido anteriormente con diferencias significativas respecto a los demás tratamientos (Tabla 4). Sin embargo, para la variable altura de la planta se encontró que solo en el control que contenía 100% de zeolita se obtuvo el menor valor con diferencias significativas con los tratamientos restantes.

Asimismo, se observó que el tipo de sustrato influyó en el desarrollo de las raíces. El mayor

Tabla 4. Influencia del sustrato en el crecimiento de plantas de *Aloe vera* L. a los 60 días en casa de cultivo durante la fase de aclimatización.

Tratamiento	Número de hojas		Altura (cm)		Número de raíces		Largo de las raíces (cm)	
	Media	RM	Media	RM	Media	RM	Media	RM
100-0	8.38	84.3a	9.02	78.6a	7.69	91.6a	6.15	80.6a
0-100	7.64	67.8b	6.50	39.7b	4.96	60.9b	4.60	70.4a
75-25	7.30	58.3bc	8.46	70.0a	4.76	59.4bc	4.21	63.2ab
50-50	7.26	56.1bc	7.99	61.6a	4.95	60.7b	3.37	49.6b
25-75	6.92	47.2c	7.94	63.9a	3.88	41.1c	3.24	49.2b

Rangos medios con letras desiguales en las columnas difieren según prueba de Kruskal Wallis / Mann Whitney para $p \leq 0.05$. CC- Compost de cachaza Z- zeolita RM - Rango Medio

valor en el número de raíces se obtuvo con el sustrato que contenía 100% de Compost de cachaza, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Sin embargo, en la variable largo de las raíces no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con 100% de Compost de cachaza y 100% de zeolita respecto al sustrato que contenía una combinación de estos de 75:25%.

El sustrato no tuvo influencia sobre el número de brotes emitidos por planta. Para esta variable no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados.

Esta respuesta de las plantas pudiera deberse a que la composición de este sustrato determina una adecuada retención de humedad y componentes químicos para proveer a la planta de agua y nutrientes. Al mismo tiempo ejerce una influencia significativa en la arquitectura del sistema radical influenciando el estado nutricional y la translocación de agua en la planta (Morales *et al.*, 2009).

Dado que entre los factores que mayor influencia tienen en la aclimatización de las plantas *in vitro* se encuentran el tipo y composición del sustrato, se hace necesario prestar especial atención a su selección y uso (Morales *et al.*, 2009). El compost de cachaza puede ser de gran utilidad en la aclimatización de plantas *in vitro* debido a la alta disponibilidad a nivel nacional.

Jiménez-Terry *et al.* (2012) señalaron que no solo el tipo de sustrato beneficia la aclimatización de

las plantas *in vitro*, sino también la procedencia y calidad morfológica de las plantas. Se describe en la literatura científica la importancia de adecuadas dimensiones y buena calidad de las plantas *in vitro* para su desarrollo durante la fase de aclimatización, porque de esto depende la supervivencia, velocidad de crecimiento y producción final en la fase de campo (Díaz *et al.*, 2004). En el presente trabajo con el protocolo de propagación *in vitro* desarrollado por Pérez-Alonso *et al.* (2015) se obtuvieron plantas con adecuadas condiciones fisiológicas y morfológicas para ser trasladadas a condiciones *ex vitro*. Esto contribuyó a los resultados obtenidos en esta fase.

Teniendo en cuenta que la fase de aclimatización culmina el proceso de propagación *in vitro*, se presenta en la figura 5 la integración de los resultados previos (Pérez-Alonso *et al.*, 2015) con los obtenidos en la presente investigación.

Las plantas *in vitro* obtenidas por el protocolo de propagación descrito en la figura 5, mostraron en condiciones de campo un 100% de supervivencia, similar a las plantas obtenidas por métodos tradicionales. La coloración de las hojas fue verde bosque (#228B22) y tuvieron una forma lanceolada sin diferencias respecto a las características mostradas por las plantas desarrolladas a partir de los hijuelos obtenidos por métodos tradicionales. En cuanto a la altura de las hojas no se encontraron diferencias significativas con un valor entre 60 y 70 cm en el momento de la evaluación (60 días). Este aspecto es de gran

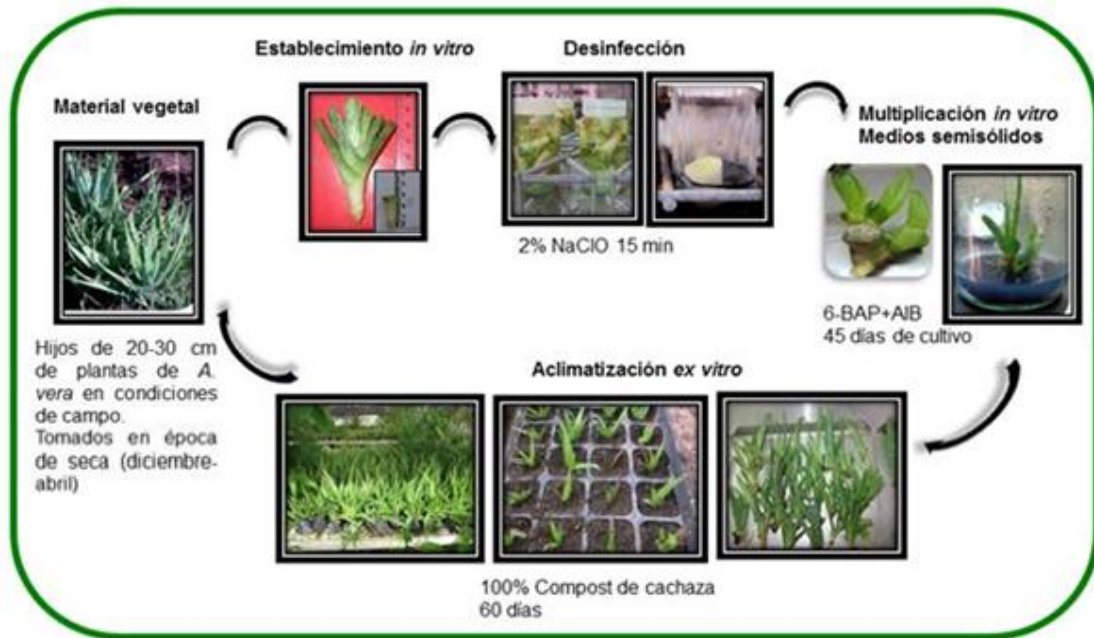


Figura 5. Esquema propuesto de propagación *in vitro* de *Aloe vera* L.



Figura 6. Plantas de *Aloe vera* cultivadas en condiciones de campo. Izquierda: plantas obtenidas *in vitro*. Derecha: plantas obtenidas a partir de hijuelos de plantas adultas cultivadas por métodos tradicionales.

significación si se tiene en cuenta que es el producto que tiene utilidad en las industrias farmacéuticas y de cosméticos. Sin embargo, en cuanto al número de hijuelos el promedio en las plantas *in vitro* cultivadas en campo fue de cinco mientras que las plantas cultivadas por métodos tradicionales fue de 2.7 hijuelos a los 60 días de plantadas (Figura 6).

Hasta la fecha, muy pocos trabajos refieren la respuesta en condiciones de campo de plantas

obtenidas *in vitro*. Das *et al.* (2015) describe la caracterización morfológica y genética en condiciones de campo de plantas *in vitro* de *A. vera* obtenidas a partir de ápices meristemáticos. Los autores refieren la importancia de dicha evaluación en campo para predecir la fidelidad genética de las plantas micropropagadas y muestran el empleo de técnicas moleculares para dicha caracterización. Sin embargo, no plantean la posibilidad de fomentar producciones comerciales.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo corroboran la posibilidad de obtener plantas en condiciones *in vitro* con una calidad que permitan el 100% de aclimatización en un sustrato de compost de cachaza. Luego de 60 días en estas condiciones pueden ser utilizadas para el establecimiento de plantaciones comerciales con iguales características morfológicas a las plantas que le dieron origen y que son cultivadas por métodos tradicionales.

REFERENCIAS

- Agramonte D, Jiménez F, Dita M (1998) Aclimatización. En: Pérez J (ed) Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología, pp. 193-206. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, ISBN: 959-7122-02-2
- Das A, Moquammel SK, Ghosh B, Nandagopal K, Jha TB (2015) Morphological and genetic characterization of micropropagated field grown plants of *Aloe vera* L. Plant Tissue Cult & Biotech 25(2):231-246; doi: 10.3329/ptcb.v25i2.26257
- Das A, Mukherjee P, Jha TB (2010) High frequency micropropagation of *Aloe vera* L. Burm. f. as a low cost option towards commercialization. Plant Tissue Cult & Biotech 20 (1): 29-35; doi: 10.3329/ptcb.v20i1.5962
- Díaz LP, Medina LF, Latife J, Digonzelli PA, Sosa SB (2004) Aclimatización de plantas micropropagadas de caña de azúcar utilizando el humus de lombriz. RIA 33(2):115-128
- George EF, Debergh PC (2008) Micropropagation: Uses and Methods. En: George EF, Hall MA, de Klerk G-J (eds) Plant Propagation by Tissue Culture, pp. 29-64. Springer, Dordrecht, ISBN: 978-1-4020-5005-3
- Grace OM (2011) Current perspectives on the economic botany of the genus *Aloe* L. (*Xanthorrhoeaceae*). S Afr J Bot 77:980-987
- Jasso D, Hernández D, Rodríguez R, Angulo J (2005) Antifungal activity *in vitro* of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. Ind Crop Prod 21(1): 81-87; doi: 10.1016/j.indcrop.2004.01.002
- Jayakrishna C, Karthik C, Barathi S, Kamalanathan D, Arulselvi P (2011) *In vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Miller, a miracle herb. Research in Plant Biology 1(5):22-26
- Jiménez-Terry F, Agramonte D, Ramírez M, Pérez M, La O M, Pons M, Collado R (2012) Uso de humus de lombriz en la formulación de sustratos para la aclimatización de cultivos tropicales. Centro Agrícola 39(3):37-44
- Lee YS, Yang TJ, Park SU, Baek JH, Wu SQ, Lim KB (2011) Induction and proliferation of adventitious roots *Aloe vera* leaf tissues for *in vitro* production of aloe-emodin. POJ 4(4):190-194
- Matos A (2007) Optimización de un protocolo de cultivo *in vitro* de *Aloe vera* L. (zábila). Ciencia 15(3):319-330
- Morales C, Corbera J, Paneque VM, Calaña JM (2009) Efecto del sustrato en la aclimatización del cultivo de anturio (*Anthurium andreaeanum*). Cultivos Tropicales 29(3):75-79
- Ndhkala A, Amoo S, Stafford G, Finnie J, Staden J (2009) Antimicrobial, anti-inflammatory and mutagenic investigation of the South African tree aloe (*Aloe barbadensis*). J Ethnopharm 124(3): 404-408; doi: 10.1016/j.jep.2009.05.037
- Parsaeimehr A, Sargsyan E, Vardanyan A (2011) Expression of secondary metabolites in plants and their useful perspective in animal health. ABAH Bioflux 3 (2):115-124
- Pérez-Alonso N, Capote A, Pérez A, Gómez L, Jiménez E (2015) Establecimiento y multiplicación *in vitro* de brotes de *Aloe vera* L. Biotecnología Vegetal 15(2):85-95
- Rivero R, Rodríguez E, Menéndez R, Fernández J, Del Barrio G, González M (2002) Obtención y caracterización preliminar de un extracto de *Aloe vera* L. con actividad antiviral. Plant Med 7(1):32-38
- Vega A, Ampuero N, Díaz L, Lemus R (2005) El aloe (*Aloe barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. Rev Chil Nutr 32 (3):208-214
- Vilchez J, Ramírez E, Villasmil M, Albany N, León de Sierralta S, Molina M (2007) Aclimatización de vitroplantas de zábila (*Aloe vera* (L.) Burm. f): efectos del sustrato. Rev Fav Agron (LUZ) 24(1):57-61
- Ziv M, Chen J (2008) The Anatomy and Morphology of tissue Cultured Plants. En: George EF, Hall MA, de Klerk G-J (eds) Plant Propagation by Tissue Culture, pp. 465-478. Springer, Dordrecht, ISBN: 978-1-4020-5005-3

Recibido: 18-05-2016

Aceptado: 05-09-2016