

## Efecto del medio de cultivo en la multiplicación *in vitro* de *Aloe barbadensis* Mill

Effect of culture media on the *in vitro* multiplication  
of *Aloe barbadensis* Mill

J. Perez, N. Albany, J. Vilchez, S. Leon de Sierralta y M. Molina

Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, Departamento de  
Química.

### Resumen

La zábila (*Aloe barbadensis* Mill.) se destaca entre las especies del género *Aloe* con mayor importancia para la industria medicinal y cosmetológica. El uso del cultivo *in vitro* para la producción comercial de zábila exige buscar alternativas que permitan disminuir los altos costos. El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto del medio Murashige y Skoog (MS), Nitsch y Nitsch (NN) y Gamborg (B5) en interacción con el corte al explante (transversal y transversal longitudinal-parcial) sobre el número y longitud de brotes y la longitud del explante. Se realizó un arreglo factorial de seis tratamientos con catorce repeticiones (tres explantes/repetición). El análisis estadístico no mostró diferencias por efecto de la interacción de los factores estudiados pero el tipo de corte influyó significativamente en el número de brotes y el medio de cultivo en el número y longitud de los mismos. Los medios MS y NN y el corte transversal incrementaron la formación de brotes.

**Palabras clave:** Zábila, explante, Murashige y Skoog, Nitsch y Nitsch, Gamborg.

### Abstract

*Aloe barbadensis* Mill. stands out among the species of the *Aloe* genera with great importance for the medicinal and cosmetic industry. The use of *in vitro* culture for the commercial production of *Aloe barbadensis* Mill.) requires looking for alternatives that allow to diminish the production costs. The objective of this research was to study the effect of Murashige & Skoog (MS), Nitsch & Nitsch (NN) and Gamborg (B5) media on interaction with the transverse and transverse partial-longitudinal cut to explants on the number and length of

buds and the length reached by the explants. A factorial arrangement was done using six treatments with fourteen repetitions (three explants/replication). The statistical analysis did not show differences as a result of the interaction effect of the studied factors. However, the cut type significantly influenced the number of buds, as well as the culture media influenced the number and length of the buds. Media MS & NN and the transversal cut increased the buds formation.

**Key words:** Aloe, explant, Murashige & Skoog, Nitsch & Nitsch, Gamborg.

## Introducción

Los compuestos extraídos de las hojas de zábila (*Aloe barbadensis* Mill.) poseen propiedades excepcionales que los hacen indispensables en la elaboración de múltiples productos terapéuticos, nutricionales y de belleza (Añez y Vásquez, 2005; Vega *et al.*, 2005; Canevaro, 2004). Por lo que el mercado de estos productos ha mostrado un marcado y sostenido ascenso en los últimos años (Piña-Zambrano, 2005).

Esta alta demanda comercial de zábila que existe hoy en día, ha hecho que el cultivo tradicional de esta planta se haga insuficiente para satisfacer el mercado actual (Matos, 2007). La propagación convencional por separación de hijuelos se considera insuficiente para satisfacer la demanda, debido a la baja tasa de reproducción (Barcroft, *et al.*, 2003), acentuándose el déficit de plantas en el mercado nacional e internacional (Piña-Zambrano, 2004). Razón por la cual, el cultivo de tejidos se ha convertido en una de las alternativas tecnológicas ampliamente utilizada para conseguir una propagación clonal rápida en zábila (Matos *et al.*, 2000).

Se han obtenido exitosos resultados en el cultivo *in vitro* de zábila utilizando el medio Murashige y Skoog (MS)

## Introduction

The compounds extracted from Aloe (*Aloe barbadensis* Mill.) leaves have exceptional properties makes them indispensable on the elaboration of multiple therapeutic, nutritional and beauty products, (Añez and Vásquez, 2005; Vega *et al.*, 2005; Canevaro, 2004). That is why the market of these products have shown a marked and sustained rise the last years (Piña-Zambrano, 2005).

This high commercial requirement of Aloe nowadays evident causes that traditional cultivation of this plant becomes insufficient to satisfy the actual market (Matos, 2007). The conventional propagation or vegetative separation is consider insufficient for satisfying requirement, because the low reproduction (Barcroft, *et al.*, 2003), thereby, plants deficit increases at national and international market (Piña-Zambrano, 2004). Therefore, the tissue culture has become in a technology widely used to obtain a rapid clonal propagation in aloe (Matos *et al.*, 2000).

Successful results have been obtained through *in vitro* culture of aloe by using the Murashige and Skoog (MS) (1962) as basic medium

(1962) como medio básico (Natali *et al.*, 1990; Roy y Sarkar, 1991; Matos *et al.*, 2000; Liao *et al.*, 2004; Albany *et al.*, 2006; Matos, 2007; Mukherjee y RoyChowdhury, 2008), caracterizado por ser muy rico en sales minerales. Sin embargo, *Aloe barbadensis* Mill. se conoce por ser una planta poco exigente en cuanto a condiciones de cultivo *in vitro*, ya que no requiere altas concentraciones de nutrientes en el sustrato para su crecimiento y desarrollo (Van Wyk y Smith, 1996), característica expresada igualmente en condiciones *in vivo* al adaptarse a ecosistemas secos y suelos pobres en nutrientes (Fuentes-Carvajal *et al.*, 2006).

Otros medios utilizados en el cultivo *in vitro* como Gamborg (B5) (1968), Nitsch y Nitsch (NN) (1969) y White (W) (1943), poseen menores concentraciones de sales minerales que el medio propuesto por Murashige y Skoog (1962). Hasta la fecha estos medios de cultivo no han sido evaluados en la propagación *in vitro* de zábila con el propósito de aumentar los coeficientes de multiplicación.

Si bien es cierto que el incremento de los coeficientes de multiplicación está estrechamente relacionado con los componentes de los medios de cultivo, en especial las concentraciones hormonales que han sido ampliamente estudiadas (Mukherjee y RoyChowdhury, 2008; Ujjwala, 2007; Hosseini y Parsa, 2007; Matos, 2007; Albany *et al.*, 2006; Aggarwal y Barna, 2004; Liao *et al.*, 2004; Cura *et al.*, 2004; Matos *et al.*, 2000; Roy y Sakar, 1991; Meyer y Staden, 1991; Natali *et al.*, 1990); la respuesta de los explantes *in vitro* también pudiera estar influenciada por la manipula-

(Natali *et al.*, 1990; Roy and Sarkar, 1991; Matos *et al.*, 2000; Liao *et al.*, 2004; Albany *et al.*, 2006; Matos, 2007; Mukherjee and RoyChowdhury, 2008), characterized by being very rich in mineral salts. However, *Aloe barbadensis* Mill. is known by being a no exigent plant in relation to *in vitro* crop conditions because it does not require high nutrient concentrations in substrate for its growth and development (Van Wyk and Smith, 1996), characteristic equally expressed at *in vivo* conditions when they are adapted to dry ecosystems and to nutrients deficient soils (Fuentes-Carvajal *et al.*, 2006)

Other medium used at *in vitro* culture like Gamborg (B5) (1968), Nitsch and Nitsch (NN) (1969) and White (W) (1943), have inferior mineral salts concentrations than those proposed by Murashige and Skoog (1962). Until date these cultivation medium have not been evaluated at *in vitro* aloe propagation with the purpose of increasing multiplication coefficients.

The increase of multiplication coefficient is related to the components of culture media, especially the hormonal concentrations have been widely studied (Mukherjee and RoyChowdhury, 2008; Ujjwala, 2007; Hosseini and Parsa, 2007; Matos, 2007; Albany *et al.*, 2006; Aggarwal and Barna, 2004; Liao *et al.*, 2004; Cura *et al.*, 2004; Matos *et al.*, 2000; Roy and Sakar, 1991; Meyer and Staden, 1991; Natali *et al.*, 1990); the *in vitro* explants answer also could be influenced by manipulation or sectioning of tissues, essentially by cuts done each sub-crop.

ción o seccionamiento de los tejidos, esencialmente por los cortes realizados en cada subcultivo

Al respecto, Pocasangre (1994) señala que para la multiplicación *in vitro* de plátanos y bananos (*Musa* spp.), debe realizarse un seccionamiento a los explantes con cortes longitudinales por el centro del ápice para dividirlo en dos partes iguales y que ambas contengan tejido meristemático.

Existen precedentes del seccionamiento de los explantes de zábila realizando cortes de tipo transversal y transversal longitudinal-parcial utilizando sólo el medio MS en estado líquido y semisólido (Albany *et al.*, 2006). Sin embargo, no se ha estudiado la respuesta de estos cortes utilizando otros medios de cultivos para la propagación de esta especie.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de los medios de cultivo MS, NN y B5 en interacción con el corte transversal y transversal longitudinal-parcial al explante en la multiplicación *in vitro* de *Aloe barbadensis* Mill.

## Materiales y métodos

Se utilizaron brotes *in vitro* de plantas de *Aloe barbadensis* Mill. provenientes del quinto subcultivo y mantenidas en medio gelificado de Murashige y Skoog (1962) sin reguladores de crecimiento.

Se emplearon frascos de vidrio de 100 mL de capacidad con 20 mL de medio de cultivo, se adicionó 1 mg.L<sup>-1</sup> de N<sup>6</sup>-Benzilaminopurina (6-BAP), ajustó el pH a 5,8 y se esterilizó en autoclave a 121°C durante 20 min.

Pocasangre (1994) reported that for plantain and banana (*Musa* spp.) *in vitro* multiplication a sectioning have to be carried out to the explants with longitudinal clones by the apex center to get divided in two equal parts and both have meristematic tissue.

Sectioning of aloe explants is already known through transversal and transversal longitudinal-partial cuts by only using MS medium in liquid and semi-solid status (Albany *et al.*, 2006). Nevertheless, the response of these cuts by using other cultivation medium to propagate this specie has not being studied.

The purpose of this research was to evaluate the effect of cultivation medium MS, NN and B5 on interaction to the transversal and transversal longitudinal-partial cuts to the explant in *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill.

## Materials and methods

*In vitro* buds of *Aloe barbadensis* Mill. plants were used taken from the fifth sub-crop and they were kept in gel medium of Murashige and Skoog (1962) without growth regulators.

Glass bottles of 100 mL were used with 20 mL of cultivation medium, 1 mg.L<sup>-1</sup> of N<sup>6</sup>-Benzilaminopurina (6-BAP) was added, pH was adjusted to 5.8 and it was sterilized in autoclave to 121°C during 20 min.

The effect of Murashige and Skoog (1962), Nitsch and Nitsch (1969) and Gamborg (1968) cultivation medium was evaluated with interaction of transversal or

El efecto de los medios de cultivo Murashige y Skoog (1962), Nitsch y Nitsch (1969) y Gamborg (1968) fue evaluado en interacción con el corte transversal o transversal longitudinal-parcial al explante, generando un total de seis tratamientos descritos en el cuadro 1. A cada tratamiento se le asignó 14 repeticiones, cada una de ellas estuvo constituida por tres explantes en un mismo frasco de cultivo.

Los explantes fueron disectados aseptícamente según el tipo de corte a evaluar. El corte transversal se realizó decapitando el explante a un centímetro de altura desde la base hacia la zona distal de la hoja más larga; lo mismo se hizo con el corte transversal longitudinal-parcial, pero a éste se le adicionó un corte longitudinal desde la zona apical hacia la zona basal,

transversal longitudinal-parcial cut to the explant, generating a total of six treatments described in table 1. 14 replications were done to each treatment, being formed by three explants each on the same cultivation bottle.

Explants were aseptically dissected according to the cut type to be evaluated. The transversal cut was done by decapitating explant one cm height from base to distal area of longer leaf; the same was done with the transversal longitudinal-parcial cut, but a longitudinal cut was added from apical region to the basal area, this cut only took three quarter of decapitated explant height.

Explants were placed on cultivation medium previously described and they were kept at  $26\pm 1^{\circ}\text{C}$  in continuous lighting with an

**Cuadro 1. Descripción de los tratamientos para la evaluación del efecto del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS), Nitsch y Nitsch (NN) y Gamborg (B5) en interacción con el tipo de corte transversal (T) y transversal longitudinal-parcial (LP) realizado al explante durante la multiplicación *in vitro* de *Aloe barbadensis* Mill.**

**Table 1. Treatments description for evaluating the effect of Murashige and Skoog (MS), Nitsch and Nitsch (NN) and Gamborg (B5) cultivation medium on interaction to the transversal (T) and transversal longitudinal-parcial (LP) cut types done to the explant during *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill.**

Tratamientos	Medios de cultivo	Corte al explante
1	MS	T
2	MS	LP
3	NN	T
4	NN	LP
5	B5	T
6	B5	LP

éste corte abarcó sólo las tres cuartas partes de la altura del explante decapitado.

Los explantes se colocaron en los medios de cultivo anteriormente señalados y se mantuvieron a  $26\pm 1^\circ\text{C}$  en iluminación continua con una intensidad de  $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  provista por lámparas de luz blanca fluorescente.

Transcurridos 45 días de cultivo, se evaluaron las siguientes variables: 1. Longitud del explante sembrado: distancia en centímetros desde la base del explante hasta el extremo distal de la hoja más larga. 2. Número de brotes: brotes de cada explante que alcanzaron una longitud superior a 0,5 cm. 3. Longitud de los brotes producidos por cada explante: medido desde la zona basal del brote hasta la zona distal de la hoja más larga.

Se realizó el análisis de la varianza y se compararon las medias mediante la prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), sólo en los casos donde se encontraron diferencias significativas; utilizando el paquete estadístico Statistix 8 (2003) versión 8.0 para ambiente Windows®.

## Resultados y discusión

El análisis estadístico no detectó efecto significativo por la interacción de los medios de cultivo con el tipo de corte al explante, en las variables estudiadas. Sin embargo, el efecto independiente de los medios de cultivos determinó diferencias para el número y longitud de los brotes; mientras que el tipo de corte sólo afectó el número de brotes.

En el cuadro 2 se muestran los

intensidad de  $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  supplied by white and fluorescent light.

After 45 cultivation days, the following variables were evaluated: 1. Length of sowed explant: distance in cm from explant base to the distal extreme of longer leaf. 2. Number of buds: buds of each explant reaching a superior length to 0.5 cm. 3. Length of buds produced by each explant: measured from basal region of bud to the distal area of longer leaf.

The analysis of variance and means were compared by Tukey test ( $P<0.05$ ). only in those cases where significant differences were found by using Statistix 8 (2003) version 8.0 Windows®.

## Results and discussion

The statistical analysis detected significant effect by the interaction of cultivation medium with type cut done to the explant, in variables studied. Nevertheless, the independent effect of cultivation medium determined differences for the number and length of buds; whereas the cut type only affected the buds number.

The results obtained for the buds number are shown in table 2, with significant differences for the B5 medium, respect to the NN and MS medium. This response could be related to the decrease of mineral salts or the variation in composition of B5 cultivation medium in comparison to MS and NN medium, especially in absence of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . However, the sources of nitrate, ion ammonium and

**Cuadro 2. Efecto de los medios de cultivo Murashige y Skoog (MS), Nitsch y Nitsch (NN) y Gamborg (B5) sobre el número y longitud de los brotes de *Aloe barbadensis* Mill. en fase de multiplicación.**

**Table 2. Effect of Murashige and Skoog (MS), Nitsch and Nitsch (NN) and Gamborg (B5) cultivation medium on number and length of *Aloe barbadensis* Mill buds. in propagation phase.**

Medios de cultivo	Número de brotes	Longitud de los brotes
MS	3,46 <sup>a</sup>	2,50 <sup>a</sup>
NN	3,18 <sup>a</sup>	1,41 <sup>b</sup>
B5	2,04 <sup>b</sup>	1,09 <sup>b</sup>

Valores con subíndice de letras distintas difieren estadísticamente para la prueba de mínima diferencia significativa de *Tukey* ( $P \leq 0,05$ ).

resultados obtenidos para el número de brotes, observándose diferencias significativas para el medio B5, con respecto a los medios NN y MS. Esta respuesta puede estar relacionada con la disminución de sales minerales o la variación en la composición del medio de cultivo B5 en comparación con los medios MS y NN, especialmente en la ausencia de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Sin embargo, las fuentes de nitrato, ión amonio y fosfato en el medio B5 son proporcionadas por otros compuestos como  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  y  $\text{KNO}_3$ .

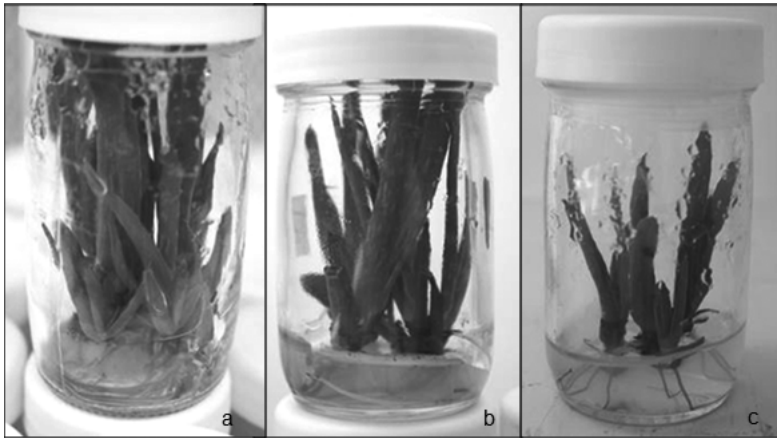
En la figura 1 se observa la apariencia de los brotes obtenidos en cada uno de los medios. La respuesta producida con el medio de cultivo B5 para el número de brotes pudiera ser consecuencia de la menor concentración de nitrato y distinta fuente en el medio de cultivo. Cabe destacar que el nitrato representa una de las formas más asimilables de nitrógeno por parte de la planta, que promueve la for-

phosphate in B5 medium are supplied by other compounds like  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  and  $\text{KNO}_3$ .

The buds appearance obtained each medium is observed in figure 1. The response produced with B5 cultivation medium for the buds number could be considered as a consequence of the lower nitrate concentration and different source on cultivation medium. It is possible to detach that nitrate represent one of the more assimilable nitrogen ways by the plant, it promotes formation of leaves and new buds. Barwale *et al.* (1986) establish that nitrogen deficiencies cause a low number of buds by explant, with thin stems and little leaves. Meanwhile, Fuentes-Carvajal *et al.* (2006) studied N, P and K deficiencies in *Aloe* hydroponic crop, where some limitations were observed in vegetative development of plants, especially in floral dimensions, radical length, dry biomass of aerial part and root.

Likewise, the absence of FE-





**Figura 1. Brotes *in vitro* de *Aloe barbadensis* Mill. obtenidos al cabo de 45 días en los medios de cultivo. a) Murashige y Skoog (1962), b) Nitsch y Nitsch (1969), c) Gamborg (1968).**

**Figure 1. *In vitro* buds of *Aloe barbadensis* Mill. obtained 45 days after in a) Murashige and Skoog (1962), b) Nitsch and Nitsch (1969), c) Gamborg (1968) cultivation medium.**

mación de hojas y nuevos brotes. En este sentido, Barwale *et al.* (1986) señalan que las deficiencias de nitrógeno originan un número bajo de brotes por explante, con tallos finos y cortos con hojas pequeñas. Mientras que Fuentes-Carvajal *et al.* (2006) estudiaron la deficiencia N, P y K en el cultivo hidropónico de zábila, evidenciándose ciertas limitaciones en el desarrollo vegetativo de las plantas, especialmente en las dimensiones foliares, longitud radical, biomasa seca de la parte aérea y de la raíz.

Asimismo, la ausencia de complejos FE-EDTA en el medio de cultivo B5, disminuye la actividad enzimática en el transporte de electrones e inactiva la síntesis de proteínas, procesos clave para el desarrollo de las plantas (Mateo-Sagasta, 1988; Bonilla, 2000). Estas alteraciones en los procesos fisiológicos pudieran afec-

EDTA complexes in B5 medium decrease the enzymatic activity in electron transport and makes inactive the protein synthesis, key processes for plants development (Mateo-Sagasta, 1988; Bonilla, 2000). These alterations in physiological processes could affect the buds development of *A. barbadensis*.

Michelangeli *et al.* (2002) evaluated MS, NN and B5 medium in different salts concentrations to form embryogenic callus in *Bixa orellana* L.; the best results were obtained in those treatments where MS was used in different concentrations.

The use of B5 medium has been generalized at callus induction phase as reported by Hall and Camper (2002) in medicinal woody plants (*Hydrastis canadensis*) and by Li and Liu (2005) in *Camptotheca acuminata*.

The similarity between



tar el desarrollo de los brotes de *A. barbadensis*.

Michelangeli *et al.* (2002) evaluaron los medios MS, NN y B5 en diferentes concentraciones de sales para la formación de callos embriogénicos en *Bixa orellana* L., obteniendo mejores resultados en los tratamientos donde se utilizó MS en sus distintas concentraciones.

El uso del medio B5 se ha generalizado en la fase de inducción de callo; siendo reportado por Hall y Camper (2002) en plantas leñosas medicinales (*Hydrastis canadensis*) y por Li y Liu (2005) en *Camptotheca acuminata*.

La similitud entre los componentes de los medios NN y MS probablemente originó la misma respuesta de los explantes de *A. barbadensis* para el número de brotes. Sin embargo, en su mayoría las concentraciones de los macronutrientes del medio NN son inferiores a las del MS, pero superiores a las del medio B5.

La variable longitud de los brotes (cuadro 2) mostró diferencias significativas por efecto del medio de cultivo, proporcionando el medio de cultivo MS mayor crecimiento a los brotes. Esta respuesta puede estar relacionada con la mayor concentración de sales inorgánicas en comparación con los medios NN y B5, donde la fuente de nitrógeno está en bajas concentraciones o diferentes presentaciones. La deficiencia del nitrógeno conduce a un desarrollo lento de la planta, afectando la elongación de los tejidos y la producción de órganos (Aular y Rojas, 1994).

Resultados similares en Aloe fueron señalados por Meyer y Van Staden (1991), Cura *et al.* (2004),

components of NN and MS medium probably caused the same response of *A. barbadensis* buds for buds number. Nevertheless, the most of concentrations of NN medium macronutrients are inferior to MS medium, but superior to those of B5.

The variable buds length (table 2) showed significant differences due to the effect of cultivation medium, the MS cultivation medium offered higher growth to the buds. This response could be related to the higher concentration of inorganic salts in comparison to NN and B5 medium, where nitrogen is present in low concentrations or different presentations. The nitrogen deficiency takes to a plant slow development, also affecting the tissues elongation and organs production (Aular and Rojas, 1994).

Similar results in Aloe were reported by Meyer and Van Staden (1991), Cura *et al.* (2004), Vilchez *et al.* (2007) and Arumon and Roychowdhury (2008) who obtained higher number or length of buds by using the MS cultivation medium with different hormonal concentrations.

There were significant differences for the number of buds between the transversal cut and the transversal longitudinal-partial cut; a high number of buds by explant were obtained with the transversal cut (table 3). This response could be related to a low phenolic oxidation in the explants when using transversal cut; Pérez *et al.* (1998) expressed that when cuts to the tissues increases, there is a high possibility to segregate phenols, causing damages to the explants.

Vilchez *et al.* (2007) y Arumon y Roychowdhury (2008) quienes lograron mayor número o longitud de brotes utilizando el medio de cultivo MS con diferentes concentraciones hormonales.

Para el número de brotes se observaron diferencias significativas entre el corte transversal y el corte transversal longitudinal-parcial, se obtuvo un mayor número de brotes por explante con el corte transversal (cuadro 3). Esta respuesta pudiera estar relacionada con una menor oxidación fenólica en los explantes al usar el corte transversal; ya que Pérez *et al.* (1998) señaló que a medida que se incrementan los cortes a los tejidos, existe una mayor posibilidad de segregar fenoles, ocasionando deterioros a los explantes.

Marulanda e Isaza (2004), observaron un declive en la actividad del tejido meristemático como consecuencia del daño al explante debido a los cortes, disminuyendo la regeneración celular, el crecimiento y desarrollo de la planta. Sin embargo, para incrementar el número de brotes en cada

Marulanda and Isaza (2004), observed a decrease in the activity of meristematic tissue as a consequence of damage to the explant because the cuts, decreasing this way cell regeneration, growth and development of plant. However, to increase number of buds each subcrop during multiplication phase of plantain and banana. Pocasangre (1994) suggest a longitudinal cut to divide explant in two sections, both with meristematic tissue.

During *in vitro* multiplication of Aloe, Albany *et al.* (2006) evaluated the same cuts studied in this research with physical state of cultivation medium (liquid and gelified) and they determined that only the liquid cultivation medium favored the vitroplant height without apparent increase on buds number.

Results obtained in this research permit to infer that conditions of cultivation medium and the explant management during the Aloe multiplication phase takes influence on tissue regenerative capacity obtain a high buds number;

**Cuadro 3. Efecto del corte transversal y transversal longitudinal-parcial al explante sobre el número de brotes de *Aloe barbadensis* Mill. en fase de multiplicación.**

**Table 3. Effect of transversal and transversal longitudinal-partial cut to the explant on buds number of *Aloe barbadensis* Mill. in propagation phase.**

Corte al explante	Número de brotes
Transversal	3,19 <sup>a</sup>
Transversal longitudinal-parcial	2,59 <sup>b</sup>

Valores con subíndice de letras distintas difieren estadísticamente para la prueba de mínima diferencia significativa de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

subcultivo durante la fase de multiplicación de plátano y banano Pocasangre (1994) recomienda un corte longitudinal para dividir el explante en dos secciones, ambos con tejido meristemático.

En la fase de multiplicación *in vitro* de zábila Albany *et al.* (2006) evaluaron los mismos cortes estudiados en esta investigación en interacción con el estado físico del medio de cultivo (líquido y gelificado) y determinaron que sólo el medio de cultivo líquido favoreció la altura de la vitroplanta sin aparente incremento en el número de brotes.

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten inferir que las condiciones del medio de cultivo y el manejo realizado al explante durante la fase de multiplicación de zábila influyen en la capacidad regenerativa del tejido para obtener un mayor número de brotes; lo que garantizaría un aumento de la productividad y eficiencia de la fase de multiplicación para la propagación *in vitro* de zábila.

## Conclusiones

El medio de cultivo de Murashige y Skoog en la fase de multiplicación permitió incrementar el número y la longitud de los brotes de *Aloe barbadensis* Mill.

El corte transversal realizado al explante como manejo en la fase de multiplicación de *Aloe barbadensis* Mill., originó un incremento en el número de brotes obtenidos.

## Literatura citada

Aggarwal D. y K.S. Barna. 2004. Tissue

that would guarantee an increase of productivity and efficiency of multiplication phase for *Aloe in vitro* propagation.

## Conclusions

The Murashige and Skoog medium in multiplication phase permitted to increase number and length of *Aloe barbadensis* Mill buds.

The transversal cut done to the explant as a management in multiplication phase of *Aloe barbadensis* Mill., caused an increase on number of buds obtained.

*End of english version*

---

---

culture propagation of elite plant of *Aloe vera* Linn. J. Plant Biochemistry and Biotechnology 13:77-79.

Albany, N., J. Vílchez., S. León de Sierralta, M. Molina y P. Chacín. 2006. Una metodología para la propagación *in vitro* de *Aloe vera* L. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 23: 213-222.

Añez, B. y J. Vásquez. 2005. Efecto de la densidad de población sobre el crecimiento y rendimiento de la zábila (*Aloe barbadensis* M.). Rev. Fac. Agron. (LUZ) 22:1-12.

Arumon, M. y B. Roychowdhury. 2008. The *in vitro* propagation of *Aloe vera* sp. TIG Research Journal 1(2): 116-118.

Aular, J. y E. Rojas. 1994. Influencia del nitrógeno sobre el crecimiento y producción de parchita *Passiflora edulis* Sims. F. Flavicarpa Degener. Agronomía Tropical. 44(1): 121-134.

Barcroft, A., Myskia, A. y Reynolds, T. 2003. Nature's Silent Healer. BAAM Publishing Ltd. London 344p.

- Barwale, U., H. Kerns y M. Widholm. 1986. Plant regeneration from callus culture of several soybean genotypes via embryogenesis and organogenesis. *Planta*. 167:473-481
- Bonilla, I. 2000. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. p. 83-97. En: Azcón-Bieto. J. y C. M. Talón (Eds.). *Fundamentos de Biología Vegetal*. 1<sup>era</sup> Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Barcelona, España. 522 p.
- Canevaro, S. 2004. *Aloe Vera*. 1<sup>era</sup> Edición. Madrid, España. Editorial Tikal. 93 p.
- Cura, A., Y. Hebe y L. Mroginski, 2004. Cultivo *in vitro* de tejidos para la regeneración de plantas de *Aloe vera* L. (Liliaceae). *Rev. Univ. Nordeste*. 26:167-171.
- Fuentes-Carvajal, A., J. Véliz y J. Imery. 2006. Efecto de la deficiencia de micronutrientes en el desarrollo vegetativo de *Aloe vera*. *INTERCIENCIA*. 31(2):116-122.
- Gamborg, O. 1968. Plants Tissue culture Biotechnology. In his *Milestones «in vitro» cellular and Developmental Biology – Plants* Cambridge. p. 84-92.
- Hall, K. y N. Camper. 2002. Tissue culture of goldenseal (*Hydrastis canadensis* L.) *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 38: 293–295.
- Hosseini R. y M. Parsa. 2007. Micropropagation of *Aloe vera* L. grown in South Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10:1134-1137.
- Li, Z. y Z. Liu. 2005. Plant regeneration from leaf petioles in *Camptotheca acuminata*. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 41: 262–265.
- Liao Z., M. Chen, F. Tan, X. Sun y K. Tang. 2004. Micropropagation of endangered Chinese *Aloe*. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* 76: 83-86.
- Marulanda, M. y L. Isaza. 2004. Establecimiento *in vitro* de heliconias con fines de producción masiva. *Scientia et Technica* 26:193-197. UTP. ISSN 0122-1701.
- Mateo-Sagasta L. 1988. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 325 p.
- Matos, A. 2007. Optimización de un protocolo de cultivo *in vitro* de *Aloe vera* L. (Zábila). *Ciencia* 15(3): 319-330.
- Matos, A., 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.
- Meyer, H. y J. Van Staden. 1991. Rapid *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 26:167-171.
- Michelangeli, C., P. Artioli y A. Medina. 2002. Embriogénesis somática en ONOTO. *Agronomía Tropical* 52(4): 523-541.
- Mukherjee A. y B. RoyChowdhury. 2008. The *in vitro* propagation of *Aloe vera* sp. *TIG Research Journal* 1(2):116-119.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
- Natali, L., I. Castorena y A. Cavallini. 1990. *In vitro* culture of *Aloe barbadiensis* Mill.: Micropropagation from vegetative meristems. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 20: 71-74.
- Nitsch, J. y C. Nitsch. 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science* 163: 85-87.
- Pérez, J., P. Orellana, M. Suárez y C. Valdés. 1998. Propagación masiva en Biofábricas. p. 241-258. En: Pérez, J. (Ed.). *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Ediciones GEO. Santa Clara, Cuba. 404 p.

- Piña-Zambrano H. 2005. Perfil preliminar del mercado de zábila (*Aloe barbadensis* Mill.) en el estado Falcón, Venezuela. *Bioagro* 17:85-92.
- Piña-Zambrano, H. 2004. El conglomerado zábila (*Aloe vera*) en el estado Falcón, Venezuela. Cuadernos de desarrollo rural 53: 37-57.
- Pocasangre, L. 1994. Manual sobre propagación de Banano y Plátano. Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA). San Pedro y Sula, Honduras. 51p.
- Roy, S. y A. Sarkar. 1991. *In vitro* regeneration and micropropagation of *Aloe vera* L. *Scientia Horticulturae* 47: 107-113.
- Statistix, 8. 2003. Statistix 8: Analytical Software User's Manual. Tallahassee, Florida, U.S.A.
- Ujjwala J. 2007. *In vitro* regeneration of *Aloe barbadensis*. *Biotechnology* 6:601-603.
- Van Wyk, B. y G. Smith. 1996. Guide to the aloes of South Africa. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 25: 391-393.
- Vega A., N. Ampuero, L. Díaz y R. Lemus. 2005. El aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. *Revista Chilena de Nutrición* 32:208-214.
- Vilchez, J., O. Ferrer y N. Albany. 2007. Multiplicación *in vitro* de zábila en sistema de inmersión temporal. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 24 Supl. 1: 78-82.
- White, P. 1943. A handbook of plant tissue culture. Lancaster: Jacques Cattell. 277p.