



BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

CALIDAD Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE FRESA (FRAGARIA X ANANASSA DUCH) CULTIVAR CHANDLER EN DOS LOCALIDADES DEL ESTADO LARA María Pérez de Camacaro, Maritza Ojeda, Norca Mogollón y Aracelis Giménez.....	6
NOVITATES AGROSTOLOGICAE, V. GENERIC MERGERS IN THE TRIBE OLYREAE (INGLÉS) José Grande.....	19
BIODEGRADACIÓN AERÓBICA DE EFLUENTES DEL PROCESAMIENTO DE PESCADO EN REACTORES POR CARGA Julio César Marín, Abraham Velásquez, Carlos Chinga, Ever Vizueta y Robert Mero	44
Revisión AVANCES EN LAS INVESTIGACIONES GENÉTICAS DE ALOE VERA (L.) BURM.F. Tamara Molero y Maribel Viloria.....	63
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.....	82

Vol.50, Nº 1, Abril 2016

UNA REVISTA INTERNACIONAL DE BIOLOGÍA
PUBLICADA POR LA
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA



Avances en las investigaciones genéticas de *Aloe vera* (L.) Burm.f.

Tamara Molero y Maribel Viloria

Departamento de Biología. Facultad de Humanidades y Educación. Universidad del Zulia.
Maracaibo, Venezuela
taymarajo@gmail.com

Resumen

El reconocimiento de las propiedades medicinales y terapéuticas de las plantas de sábila (*Aloe vera* L.) ha hecho que la industria aumente su interés por mejorar el cultivo y su rendimiento, para lo cual se hace necesario conocer los progresos en los métodos y técnicas de investigación genética logrados hasta ahora en la especie. Para ello, se realizó una revisión bibliográfica-documental en la cual se recolectó, clasificó y categorizó toda la información referida a *Aloe vera* en los últimos 15 años. Las categorías básicas fueron avances en las investigaciones genéticas: tradicionales y modernas. Estas categorías fueron divididas en subcategorías: estudios cromosómicos, cruzamientos y mutagénesis para la categoría de los avances en las investigaciones genéticas tradicionales y clonación de genes, transgénesis, bandeo cromosómico, citogenética molecular y diversidad genética por estudios moleculares para la categoría de los avances de las investigaciones genéticas modernas. Finalmente, se discute la potencialidad de estos resultados en futuros proyectos de investigaciones genéticas.

Palabras clave: *Aloe vera*; mejoramiento genético; genes; cromosomas.

Genetics investigation advances in *Aloe vera* (L.) Burm.f.

Abstract

Recognition of medicinal and therapeutic properties of *Aloe* plants (*Aloe vera* L.) has made that the industry increase its interest on improving this crop and its performance, for which it has been necessary to know about the progress on methods and techniques for genetic investigations made so far in this species. Approaching that goal, a bibliographic and documentary research was done, in which was collected, classified and categorized all the related information about this species over the last 15 years. Basic categories were advances on: traditional and modern genetic research. These categories were divided into subcategories: chromosome studies, crosses and mutagenesis under the category of advances on traditional genetic research and gene cloning, transgenes, chromosome banding, molecular cytogenetic and genetic diversity by molecular studies for the category of advances on modern genetic research. Finally, the potential of these results in future genetic improvement projects is discussed.

Key words: *Aloe vera*; breeding; genes; chromosomes.

Introducción

Las investigaciones de la estructura genética de las especies vegetales tiene importancia taxonómica, funcional y adaptativa, debido a que el complemento cromosómico forma parte de un sistema dinámico moldeado por procesos evolutivos; por lo tanto los cambios en un determinado grupo de genes o cromosomas y la adopción de un cariotipo específico no es un proceso fortuito sino que se presenta en función a la respuesta de las plantas a factores ambientales. De allí la importancia de estos estudios en la caracterización genética de las especies y para programas y proyectos de mejoramiento genético (Poggio y Naranjo 1990).

El mejoramiento genético de plantas es una de las hazañas más antiguas del hombre, iniciándose con la adaptación bajo condiciones controladas y la selección de aquellas variedades capaces de proporcionar beneficios y una mejor fuente de alimentos. Lo anteriormente dicho marcó una de las fases más importantes en el progreso de la humanidad, al permitirle transitar de una vida nómada e individualista a una sociedad organizada y cooperativista. El mejoramiento de las plantas fue inicialmente un proceso empírico, fortuito y lento que permaneció como un arte y no como una ciencia hasta principios del siglo XX (Cubero 2003).

Los procesos que emplean los fitomejoradores han permitido crear un sinnúmero de variedades de plantas con el objeto de incrementar su producción, resistencia a plagas y enfermedades y la adaptación a ambientes específicos, regiones y usos, mediante la selección de variedades o el cruce entre ellas.

Las principales vías a través de las cuales se han originado y adaptado las especies cultivadas son las combinaciones de genes por medio de las hibridaciones y mutaciones, ocurridas de forma natural o artificial. Algunas de las nuevas variantes originadas tuvieron ventajas pero otras no; de tal manera que las más pobremente adaptadas al ambiente fueron eliminadas y solo se conservaron estirpes con características genéticas diferentes que garantizaran mejor producción (Camarena *et al.* 2014).

Sin embargo, obtener plantas mejoradas por estos medios convencionales resulta difícil por el tiempo requerido y por el trabajo laborioso, sin garantía de resultados positivos. Por esta razón, el hombre ha recurrido a la invención y aplicación de técnicas menos fortuitas que le permitan obtener resultados en un menor tiempo y de forma más segura a través de métodos biotecnológicos para producir variantes más útiles. Hoy, el mundo se encuentra en la era de la Biotecnología Vegetal y de la Ingeniería Genética, donde se emplean técnicas como el cultivo *in vitro*, selección celular, variación somaclonal, mutaciones inducidas, transgénesis, entre otras (Camarena *et al.* 2014).

De acuerdo a esto, los principales objetivos de estudio de la genética clásica se basan en la determinación de las características del cariotipo y la identificación cromosómica mediante técnicas de tinción convencionales y bandeo cromosómico. También, se evalúa el tamaño del genoma y se analiza el comportamiento meiótico de los cromosomas en razas, especies, híbridos y poliploides.

Por su lado, las técnicas de genética molecular o moderna, combinan información citológica clásica con información molecular de las secuencias de ADN y permiten realizar estudios de mapeo y de distribución física de secuencias de los ácidos nucleicos, analizar relaciones evolutivas entre especies y estudiar la organización del genoma y la arquitectura de estas moléculas portadoras de la información genética. Los resultados que se obtienen mediante la aplicación de estas técnicas facilitan estudios de sistemática, filogenia, biodiversidad, evolución, mejoramiento y biotecnología (Poggio *et al.* 2010).

Cubero (2003) indica que en el campo de las investigaciones genéticas existen varios métodos clasificados en dos áreas: tradicional y moderno. Dentro de los métodos tradicionales se encuentran la selección, cruzamientos y algunos tipos de mutaciones inducidas (mutagénesis), mientras que en el área de las investigaciones genéticas modernas se engloban otros métodos de mutagénesis, así como las nuevas técnicas de ingeniería genética, donde se destaca la transformación o transgénesis.

Muchas especies de plantas cultivadas que abastecen la alimentación mundial han sido sometidas a pruebas de mejoramiento genético con métodos convencionales y modernos, pero las plantas medicinales, de donde se obtienen productos primarios y derivados para la fabricación de medicamentos y fármacos, han sido objeto especial de estudio a fin de lograr mejor rendimiento y calidad de sus productos (Oliveira *et al.* 2007).

Dentro de este grupo de plantas se destaca a *Aloe vera* L. (= *Aloe barbadensis* Miller= sábila), especie de suma importancia por ser una de las pocas que se cultiva en las regiones áridas y semiáridas del mundo y de la cual se extraen productos, no solo para la industria farmacéutica, sino también para la industria manufacturera, cosmetológica y alimenticia (Bozziet *al.* 2007). Por ello, en los últimos años las investigaciones en las especies de *Aloe* se han incrementado notoriamente (Bozziet *al.* 2007) y se pueden encontrar, en la literatura escrita y digital, artículos científicos y de divulgación pública que informan de los beneficios de esta planta para la salud humana y los métodos y técnicas para mejorar su rentabilidad y rendimiento.

De los métodos de investigaciones genéticas nombrados anteriormente, solo algunos de ellos pueden aplicarse en plantas de reproducción asexual, como es el caso de la sábila. Es importante aclarar, que aunque la reproducción de esta planta ha sido descrita como sexual (alógama), su propagación por esta vía es extremadamente escasa, por lo que su multiplicación se hace por separación de brotes o hijos. Una evidencia de ello, son los estudios realizados por Imery y Cequea 2002 e Imery 2007, quienes revelaron que aún después de la floración de miles de plantas visitadas por numerosos vectores, tales como colibríes, abejas, avispa y mariposas, no hay formación de frutos.

Para emprender un programa de mejoramiento genético y/o comprender la estructura genética de una especie vegetal de interés agrícola, es necesario conocer los progresos en las técnicas de fitomejoramiento y los adelantos en las investigaciones genéticas en esa especie. Por ello, en esta investigación se pretende realizar un inventario bibliográfico-documental sobre los avances de las investigaciones genéticas en *A. vera* durante los últimos quince años.

Materiales y métodos

Tomando en cuenta la clasificación de Hernández *et al.* (2010), esta investigación es de tipo documental, y dentro de ellas se ubica en los análisis documentales de contenido, definida como una operación intelectual que da lugar a un subproducto o documento secundario el cual actúa como intermediario o instrumento de búsqueda obligado entre el documento original y el usuario que solicita información. La creación de este subproducto implica la integración, organización y evaluación de la información teórica y empírica existente sobre un problema, focalizando el progreso de la investigación actual. Castillo (2005) lo define como un proceso analítico-sintético, en la cual la información referida a un tema es es-

tudiada, interpretada y sintetizada minuciosamente para dar lugar a un nuevo documento que lo representa de modo abreviado pero preciso, caracterizado por contener una información concentrada de los documentos originales que pueden ser consultados con facilidad ofreciendo las primeras noticias de la existencia de aquellos sin interpretación ni crítica de ellos.

Para realizar esta investigación se emplearon bases de datos documentales impresos y electrónicos donde se recolectó, clasificó, analizó y resumió el contenido de artículos científicos, tesis de grado, memorias de eventos y libros referidos a la especie *Aloe vera* L. (= *Aloe barbadensis* Mill.) de los últimos 15 años, donde se incluye los resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo.

Toda la información fue clasificada y categorizada en dos áreas básicas: material bibliográfico referido a los avances en las investigaciones genéticas tradicionales y los avances en las investigaciones genéticas modernas. A su vez, estas categorías fueron divididas en subcategorías: para la primera categoría se establecieron las siguientes subcategorías: estudios cromosómicos, cruzamientos y mutagénesis y para la segunda se propusieron como subcategorías: clonación de genes, transgénesis, citogenética molecular y diversidad genética por estudios moleculares.

Con el fin de obtener un resultado más significativo de este estudio documental, se consideró la redacción de una sección donde se analiza la potencialidad y alcances de estos hallazgos para la explotación agrícola de este rubro.

Resultados y discusión

El análisis documental realizado demostraron que las investigaciones genéticas clásicas sobre *Aloe vera* (L.) Burm.f. proporcionan diferentes tipos de informaciones sobre el complejo cromosómico de la planta en comparación con las investigaciones genéticas modernas, pero ambas contribuyen a aportar conocimientos taxonómicos, evolutivos y de genómica estructural y funcional, aplicables en procesos de mejoramiento genético convencionales o biotecnológicos.

1) Avances en las investigaciones genéticas tradicionales

1.1) Estudios cromosómicos

Los estudios citogenéticos realizados en *A. vera* indican que el número básico de esta especie es de $x=7$ cromosomas, distribuido en cuatro cromosomas acrocéntricos grandes (L1-L4) y tres cromosomas submetacéntricos pequeños (S1-S3) (Adams et al. 2000b, Ji et al. 2002, Zheng et al. 2005).

Investigaciones recientes en poblaciones de *A. vera* revelaron que el cariotipo de las plantas diploides estaba formado por cuatro pares de cromosomas largos subtelocéntricos y 3 pares submetacéntricos (Molero y Matos 2008, Gunjan y Roy 2010, Chaudhari y Chaudhary 2012, Gupta y Sahu 2014).

La longitud cromosómica varió según las poblaciones y especies en estudio, lo que ha dado motivo a realizar estudios de diversidad genética y profundizar en las mediciones cariomorfométricas que permitan conocer los recursos fitogenéticos disponibles dentro del género *Aloe*. Por ello, en la literatura científica se encuentran estudios cariomorfométricos en plantas de *A. vera* tanto del oriente del planeta (Gunjan y Roy 2010, Fentawet *et al.* 2013, Kumar y Kumar 2014, Jahan *et al.* 2014), como del occidente (Cortina 2009, Albornoz e Imery 2003, Imery y Caldera 2002) que representan las condiciones agroclimáticas donde prospera esta especie.

Ren *et al.* (2007) señalan que este grupo vegetal es un modelo de estabilidad cariológica, en función de la similitud en el número y la morfología de sus cromosomas mitóticos y Vosa (2005) comenta que la estabilidad climática y la similitud de hábitat donde vive la mayor parte de las especies del género *Aloe*, pueden haber sido muy importantes en la creación y mantenimiento de la uniformidad del cariotipo, sin cambios cromosómicos mayores.

En el caso particular de Venezuela, Albornoz e Imery (2003) estudiaron diferentes poblaciones de sábila en el oriente del país y encontraron cariotipos bimodales de 8 cromosomas grandes y 6 pequeños, ($2n=14= 8L+6S$), con diferencias significativas entre poblaciones, al comparar la relación de longitud del brazo largo/brazo corto de cada uno de los cromosomas.

En el 2002, Imery y Caldera compararon las características cromosómicas de cinco especies de *Aloe* considerando la longitud de los brazos largos (l), longitud de los brazos cortos (s), longitud cromosómica (L_c) e índice r (l/s). Con estos datos se construyó un dendrograma, empleando como medida de afinidad la distancia euclidiana y la agrupación por promedios simples a través de la cual se establecieron las relaciones entre las especies de acuerdo a su estructura cromosómica. Según este estudio, las fórmulas idiogramáticas fueron $2L_{sm} + 6L_{st} + 6S_{sm}$ para *A. vera*, *A. arborescens* y *A. succotrina*, y de $8L_{st} + 6S_{sm}$ para *A. saponaria* y *A. chinensis*. Estas dos últimas especies mostraron los cariotipos más asimétricos, clasificados como tipo 4B y con los mayores índices de asimetría intra e intercromosómica.

En poblaciones de las zonas occidentales de Venezuela, Molero y Matos (2008) indicaron que el complemento somático de *A. Vera* (L.) Burm. f. está compuesto por 14 cromosomas, clasificándolos en 8 cromosomas subtelocéntricos y 6 submetacéntricos; la longitud total cromosómica osciló entre 3,01 y 13,45 μm . Las longitudes de estos cromosomas son inferiores a los reportados por Albornoz e Imery (2003) e Imery y Caldera (2002).

En el primer caso informan longitudes variables entre 5, 11 a 18, 24m, los segundos autores indican longitudes de 4,3 a 18m y los terceros reportan valores de 5,5 a 17,7m. Es probable que estas diferencias se deban al estadio de condensación de los cromosomas en las metafases analizadas en esta investigación o a otros factores tales como la temperatura, la disponibilidad de determinados nutrientes, la técnica empleada en el tratamiento de las células y el tiempo de exposición de las células al antimitótico, entre otros factores (Valdéz 1997).

1.2) Cruzamientos

Pocos son los trabajos sobre cruzamiento e hibridación artificial encontrados en la literatura científica con las plantas del género *Aloe*, debido a que su reproducción es básicamente asexual, lo que limita la obtención de polen, óvulos y semillas viables que conduzcan a la formación de un híbrido. Sin embargo, Imery y Cequea (2012) lograron obtener un híbrido entre *Aloe vera* (L.) como progenitor femenino y *A. jacksonii* (Reyn) como especie donadora de polen. La progenie mostró expresividad intermedia en la mayoría de las características vegetativas, excepto en el color de las flores (híbrido = *A. jacksonii*), así como para el número de hijuelos, número y área de las manchas foliares, variables en las cuales el híbrido superó la expresión de ambos parentales. En células meristemáticas subapicales se observaron cariotipos bimodales $2n=2x=14=8L+6S=2L(sm)+6L(st)+6S(sm)$ en *A. vera*, $2n=4x=28=16L+12S=3L(sm)+13L(st)+3S(m)+9S(sm)$ en *A. jacksonii* y $2n=3x=21=12L+9S=3L(sm)+9L(st)+1S(m)+8S(sm)$ en el híbrido.

Se determinaron anomalías en más del 50% de los meiocitos de los híbridos siendo las aberraciones meióticas más frecuentes las univalentes y adherencia cromosómica en profase I, puentes dicéntricos acompañados o no con fragmentos acéntricos en anafase y telofase I y II, así como una, dos o tres microsporas adicionales. Después de la floración, no se observaron frutos ni semillas.

Se han reconocido híbridos interespecíficos en el medio natural producidos espontáneamente, como el caso de *A. arborescens* var. *Ucrae* Berger, el cual es probablemente un híbrido entre *A. arborescens* Mill. X *A. pluridens* Haw.

Esta misma especie *A. arborescens* presenta numerosas formas híbridas: x *A. vryheidensis* Groenew x *A. affinis* Berger, x *A. barbertoniae* Pole-Evans x *A. cryptopoda* Baker, x *A. ferox* Mill. x *A. glauca* Mill., x *A. marlothii* Berger x *A. petricola* Pole-Evans x *A. saponaria* Haw, x *A. sessiliflora* Pole-Evans, x *A. spectabilis* Reynolds, x *A. suprafoliata* Pole-Evans x *A. verdoorniae* Reynolds x *A. vogtsii* Reynolds. De igual manera en *A. saponaria* Haw. han sido citados cruces x *A. arborescens* Mill., x *A. brevifolia* Mill., x *A. ferox* Mill. x *A. pratensis* Baker, x *A. spectabilis* Reynolds y x *A. striata* Haw (Guillot et al. 2009).

1.3) Mutagénesis-inducción de poliploidía

La inducción de la poliploidía ha constituido una herramienta genética útil que ha permitido seleccionar variedades de plantas con números cromosómicos aumentados que presenten caracteres beneficiosos para la agricultura (Cubero 2003). Este mismo autor indica que la poliploidía, suele dar lugar a flores, frutos, granos de polen y hojas de mayor tamaño, fenómeno que se conoce como gigantismo; también se ha utilizado con el fin de conseguir una mejora en la calidad, aumentando o reduciendo la proporción con que se presenta una sustancia química: hidratos de carbono, proteínas, vitaminas, entre otros.

Los primeros trabajos de inducción de poliploidía en *A. vera* a nivel mundial fueron realizados en Venezuela por Imery y Cequea (2001), quienes aplicaron diversos tratamientos de colchicina en sábila con el objeto de inducir tetraploidía. Para ello, los rizomas de plantas adultas de 20 cm de longitud fueron sumergidos en soluciones de colchicina de diferentes concentraciones (0,05; 0,1 y 0,15%) combinadas con diferentes tiempos de exposición (6, 12, 18 y 24 horas).

La aparición de los retoños a partir de las yemas del rizoma fue monitoreada diariamente durante 60 días y posteriormente se les realizó el estudio citogenético. Los tratamientos causaron diferentes efectos en el tiempo de aparición de los retoños y en el número de retoños por rizoma.

La duplicación cromosómica se logró con la inmersión de los rizomas en solución de colchicina al 0,15% por 24 horas. Sólo del 5,9% del total de los rizomas tratados, surgieron yemas totalmente tetraploides ($2n = 4x = 28$). El resto de las combinaciones produjo tejido diploide y quimérico. Cuando estas yemas se convirtieron en plantas adultas autotetraploides de 6 meses de edad, se realizó el examen morfológico, observándose expresiones de gigantismo en las hojas y un incremento en el tamaño de las células epidérmicas.

En este mismo año, Wang *et al.* (2001) también indujo tetraploidía en plántulas de *A. vera* y obtuvo que la más alta tasa de inducción obtenida fue de un 50% a una concentración de colchicina de 0,06% con 12 horas de exposición. Al comparar las plantas poliploides con las diploides se encontró que las hojas de las plantas poliploides fueron más gruesas, grandes, de color más oscuro, y con estomas de mayor tamaño pero de menor número. Se encontró que el resto de las plántulas tratadas fueron quimeras con células diploides ($2n = 4x=14$) y células tetraploides ($2n = 4x = 28$) simultáneamente.

Ren *et al.* (2007) indujeron tetraploides de *Aloe vera* en condiciones *in vitro*, probando dos tratamientos distintos: a) sumergiendo los segmentos nodales en solución de colchicina y b) añadiendo colchicina a los medios de cultivo. Los resultados de este estudio indicaron que los mejores resultados se obtuvieron cuando se añadió la solución de colchicina al medio de cultivo que contenía los explantes, durante un periodo de 3 a 4 días, a una concentración de 2000 mg/L. Luego los explantes fueron transferidos a medios de cultivo sin colchicina.

La tasa de inducción de tetraploidía fue de 41,5%. El estudio de las características morfológicas reveló que las plantas desarrollaron hojas con mayor grosor en comparación con las plantas diploides y con mayor cantidad de cloroplastos en las células guardianas de los estomas.

En el año 2008, Molero y Matos determinaron que además de la concentración de la colchicina y el tiempo de exposición al químico, la temperatura también influye en la inducción de la poliploidía en *A. vera*. Se aplicaron tratamientos a distintas concentraciones de colchicina (0,10% y 0,15%), diferentes tiempos de exposición (12 y 24 horas) y a temperaturas de 25°C y 35° C.

Las plantas jóvenes con un tamaño de 10 a 15 cm fueron sumergidas completamente (tanto rizomas como hojas) en la solución de colchicina y transcurrido el tiempo del tratamiento se realizó el estudio citogenético en el tejido meristemático. Las plantas con todo su tejido tetraploide ($2n = 4x = 28$) fueron llevadas a campo y 4 meses después de aplicados los tratamientos se realizó nuevamente el estudio citogenético, observándose que el 25% de las plántulas tratadas con 0,15% de colchicina por 24 horas a 35° C mantuvieron su condición de tetraploidía. La duplicación cromosómica causó un incremento en la altura de las plantas y en la longitud, ancho, espesor y volumen foliar con respecto a las plantas diploides y quimeras.

2) Avances en las investigaciones genéticas modernas

2.1) Clonación de genes

La sábila es una planta C_4 con mecanismo ácido crasuláceo (CAM), cuyas enzimas fundamentales son fosfoenolpiruvatocarboxilasa (enzima PEPC) y málica-NADP. La síntesis de estas enzimas está controlada por un grupo multigénico que produce diferentes isoenzimas, pero en el caso particular de las plantas del género *Aloe*, los genes que codifican a estas enzimas están plenamente identificados y clonados (Honda et al. 1996, Honda et al. 2000).

En la investigación realizada por Honda et al. (2000) en *Aloe arborescens* se detectaron tres isoformas de la enzima málica-NADP; la primera conformada por una proteína de 72 kDa con pl de 6,0; encontrada tanto en tejido foliar como en el tejido de la raíz; otra de 65 kDa con un pl de 5,6 específica para raíz, y la última, con 65 kDa y un pl de 5,5 sólo para hoja. Los resultados indicaron que hubo actividad enzimática en las dos proteínas de 65 kDa, pero en la proteína de 72 kDa la actividad fue muy baja. Del tejido foliar se logró aislar el gen AME1 y la secuencia de aminoácidos que se obtuvo de la expresión de este gen mostró un alto grado de homología con secuencias de aminoácidos para esta misma enzima ya conocidas en otros organismos.

Con este resultado, se creó un arroz transgénico que llevó el gen AME1 de *A. arborescens* y produjo de manera eficiente una proteína de 65 kDa con un pl de 5,5 que presentaba activa la enzima málica-NADP. Estos resultados indicaron que el gen AME1 induce a la síntesis de una proteína de 65 kDa correspondiente a la enzima málica-NADP.

De la misma especie, Honda *et al.* (1996) aisló el gen ORF, que codifica para 964 residuos de aminoácidos que conforman la enzima PEPC. Ambos genes están regulados a nivel transcripcional por diferentes factores, entre los que destacan la luz, salinidad, estrés hídrico y nutricional, hormonas (ABA y citoquininas) y fotoperiodo (Echevarría *et al.* 2010). De igual manera, Morita *et al.* (2007) logró aislar el gen para la síntesis de la enzima aldo-cetoreductasa.

De las especies de *Aloe* también se han aislado genes de resistencia o tolerancia al estrés ambiental. Wang y He (2007) lograron clonar el gen DREB1, que pertenece al grupo DREB, un grupo de genes involucrados en la resistencia o tolerancia a la deshidratación por el frío. Dicho gen controla la síntesis de un factor de transcripción proteica AP2/etileno, relacionada con la respuesta de la planta en la producción de etileno. Posteriormente, otro gen del grupo DREB, identificado como AIDREB2, fue clonado por Zhang *et al.* (2009) y actúa como un regulador activo cuya expresión está relacionada con la tolerancia a la deshidratación y aclimatación al frío.

En una investigación realizada por Wen *et al.* (2014) se logró aislar el ARN total de la sábila a partir de tejido de la hoja. El aislado se utilizó para clonar genes de actina mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR). El resultado reveló que el gen clonado codificó para la proteína actina formada por 307 aminoácidos. Dicha proteína resultó de la expresión de un segmento de ADN constituido por 1012 pb de longitud que contenía una región codificante de 924 pb. Al comparar esta secuencia de nucleótidos y la secuencia de la proteína con las de otras plantas se observó que son similares entre un 80 y 96%.

2.2) Transgénesis

Debido a que las condiciones ambientales donde crecen normalmente las plantas del género *Aloe* son extremas e inducen estrés en las plantas, la mayoría de los trabajos de transformación genética han estado dirigidos a incluir genes dentro del genoma que de alguna manera le permitan soportar ambientes con temperaturas muy altas o muy bajas. En este sentido, se han realizado diversos trabajos para obtener plantas transgénicas resistentes al frío, como los realizados por Chen *et al.* (2005) y Chen *et al.* (2007). En ambos casos se introdujo el gen *otsA* en el genoma de la planta a través de bombardeo con microproyectiles o a través de infección con *Agrobacterium*.

He *et al.* (2007), optimizaron el protocolo y las condiciones de transformación en *Aloe*, incluyendo la selección del explante y la esterilización de la superficie, el uso de diferentes cepas de *Agrobacterium* y el proceso de co-cultivo. Como resultado, obtuvieron plantas transgénicas con el gen GUS completamente expresado.

El gen de la β -glucoronidasa (GUS) proveniente de la bacteria *E. coli* se utiliza como un gen reportero o indicador que sirve para monitorear la expresión de genes mediante el empleo de un sustrato de X-Gluc, el cual es degradado en presencia de la enzima sintetizada por GUS, dando como resultado un precipitado de color azul índigo. Posteriormente, Zhao *et al.* (2009) introdujeron el gen TaDREB vía *Agrobacterium* y los resultados demostraron que esta transformación podría mejorar la resistencia de las plantas de *Aloe* a bajas temperaturas.

En cuanto a los factores de influencia sobre la transformación de *Aloe*, muchos resultados experimentales muestran que la acetosiringona es necesaria para mejorar la tasa de transformación mediada por *Agrobacterium* (Chenet *et al.* 2004, Pan *et al.* 2005). Además, Pan *et al.* (2005) mostraron que el tiempo de pretratamiento con *Agrobacterium* y el pH podían influir significativamente en la transformación genética. El tiempo óptimo de infección fue de 12 a 18 min, y la mejor temperatura y tiempo de cocultivo fueron 25° C y 5 días, respectivamente.

Con respecto a las bacterias hospedadoras, EHA105 fue más eficiente que LBA4404, AGL1 y C58C1 en la transformación genética (Pan *et al.* 2005, He *et al.* 2007). En cuanto a la resistencia o sensibilidad a los antibióticos, Chen *et al.* (2004) señalaron que la sábila sin transformar fue resistente a cefotaxima y carbenicilina y susceptible a kanamicina e higromicina.

En otro experimento, un grupo de investigadores transformó genéticamente plantas de *Aloe vera* para producir la proteína humana Interferón 2 alfa (IFN α 2) (Lowther *et al.* 2012). Esta proteína es vital para la regulación de la respuesta celular a las infecciones virales. Una vez obtenidas las plantas transgénicas de *Aloe vera*, el grupo de investigación evaluó la actividad biológica de IFN α 2, que en ellas se producía utilizando diferentes ensayos.

Por un lado, observaron que al tratar células humanas con extractos de *Aloe* transgénico se estimulaba la expresión de genes dependientes de interferón, demostrando que la proteína IFN α 2 producida en *Aloe* puede activar las vías de señalización propias del interferón. Por otro lado, los investigadores realizaron ensayos antivirales en células humanas tratadas con diferentes extractos obtenidos a partir de las plantas de *Aloe* transgénicas, y posteriormente infectadas con el virus de la encefalomiocarditis. Los ensayos demostraron que el IFN α 2 humano producido en *Aloe vera* era biológicamente activo (Lowther *et al.* 2012).

2.3) Citogenética molecular

Existe poca información científica sobre el patrón de bandas en los cromosomas de las plantas del género *Aloe*. En estudios citogenéticos realizados por Li *et al.* (2003) en *Aloe yuanjiang* Gensis, cuya fórmula cariológica es $2n=14=4s-t+6sm+4m$, se observaron bandas C en el brazo corto de los cromosomas 3 y 4, presentándose como bandas oscuras. En el resto de los cromosomas solo se visualizaron bandas centroméricas.

A finales de la década de 1990 se iniciaron los estudios de citogenética molecular en las plantas de la familia Aloaceae a través de métodos de fluorescencia. Adams *et al.* (2000b) investigaron la organización física del ADN ribosomal 18S-5.8S-26S y 5S, utilizando hibridación fluorescente *in situ* (FISH) en 13 especies de *Aloe*. La organización de los ácidos nucleicos se comparó a través de un árbol filogenético de 28 especies (incluyendo las 13 en estudio) y se observó poca divergencia dentro de género *Aloe*.

El análisis FISH del ADNr5S mostró una ubicación similar en un cromosoma grande en todas las especies examinadas. Por el contrario, la distribución de los ADNr18S-5.8S-26S fue variable, con diferencias en el número, ubicación y tamaño de los loci. Pese a la estabilidad notable de la estructura del cariotipo de este género, considerando que la ubicación del ADNr5S es variable, y que la distribución del ADNr18S-26S-5.8S no es tan limitada, los autores sugieren que estas características han cambiado claramente durante la especiación del género *Aloe*.

Sánchez (2010) realizó un estudio citotaxonomico en el género *Aloe* (Aloaceae) basado en patrones de bandeo C, AgNOR, DAPI y CMA. Las bandas C tiñen las regiones centroméricas y las zonas de heterocromatina constitutiva, las bandas AgNOR colorean las regiones organizadoras nucleares y las tinciones con DAPI y CMA son bandeos cromosómicos fluorescentes que se realizan empleando los fluorocromos 4'-6-diamidino-2-fenilindol y cromomicina A₃, respectivamente.

El marcador fluorescente para DAPI se une fuertemente a regiones ricas en adenina y timina en las secuencias de ADN, mientras que el marcador para CMA se une a las regiones ricas en guanina-citosina. Como resultado, se obtuvo que todas las especies estudiadas exhibieron marcadas regiones de heterocromatina constitutiva C, de las cuales, las ubicadas en los centrómeros de los cromosomas son DAPI+ (ricas en A-T) y las localizadas en las zonas adyacentes a las constricciones secundarias son CMA+ (ricas en G-C), y éstas últimas a su vez coinciden con la ubicación de los NORs activos en las especies estudiadas, demostrando una clara correspondencia entre las bandas C, zonas CMA+/DAPI- (ricas en G-C) y el ADNr.

A partir de los análisis fenéticos y filogenéticos aplicados se confirmó: a) que algunas de las clasificaciones intraespecíficas propuestas para *Aloe* a partir de datos morfológicos, principalmente del hábito, son artificiales; b) la monofilia de la familia Aloaceae; c) que la heterocromatina constitutiva en *Aloe* se encuentra dis-

persa en el genoma (no en tándem) de forma intercalar con otras secuencias, y por tanto distribuida a lo largo de los cromosomas; d) un nuevo nivel de variación considerable (cariomorfométrico), aunque muy sutil, permite la delimitación de las especies y organización de grupos sistemáticamente relacionados que podrían estar relacionados con la especiación de *Aloe*.

Previo a este estudio, Alam y Khanam (2005) ya habían realizado un estudio de bandas fluorescentes en varias especies de *Aloe*, a saber, *A. zebrina* Baker, *A. abyssinica* Lam., *A. vera* y *A. indica* Royley. En el caso particular de *A. vera* se observaron siete bandas DAPI + ricas en A-T, que ocupaban un espacio de 6,3 mm.

Para ampliar este estudio, Jha y Yamamoto (2012) aplicaron tinción fluorescente y FISH de ADNr para analizar los cromosomas de *A. vera* y observaron la presencia de 5 bandas DAPI+ ubicadas en regiones centroméricas, localizadas en tres cromosomas pequeños y en dos cromosomas grandes. Los ADNr 18S-5.8S-25S fueron detectados en regiones teloméricas del brazo corto en un cromosoma pequeño y en el brazo largo de dos cromosomas grandes.

Un estudio realizado por Adams *et al.* (2000a) demostró que muchas especies de plantas presentan cromosomas con telómeros “tipo-*Arabidopsis*” en los cuales se encuentran copias repetidas de la secuencia 5’TTAGGG3’, sin embargo, este tipo de secuencias no se encuentra en las plantas de sábila, y contrariamente, sus secuencias teloméricas son más parecidas a las encontradas en los vertebrados (5’TTAGGG3’), según lo investigado por Weiss y Scherthan (2002). La ausencia de telómeros “tipo-*Arabidopsis*” podría atribuirse a que éstos representan variaciones en la repetición en tándem de matriz primitiva producida por mutaciones o bien en el molde de ARN de la telomerasa o en el sitio activo de la telomerasa.

2.4) Diversidad genética por estudios moleculares

Muchas de las investigaciones recientes en las especies del género *Aloe* han estado orientadas al conocimiento de la diversidad genética en diferentes partes del mundo, a través de estudios biotecnológicos con el uso de marcadores moleculares. Mediante el uso de estos marcadores y con la ayuda de la técnica de PCR, se han caracterizado diferentes poblaciones y especies del género *Aloe*.

Algunos de los marcadores empleados son AFLP (polimorfismos de longitud de los fragmentos amplificados) (Tripathi *et al.* 2011), RAPD (polimorfismos de ADN amplificados al azar) (Nayanakantha *et al.* 2010, Nejatzadeh-Barandoziet *al.* 2012, Panwar *et al.* 2013, Chandra y Choudhary 2014) y ISSR (Secuencia de repetición inter simple) (Pushpa y Samantaray 2015). Los estudios antes nombrados se realizaron en muestras de plantas tomadas del continente asiático y han permitido establecer el nivel de variación genética entre las poblaciones y los recursos de germoplasma disponibles para ser utilizados en programas de mejoramiento genético.

En los países occidentales, también se han caracterizado los recursos genéticos del género *Aloe*. En este sentido, Cortina (2009) recolectó 72 accesiones en 14 localidades o departamentos de Colombia, pertenecientes a 4 regiones geográficas (costa atlántica, región pacífica, región andina y llanos orientales), las cuales fueron caracterizadas morfológica y molecularmente. Para ello, se utilizaron marcadores microsatelitales aleatorios RAM's.

Los análisis, tanto morfológicos como moleculares, indicaron que las especies presentes en Colombia del género *Aloe* son *A. saponaria*, *A. vera* L. (*A. barbadensis* Mill.), *A. arborescens* y *A. aristata* Haw; esta última se aleja molecularmente del resto de las otras especies de *Aloe*.

Perspectivas

Cada vez son más las funciones biológicas y propiedades que se descubren en la sábila, razón por la cual los investigadores se sienten atraídos por conocer todos los atributos en esta planta ancestral que le confieren su carácter medicinal y terapéutico. Sin embargo los estudios biotecnológicos apenas están comenzando, los descritos en esta revisión documental son prueba de ello, y todavía deben concentrarse esfuerzos para realizar trabajos experimentales que permitan conocer todos los procesos celulares y moleculares ocultos en los tejidos de esta planta. La atracción de esta especie como cultivo explotable deriva no solamente de sus usos medicinales, sino también de su potencial como rubros aprovechables en regiones áridas, por su resistencia al estrés hídrico.

Varias son las ventajas que presenta la planta de Aloe vera para realizar programas de mejoramiento, donde se incluyen: 1) *el tipo de reproducción asexual, debido a que los nuevos hijuelos perpetúan cualquier genotipo indiferentemente de su nivel de heterocigosis, siendo por lo general plantas altamente uniformes en todos sus caracteres morfológicos y fisiológicos. Cualquier posible variación entre los individuos de un mismo clon tiene que ser debida a causas ambientales o a ocurrencias de mutaciones (Sing et al. 2009, Jayakrishna et al. 2011).* 2) *Otra ventaja es la de permitir el uso inmediato del fenómeno de heterocigosis, sin necesidad de producir año tras año progenitores homocigotos.* 3) *Los trabajos de propagación de clones seleccionados son más rápidos, fáciles y económicos que por semilla (Cubero 2003).*

Todas estas ventajas permiten que las plantas élites seleccionadas para un plan de mejoramiento genético mantengan las mismas características genéticas que las de sus progenitores, permitiendo propagar un fenotipo con características deseadas en grandes volúmenes aprovechables para fines industriales y comerciales.

Con el auxilio de todas las técnicas modernas de Biotecnología, Biología Molecular e Ingeniería Genética, se espera que los programas de mejoramiento genético sean mucho más eficientes y dirigidos a objetivos específicos.

Los avances que se han logrado con el cultivo *in vitro* exitoso de *A. vera*, el estudio del genoma de esta planta y los genes involucrados en sus diferentes procesos metabólicos, los resultados prometedores de la obtención de plantas transgénicas, la determinación de los recursos fitogenéticos a través de los marcadores moleculares, el control de la síntesis de proteínas y producción de metabolitos a través de los factores de transcripción, entre otros avances, permitirán diseñar plantas con mejores características fenotípicas, mayor producción de biomasa o con más tolerancia a diversos factores adversos del medio, o incluso manipular rutas de biosíntesis de metabolitos que serán atractivos para la industria manufacturera, alimenticia, farmacéutica y cosmetológica a nivel mundial.

LITERATURA CITADA

- ADAMS, S., I. LEITCH, M. BENNETT y A. LEITCH. 2000a. *Aloe* L. - a second plant family without (TTTAGGG)_n telomeres. *Chromosoma* 109(3): 201-205.
- ADAMS, S., I. LEITCH, M. BENNETT, M. CHASE y A. LEITCH. 2000b. Ribosomal DNA evolution and phylogeny in *Aloe* (Asphodelaceae). *American Journal of Botany* 87(11): 1578-1583.
- ALAM, S. y N. KHANAM. 2005. Fluorescent karyotype analysis of four *Aloe* species. *Bangladesh Journal Botany* 34(1): 17-20.
- ALBORNOZ, A. y J. IMERY. 2003. Evaluación citogenética de ocho poblaciones de *Aloe vera* L. de la Península de Araya-Venezuela. *Ciencia* 11: 5-13.
- BOZZI, A., S. PERRIN, F. AUSTIN y F. ARCE. 2007. Quality and authenticity of commercial *Aloe vera* gel powders. *Food Chemistry* 103: 22-30.
- CAMARENA, F., J. CHURA y R. BLAS. 2014. Mejoramiento genético y biotecnológico de plantas. Colección Agrosaber del Banco Agropecuario. Perú. 1-46 pp.
- CASTILLO, L. 2005. Análisis documental. *Biblioteconomía*. 18pp. Disponible en <http://www.uv.es/macass/T5.pdf>. Consultado el 20/05/2016.
- CHANDRA, D. y P. CHOUDHARY. 2014. Diversity analysis of different accessions of *Aloe barbadensis* Mill. (syn. *Aloe vera* L.) collected from Rajasthan using RAPD marker system. *The Bioscan* 9(1): 07-10.
- CHAUDHARI, A. y B. CHAUDHARY. 2012. Meiotic chromosome behaviour and kariomorphology of *Aloe vera* (L.) Burm f. *Chromosome Botany* 7: 23-29.

- CHEN, J., G. YE, C. HE, L. DU y Y. DONG. 2005. Genetic transformation of *Aloe vera* microprojectile bombardment. Southwest China Journal Agriculture Science 18(5): 612-615.
- CHEN, J., J. ZHANG, G. YE, C. HE, Y. DONG, H. ZHAO y Y. QIN. 2007. *Agrobacterium*-mediated transformation of *Aloe* with Trehalose Synthase Gene (*otsA*). Acta AgronomicSinica 33(6): 968-972.
- CHEN, T., J. ZHANG, N. XIA, R. CHEN y R. LI. 2004. Study on the factors affecting *Agrobacterium*-mediated transformation in *Aloe* (*A. arborescens*). Bulletin Botanical Research 24(1): 125-128.
- CORTINA, M. 2009. Estudio de la variabilidad del género *Aloe* en Colombia. Tesis de grado para optar al título de Magister en Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. 133p.
- CUBERO, J. 2003. Introducción a la mejora genética vegetal. Editorial Mundi-Prensa. España. 2da. Edición. 541p.
- ECHEVARRÍA, C., J. MONREAL, A. FERIA, E. TERCENIO, R. ARANCHA y S. GARCÍA. 2010. La fosfoenolpiruvatocarboxilasa (PEPC): enzima clave de los metabolismos fotosintéticos C4 y Cam. Servicio de Publicaciones del CSIC. España. p. 85-97.
- FENTAW, E., K. DAGNE, N. RONSTED, S. DEMISSEW y O. GRACE. 2013. Karyotypes in Ethiopian *Aloe* species (Xanthorrhoeaceae: Asphodeloideae). Kew Bulletin 68: 1-9.
- GUILLOT, D., E. LAGUNA y J. ROSSELLÓ. 2009. La familia Aloaceae en la flora autóctona valenciana. Monografías de la Revista Bouteloua, nº 6, 58 pp. Disponible en: www.floramontiberica.org. Consultado el 12/02/2012.
- GUNJAN, K. y B. ROY. 2010. Karyotype studies in dominant species of *Aloe* from eastern India. Caryologia 63(1): 41-49.
- GUPTA, S. y P. SAHU. 2014. Mitotic chromosome observation and karyomorphology in *Aloe vera* (L.) Burm. F. International Journal of Pharma and Bio Sciences 5(1)(B): 503-508.
- HE, C., J. ZHANG, J. CHEN, X. YE, L. DU, Y. DONG y H. ZHAO. 2007. Genetic transformation of *Aloe barbadensis* Miller by *Agrobacterium tumefaciens*. Journal Genetics Genomics 34 (12): 1053-1060.
- HERNÁNDEZ, R., C. FERNÁNDEZ y P. BAPTISTA LUCIO. 2010. Metodología de la investigación. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Quinta edición. México. p. 245-267.
- HONDA, H., H. AKAGI y H. SHIMADA. 2000. An isozyme of the NADP-malic enzyme of a CAM plant, *Aloe arborescens*, with variation on conservative amino acid residues. Gene 243 (1-2): 85-92.
- HONDA, H., T. OKAMOTO y H. SHIMADA. 1996. Isolation of a cDNA for a phosphoenolpyruvate carboxylase from a monocot CAM-plant, *Aloe arborescens*: structure and its gene expression. Plant Cell Physiology 37(6): 881-888.

- IMERY, J. y H. CEQUEA. 2001. Colchicine-induce autotetraploid in *Aloe vera* L. *Cytología* 66: 4006-4012.
- IMERY, J. 2007. Inestabilidad cariológica durante la formación de células madres del polen en *Aloe vera* (Aloaceae). *Revista Biología Tropical* 55 (3-4): 805-813.
- IMERY, J. y H. CEQUEA. 2002. Anormalidades cromosómicas en la microsporogénesis de *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Aloaceae). *Acta Botánica Venezolana*. 25: 143-152.
- IMERY, J. y H. CEQUEA. 2012. Estudio morfológico y citogenético del híbrido experimental *Aloe vera* (L.) Burm. f. x *A. jacksonii* Reyn. *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (2): 267-274.
- IMERY, J. y T. CALDERA. 2002. Estudio cromosómico comparativo de cinco especies de *Aloe* (Aloaceae). *Acta Botánica Venezolana* 25: 47-66.
- JAHAN, B., A. VAHIDY, R. SAEED y A. MIRBAHAR. 2014. Karyological studies in ten different populations of desert lily *Aloe vera* from Pakistan. *Pakistan Journal Botanical* 46(5): 1731-1734.
- JAYAKRISHNA, C., C. KARTHIK, S. BARATHI, D. KAMALANATHAN y A. INDRA. 2011. *In vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Miller, a miracle herb. *Research in Plant Biology* 1: 22-26.
- JHA, T. y M. YAMAMOTO. 2012. Application of EMA, fluorescent staining and FISH of rDNA in analysis of *Aloe vera* (L.) Burm.f. chromosomes. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University* 62: 83-89.
- JI, C., Y. MA y D. CUI. 2002. Chromosomes and karyotype analyses of the four types plants in *Aloe* L. *Quarterly of Forest By-Product and Speciality in China* 3: 15-16.
- KUMAR, K. y J. KUMAR. 2014. Studies on the cytotaxonomy among different species of *Aloe* collected from Ranchi, Jharkhand. *International Journal of Bioassays* 3 (3): 1846-1850.
- LI, A., H. LU y C. CHEN. 2003. Karyotype and Giemsa C-bandtype analysis of *Aloe* (*Aguanjanginsis*). *Journal Biology* 20: 24-25.
- LOWTHER, W., K. LORICK, S. LAWRENCE y W. YEOW. 2012. Expression of biologically active human interferon alpha 2 in *Aloe vera*. *Transgenic Research* 21(6):1349-57.
- MOLERO, T. y A. MATOS. 2008. Efectos de la inducción artificial de la poliploidía en plantas de *Aloe vera* (L.) Burm.f. *Bol. Centro Invest. Biol.* 42: 111- 133.
- MORITA, H., Y. MIZUUCHI, T. ABE, T. KOHNO, H. NOGUCHI e I. ABE. 2007. Cloning and functional analysis of a novel aldo-ketoreductase from *Aloe arborescens*. *Biological Pharmaceutical Bulletin* 30(12): 2262-2267.

- NAYANAKANTHA, N., B. SINGH y A. GUPTA. 2010. Assessment of genetic diversity in *aloe* germplasm accessions from India using RAPD and morphological markers. *Ceylon Journal of Science* 39(1): 1-9.
- NEJATZADEH-BARANDOZI, F., M. NAGHAVI, M. HASSANI, Y. MOSTOFI, A. MOUSAVI y S. TAHMASEBI ENFERADI. 2012. Diversity of Iranian *Aloe (Aloe vera L.)* genotypes based on aloenin contents and some morphological traits. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 87(6): 673–677.
- OLIVEIRA, C., E. SCHENKEL, G. GOSMANN, J. PALAZZO, L. AULER y P. ROS. 2007. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Editora Da UFRGS. Sexta edición. Brasil. Pp. 13-18.
- PAN, Y., P. MENG, G. HE, B. SU, T. CHEN y Y. LI. 2005. Factors optimization for genetic transformation in *Aloe arborescens* mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Guihaia* 25(2): 125-128.
- PANWAR, B., R. SINGH, V. DWIVEDI, A. KUMAR y P. KUMARI. 2013. Genetic diversity among Indian *Aloe* accessions based on RAPD analysis. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 3(3): 326-333.
- POGGIO, L. y C. A. NARANJO. 1990. Contenido de ADN y evolución en plantas superiores. Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Buenos Aires, Monografía 5: 27-37.
- POGGIO, L., G. GONZÁLEZ, M. FERRARI, A. GARCÍA, A. WULFF, E. GREIZERSTEIN, P. TÓMAS y G. SCHRAUF. 2010. Aportes de la citogenética al estudio de genomas vegetales. en: G. Levitus, V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp, L. Mroginski (Editores). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. Pág. 379-388.
- PUSHPA, D. y S. SAMANTARAY. 2015. Evaluation of genetic diversity of the important medicinal plant *Aloe (Aloe barbadensis Miller)* using RADP and ISSR markers. *International Journal of Agricultural Science and Research* 5(4): 139-148.
- REN, Q., S. LI, B. YAO y X. WANG. 2007. Studies on induction of autotetraploid of *Aloe vera* L. *Acta Agricultura e Boreali-Sinica* 22: 136-138.
- SÁNCHEZ, Y. 2010. Contribución al conocimiento citotaxonómico en el género *Aloe* L. (Aloaceae) basado en patrones de bandeo C. AgNOR, DAPI y CMA. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. 167p.
- SING, M., M. RATHORE, D. PANWAR, J. RATHORE, H. DAGLA y N. SHEKHAWAT. 2009. Micropropagation of selected genotype of *Aloe vera* L.—An ancient plant for modern industry. *Journal of Sustainable Forestry* 28: 935-950.
- TRIPATHI, N., N. SAINI y S. TIWARI. 2011. Assessment of genetic diversity among *Aloe vera* accessions using amplified fragment length polymorphism. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 1(2): 115-121.

- VALDÉZ, B. 1997. Caracteres citotaxonómicos: citología y citogenética. p. 133-154. en Izco, J. (ed.). Botánica. McGraw Hill Interamericana.
- VOSA, C. 2005. On chromosome uniformity, bimodality and evolution in the tribe Aloineae (Asphodelaceae). *Caryologia* 58(1): 83-85.
- WANG, L, S. ZENG, Z. LI y Z. GU. 2001. A preliminary study on the polyploid induction and variation of *Aloe vera*. *Acta Botánica Yunnanica* 23: 493-496.
- WANG, Y. y C. HE. 2007. Isolation and characterization of a cold induced DREB gene from *Aloe Vera* L. *Plant Molecular Biological Report* 25(3-4): 121-132.
- WEISS, H. y H. SCHERTHAN. 2002. *Aloe* spp. - plants with vertebrate-like telomeric sequences. *Chromosome Research* 10(2): 155-164.
- WEN, S., D. HE, C. LIAO, J. LI, G. WEN y X. LIU. 2014. Cloning and sequence analysis of an actin gene in *aloe*. *Genetics and Molecular Research* 13(3): 4949-4955.
- ZHANG, Q., J. MA, J. HE, M. LI y S. SU. 2009. Cloning and stress expression of AIDREB gene from *Aloe vera* L. var. *Chinensis*. *Acta Horticultura e Sinica* 36(11): 1659-1666.
- ZHAO, H., J. ZHAO, X. DONG, C. HE y Q. ZHONG. 2009. Tolerance to low temperature of transgenic *Aloe* plants with TaDREB gene from wheat. *China Biotechnological* 29(9): 45-49.
- ZHENG, M., X. YU, Y. LI, H. WU y S. ZHANG. 2005. Karyotype analysis of 14 species and 2 varieties in *Aloe* L. *Journal Wuhan Botanical Research* 23: 535- 540.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

**BOLETÍN DEL CENTRO DE
INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS**

Vol.50 N° 1_____

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en abril de 2016, por el **Fondo Editorial Serbiluz,**
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve