

Tasa de propagación de plantas de *Aloe vera* (L.) Burm.f. del occidente de Venezuela

Plant propagation rate of *Aloe vera* (L.) Burm.f. in western Venezuela

T. Molero-Paredes¹ y L. Bermúdez-Fung²

¹Centro de Investigaciones Biológicas. Facultad de Humanidades y Educación. Universidad del Zulia. Edificio Ciencia y Salud. Maracaibo, Zulia, Venezuela.

²Laboratorio de Biotecnología “Silvia León de Sierralta”. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Núcleo Humanístico. Zulia, Venezuela.

Resumen

El cultivo de *Aloe vera* (L.) Burm.f. representa un gran potencial para el campo agrícola venezolano por la demanda que tienen, nacional e internacionalmente, los productos primarios y subproductos de esta planta. Por ello, se realizó una investigación descriptiva con el objeto de determinar la Tasa de Propagación (TP) y Tasa de Velocidad de Propagación (TVP) de las plantaciones de zábila, en diferentes poblaciones del occidente de Venezuela, multiplicadas *in vivo* e *in vitro*. Los resultados revelaron que las plantas de zábila de las poblaciones de los Mayales (municipio Guajira, estado Zulia), Tamare (municipio Mara, estado Zulia) y Cumarebo (municipio Colina, estado Falcón) son las que poseen mayores índices de TP y TVP, tanto en condiciones *in vivo* como *in vitro*. Los valores de TP y TVP fueron mayores para las plantas propagadas *in vitro* que *in vivo* para todas las poblaciones estudiadas. Las diferencias en el comportamiento de las plantas estudiadas en cuanto a la producción de brotes, pueden ser debidas a la adaptación de cada genotipo al medio donde se desarrolla. Esta información permite seleccionar las mejores plantas de *A. vera* para la propagación masiva destinada a establecer nuevas plantaciones.

Palabras clave: Aloe, tasa de propagación, Venezuela.

Abstract

The cultivation of *Aloe vera* (L.) Burm.f represents a great agricultural potential in the Venezuelan field, for the demand that has, both nationally and internationally, the primary products and by-products of this plant. Thus, a descriptive research was conducted in order to determine the propagation's rate (TP) and velocity of propagation's rate (TVP) of aloe plantations in different populations of western Venezuela multiplied *in vivo* and *in vitro*. The results showed that aloe plants of the populations of Mayales (Guajira county, Zulia state), Tamare (Mara county, Zulia state) and Cumarebo (Colina county, Falcon state) are those that have higher rates of both TP and TVP in nursery condition and *in vitro*. The values of TP and TVP were higher *in vitro* propagated plants that *in vivo* for all populations studied. The differences in the behavior of the plants tested as to shoot production may be due to the adaptation of each genotype at the medium where it develops. This information allows selecting plants of *A. vera* to improve the mass propagation of aloe destined for establishing new plantations.

Key words: Aloe, propagation rate, Venezuela.

Introducción

El nombre popular del *Aloe vera* (L.) Burm.f. (= *A. barbadensis* Mill.) varía en los diferentes países y pueblos alrededor del mundo y es así como se encuentran los nombres de aloe, babosa, pitazabila, sábila, zabida, zábila, zabin, zabira, zadiba, zambaza, entre otras (Guillot *et al.*, 2009). Esta planta fue considerada por los egipcios como fuente de belleza, salud y eternidad, siendo utilizada por numerosas civilizaciones desde la antigüedad. Hoy en día las aplicaciones son mucho más amplias en la industria de la medicina, farmacéutica y cosmetológica y en la producción de alimentos.

Su origen y centro de distribución fue, probablemente, desde Arabia (Stevens, 2000), aunque existen otros autores que sugieren que la planta es nativa del norte de África (Guillot *et al.*, 2009; Schweizer, 1994). Se ca-

Introduction

The popular name of *Aloe vera* (L.) Burm.f. (= *A. barbadensis* Mill.) varies in the different countries and towns around the world, and the names for this species are: aloe, babosa, pitazabila, sabila, zabida, zabila, zabin, zabira, zadiba, zambaza, among others (Guillot *et al.*, 2009). This plant was considered by the Egyptians as a source of beauty, health and eternity, and has been used since the antique times until now. Nowadays, this plant is also used in the medicine, pharmaceutical and cosmetology enterprises as well as in the production of food.

Its origin and distribution center was probably from Arabia (Stevens, 2000) though there are some authors that suggest that the plant is native from the north of Africa (Guillot *et al.*, 2009; Schweizer, 1994). It is

racteriza por poseer hojas alargadas, carnosas y ricas en agua dispuestas a manera de roseta; alcanza una altura de 50 a 70 cm y un peso promedio superior a los 8 kg; las inflorescencias corresponde al tipo panoja, con flores tubulares, colgantes y amarillas. Su raíz es medianamente superficial, de estructura carnosa (Vega *et al.*, 2005)

La reproducción de *A. vera* se realiza o bien con las semillas o bien por los renuevos (hijuelos) que brotan desde la base de la planta. Sin embargo, su propagación sexual, a partir de frutos y semillas es extremadamente escasa, por lo que su multiplicación se hace tradicionalmente por separación de brotes o hijos. En Venezuela se ha observado que aún después de la floración de miles de plantas que han sido visitadas frecuentemente por numerosos vectores, tales como colibríes, abejas, avispa y mariposas, no hay formación de frutos (Imery, 2007). La incapacidad de la zábila de reproducirse sexualmente ha sido estudiada (Imery, 2007; Imery y Cequea, 2002) revelándose la existencia de anomalías cromosómicas, dicogamia, micronúcleos, proliferación irregular de las células madres del polen (CMPs) y autoincompatibilidad que, en definitiva, limitan la reproducción sexual en estas plantas y es una barrera para su rápida propagación.

El establecimiento de plantaciones de zábila se ha realizado mediante el trasplante de hijuelos. Pero, contrariamente, la regeneración de *A. vera* en la naturaleza (*in vivo*) es demasiado lenta e insuficiente para satisfacer la demanda industrial (Jayakrishna *et al.*, 2011). Rathore *et al.* (2011) indica que el amplio uso de los productos de

characterized by having long, pulpy leaves rich in water and organized as a rosette; it reaches a height from 50 to 70 cm and a superior average weight of 8 kg; the inflorescences correspond to the panicles, with tubular, hanging and yellow flowers. Its root is partly superficial with a pulpy structure (Vega *et al.*, 2005)

The reproduction of *A. Vera* is done by seeds or by the resurgences that come from the base of the plant. However, its sexual propagation, after fruits and seeds, is extremely scarce, thus its multiplication is traditionally done dividing the sprouts or resurgence. In Venezuela, it has been observed that even after the flowering of thousand of plants frequently visited by several vectors, such as hummingbirds, bees, wasps and butterflies, there are not any formation of fruits (Imery, 2007). The incapability of *Aloe Vera* to reproduce sexually has been studied (Imery, 2007; Imery and Cequea, 2002) revealing the existence of chromosome abnormalities, dichogamy, micronucleus, irregular proliferation of the mother cells of pollen (CMPs) and autoincapability that limit the sexual reproduction of these plants and is a barrier for their fast propagation.

The establishment of *Aloe Vera* plantations has been done transplanting the resurgences. But, the regeneration of *A. Vera* in the nature (*in vivo*) is too slow and not enough to satisfy the industrial demand (Jayakrishna *et al.*, 2011). Rathore *et al.* (2011) indicate that the wide use of aloe products and the accelerate expansion of the diversity of these products in the medicine,

aloe y la acelerada expansión de la diversidad de estos productos en la industria de la medicina, farmacéutica y cosmética, ha producido un incremento en la demanda de sus hojas, la cual no ha sido satisfecha con la producción actual. Por lo tanto, existe la necesidad de emprender programas de selección de genotipos éliticos, de los cuales se obtengan gran cantidad de hijuelos para propagar la especie y establecer nuevas siembras comerciales.

Contreras (1990) y Nayanakantha *et al.* (2010) informan que una planta de zábila requiere un período de, por lo menos, un año para la producción de aproximadamente cuatro hijos o brotes, después de la realización del trasplante. Sin embargo, Sing *et al.*, (2009) y Jayakrishna *et al.* (2011) indican que la proliferación de nuevos brotes no siempre es homogénea, puesto que depende de la edad de la planta, su tamaño y de su constitución genética que la hacen más capaz de producir mayor o menor cantidad de brotes utilizados para una nueva siembra. De esta manera, la regeneración de brotes es distinta entre los diferentes genotipos de la misma especie.

Para mejorar la propagación de la zábila se ha recurrido a la técnica del cultivo *in vitro*, como una herramienta que permite aumentar la tasa de multiplicación en corto tiempo para satisfacer la demanda comercial de hijuelos. Muchas son las investigaciones que se han realizado para definir la técnica más adecuada para la propagación *in vitro* de zábila (Vílchez *et al.*, 2007; Abadi y Kaviani, 2010; Jayakrishna *et al.*, 2011) en las que se han evaluado los medios de cultivos (Pérez *et al.* 2010), material biológico

pharmaceutical and cosmetic enterprise have produced an increment on the demand of their leaves, which does not correspond to the current production. Therefore, there is a need to carry out selecting programs of elite genotypes to obtain a great quantity of resurgences to spread the specie and to establish new commercial sows.

Contreras (1990) Nayanakantha *et al.* (2010) inform that an *Aloe Vera* plant requires a period of at least a year for the production of approximately four resurgences of sprouts after the transplant. However, Sing *et al.* (2009) and Jayakrishna *et al.* (2011) indicate that the proliferation of new sprouts is not always homogenous, because it depends of the age of the plant, its size and genetic constitution that make them more capable of producing higher or less quantity of sprouts used for a new sow. Likewise, the regeneration of sprouts is different between the different genotypes of the same specie.

To improve the propagation of *Aloe Vera*, the *in vitro* technique has been used as a tool that allows increasing the multiplication rate in short time to satisfy the commercial demand of the sprouts. There are lots of researches carried out to define the most adequate technique for the *in vitro* propagation of *Aloe Vera* (Vílchez *et al.*, 2007; Abadi and Kaviani, 2010; Jayakrishna *et al.*, 2011) where have been evaluated the culture medium (Pérez *et al.*, 2010), biological material (Albany *et al.*, 2006), cut of the explants (Nayanakantha *et al.*, 2010), hormo-

(Albany *et al.*, 2006), corte del explante (Nayanakantha *et al.*, 2010), concentración hormonal (Chaplot *et al.*, 2007), proliferación de brotes (Oliveira y Crocomo, 2009), entre otros.

En la zona occidental de Venezuela, las principales siembras comerciales de *A. vera* se encuentran en los estados Falcón, Lara y Zulia. En el estado Falcón existen 9000 hectáreas cultivadas, siendo los municipios Falcón, Miranda, Colina y Sucre los de mayor importancia por la superficie cultivada con 900, 1200, 1000 y 2000 hectáreas respectivamente (Piña y Morales, 2010; Piña y Chirinos, 2008; Piña, 2005). En el estado Zulia, no existen datos exactos sobre la cantidad de superficie cultivada, sin embargo, los municipios Mara, Guajira y Miranda son los pioneros en la propagación de este cultivo. En el estado Lara, los productores del municipio Urdaneta son los que explotan este rubro comercialmente aprovechando 500 ha aproximadamente (Piña, 2005).

La importancia de la demanda continua de hijuelos de zábila para el establecimiento de nuevas plantaciones, el aumento creciente de hectáreas cultivadas en el territorio nacional, la necesidad de seleccionar genotipos élitos con gran producción de hijuelos y la importancia que reviste este cultivo para el campo agrícola venezolano por la diversidad de productos y subproductos que se obtienen de esta planta, hace necesario, realizar investigaciones que permitan conocer la tasa de propagación de las plantas de *A. vera* en las diferentes zonas del occidente de Venezuela tanto en condiciones naturales, como multiplicadas *in vitro*. Por ello, el objetivo de esta in-

nal concentration (Chaplot *et al.*, 2007), proliferation of the sprouts (Oliveira and Crocomo, 2009), among others.

In the Occident of Venezuela, the main commercial sows of *A. Vera* are in Falcón, Lara and Zulia states. In Falcón there are 9000 cropped hectares, being the counties Falcón, Miranda, Colina and Sucre the ones with greater importance because of the sowed surface 900, 1200, 1000 and 2000 hectares respectively (Piña and Morales, 2010; Piña and Chirinos, 2008; Piña, 2005). In Zulia, there is not any precise data about the quality of the cropped surface, however, Mara, Guajira and Miranda counties are the pioneers in the propagation of this crop. In Lara state, the producers of Urdaneta County are the ones who develop this plant commercially taking advantage of 500 ha approximately (Piña, 2005).

The importance of the continuous demand of *Aloe Vera* sprouts for the establishment of new plantations, the crescent increment of cropped hectares in the national land, the need to select elite genotypes with high production of resurgences and the importance of this crop for the agricultural Venezuelan market, makes necessary to carry out researches that allow to know the propagation rate of *A. Vera* plants in different areas in the Occident of Venezuela, in natural and *in vitro* conditions. For this reason, the objective of this research is to determine the propagation rate and the velocity rate of the propagation of the *A. Vera* plants (L.) of the Occident of Venezuela *in vivo* and *in vitro*.

vestigación es determinar la tasa de propagación y la tasa de velocidad de propagación de las plantas de *A. vera* (L.) del occidente de Venezuela *in vivo* e *in vitro*.

Materiales y métodos

Obtención del material: La toma de las muestras se realizó en tres estados de Venezuela ubicados en el occidente del país, Falcón, Lara y Zulia. Se recolectaron plantas de zábila de los cultivares comerciales más importantes de la población de Tamare (T) en el municipio Mara (10°512 343 N 71°452 443 W), población los Mayales (M) en el municipio Guajira (10°542 563 N 71°492 383 W) y población de los Puertos de Altagracia (PA) del municipio Miranda del estado Zulia (10°402 143 N 71°312 363 W). En el estado Falcón, la recolección se realizó en las poblaciones de Caramón (C) (11°032 133 N69°452 073 W), Adaure (A) (11°522 223 N 69°592 183 W), Cumarebo (CU) (11°292 163 N 69°212 083 W) y Carazao (CA) (11°142 263 N 70°062 083 W) de los municipios Sucre, Falcón, Colina, y Miranda, respectivamente. En el estado Lara, la recolección se realizó en la población de Siquisique (S) (10°34'9"N 69°42'20"W) del municipio Urdaneta.

Para la propagación en vivero, se recolectó aleatoriamente 15 plantas de zábila de cada municipio quetenían edades de 18 a 24 meses y presentaban de 10 a 15 pencas por planta, con buen vigor y sanas. De igual manera, para la propagación *in vitro* se recolectaron 15 plantas de cada municipio, con edades de 6 a 12 meses, que presentaban de 6 a 8 pencas y con buen vigor,

Materials and methods

Obtaining of the material: the sampling procedure was done in three states of Venezuela, located in the Occident of the country, Falcón, Lara and Zulia. Aloe Vera plants were collected from the most important commercial cultivars of Tamare (T) in Mara county (10°512 343 N 71°452 443 W), population Mayales (M) in Guajira county (10°542 563 N 71°492 383 W) and Puertos de Altagracia (PA) of Miranda county, Zulia state (10°402 143 N 71°312 363 W). In Falcón, the collection was done in the populations of Caramón, (11°032 133 N69°452 073 W), Adaure (A) (11°522 223 N 69°592 183 W), Cumarebo (CU) (11°292 163 N 69°212 083 W) and Carazao (CA) (11°142 263 N 70°062 083 W) of Sucre, Falcón, Colina, and Miranda counties, respectively. In Lara state, the collection was done in the population Siquisique (S) (10°34'9"N 69°42'20"W) Urdaneta county.

For the threshold propagation, 15 Aloe Vera plants were collected at random from each county, these plants were from 18 to 24 months and had from 10 to 15 stalks per plant, with good vigor and were healthy. Likewise, for the *in vitro* propagation 15 plants were collected from each county, from 6 to 12 months old, which had from 6 to 8 stalks and good vigor, which were employed as explants for the multiplication *in vitro*. This research phase carried out in the threshold of Humanities Faculty, Universidad del Zulia.

***In vivo* propagation of the *A. vera* plants:** the collected plants were cleaned very carefully and sowed in

las cuales se emplearon como explantes para la multiplicación *in vitro*. Esta fase de la investigación fue llevada a cabo en el vivero de la Facultad de Humanidades de la Universidad del Zulia.

Propagación *in vivo* de las plantas de *A. vera*: las plantas recolectadas se limpiaron cuidadosamente y sembradas en bolsas de polietileno de 4 L de capacidad que contenían una mezcla de arena y abono (50:50) previamente desinfectada con agua caliente. Las plantas se mantuvieron en condiciones de umbráculo por 12 meses y regadas una vez por semana. El registro de nuevos hijuelos se realizó a los 6 y 12 meses después de sembradas cada planta y se calculó el promedio y la desviación estándar de hijuelos por población.

Propagación *in vitro* de las plantas de *A. vera*: las 15 plantas que fueron empleadas como explantes para el cultivo *in vitro*, se mantuvieron por dos semanas en condiciones de vivero con el objeto de controlar las condiciones sanitarias óptimas y tener un control de la nutrición y riego adecuado.

La metodología empleada para el establecimiento y multiplicación de los explantes en cultivo *in vitro* fue la propuesta por Albany *et al.* (2006). Según este protocolo, las plantas son limpiadas y lavadas con solución jabonosa y agua de chorro dos veces seguidas. Las yemas son aisladas retirando todas las hojas externas de las plantas y recorriendo las internas, sin dañar la zona apical, quedando reducida la altura del explante a 3 cm aproximadamente. Los explantes se desinfectan con solución de hipoclorito sódico al 3% a partir de clo-

polyethylene bags of 4 L of capacity with a mix of sand and manure (50:50), were previously disinfected with hot water. The plants kept in threshold conditions from 12 months and were watered once a week. The register of new resurgences was done within 6 to 12 months after the sow of each plant, and the average as long to the standard deviation were measured from each resurgence.

***In vitro* propagation of *A. vera* plants:** 15 plants used as explants for the *in vitro* cultivation kept for two weeks in threshold conditions, with the object of controlling the optimum sanitary conditions and having an adequate nutritional and irrigation control.

The methodology employed for the establishment and multiplication of the explants *in vitro* was the proposed by Albany *et al.* (2006). According to this protocol, the plants are cleaned and washed with soapy solution and water twice in a row. The buds are isolated removing all the external leaves of the plants and cutting the internal, without damaging the apical area; thus, the explants reduced to 3 cm approximately. The explants are disinfected with sodium hypochlorite at 3% after commercial chloride (5.25%) for 10 minutes. This step is repeated three times. Subsequently, the size of the explants was reduced to 1 cm of height to obtain the nodal segments, which were sowed in essay tubes containing 10 mL of liquid culture medium constituted by: 50% of salts of the culture medium Murashige and Skoog (MS) (1962) and supplemented with 1 mg.L⁻¹ of

cloro comercial (5,25%), por 10 minutos. Este paso se repitió tres veces.

Seguidamente, el tamaño de los explantes fue reducido a 1 cm de altura para obtener los segmentos nodales, los cuales se sembraron en tubos de ensayo que contenían 10 ml de medio de cultivo de consistencia líquida constituido por: 50% de las sales del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) (1962) y suplementado con 1 mg.L⁻¹ de tiamina-HCl, 100 mg.L⁻¹ de mioinositol, 25 mg.L⁻¹ de cisteína, 100 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico y 30 g.L⁻¹ de sacarosa; ajustando el pH a 5,8. Los explantes se colocaron en una cámara de incubación a una temperatura de 27°C±2°C, bajo luz blanca fluorescente continua de 150 mmol.m⁻².s⁻¹.

Una vez desarrolladas y establecidas las plántulas, éstas se sembraron en medios de cultivo de multiplicación en estado semisólido. El medio de cultivo fue similar al descrito anteriormente, suplementado con 1 mg.L⁻¹ de 6-bencilaminopurina (BAP) y gelificado con 5 g.L⁻¹ de agar. Los explantes se sembraron en envases de vidrio con capacidad de 100 mL que contenían 20 mL de medio de cultivo. Las plántulas provenientes de cada población se enumeraron del 1 al 20 con el objeto de registrar el número de brotes originados de cada explante.

Al cabo de 60 días se procedió a subcultivar los brotes o a su multiplicación. Se realizó el registro y cuantificación de la cantidad de brotes obtenidos por plántula/población y se calculó el promedio y la desviación estándar por población. Este procedimiento se repitió por cuatro ciclos consecutivamente.

thiamine-HCl, 100 mg.L⁻¹ of myo-inositol, 25 mg.L⁻¹ of cysteine, 100 mg.L⁻¹ of ascorbic acid and 30 g.L⁻¹ of sucrose; adjusting the pH to 5.8. The explants were put into an incubation chamber at a temperature of 27°C±2°C, with a continuous white light of 150 mmol.m⁻².s⁻¹.

Once developed and established the seedlings, these were sowed in multiplication semi-solid culture mediums. The culture medium was similar to the one described previously, supplemented with 1 mg.L⁻¹ of 6-benzylaminopurine (BAP) and gel with 5 g.L⁻¹ of agar. The explants were sowed in glass jars with 100 mL of capacity that had 20 mL of the culture medium. The seedlings coming from each population were numbered from 1 to 20 with the aim of registering the sprouts originated from each explants.

After 60 days, the sprouts were subculture or multiplied. The register and quantification were done of the quantity of sprouts obtained by seedling/population and, the average and standard deviation were measured by population. This procedure was replicated on four cycles.

Propagation rate (TP) was measured considering the information provided by Torres *et al.* (2010), expressed in the total number of new plants obtained/number of progenitor plants. The TP for the plants propagated *in vivo* was measured according to the register date of the data within 6 to 12 months; in *in vitro* plants, the TP was measured at the end of each crop.

The velocity propagation rate (TVP) was measured following the deSchuler *et al.* (2005) formula,

La Tasa de Propagación (TP) se calculó tomando como base la información suministrada por Torres *et al.* (2010), expresada en el número total de plantas nuevas obtenidas/número de plantas progenitoras. La TP para las plantas propagadas *in vivo* se calculó según la fecha de registro de datos a los 6 y 12 meses; en las plantas multiplicadas *in vitro* se calculó al final de cada ciclo de cultivo.

La Tasa de Velocidad de Propagación (TVP) se calculó según la fórmula de Schuler *et al.* (2005), interpretada como la relación entre el número de plantas nuevas al final del ciclo menos el número de plantas introducidas al ciclo en la fase de multiplicación, sobre el tiempo (t) expresados en meses, es decir $TVP = (N^{\circ} \text{ de plantas finales en el ciclo} - N^{\circ} \text{ de plantas introducidas al ciclo})/t$.

El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 20 bajo ambiente Window, mediante análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de medias de Tukey.

Resultados y discusión

La multiplicación *in vitro* es una herramienta útil para aumentar la propagación de plantas que en condiciones naturales poseen una tasa de propagación lenta. En este trabajo de investigación se evidenció, una vez más, que la propagación de las plantas de *A. vera* es favorecida en condiciones *in vitro*, en comparación con las *in vivo*. Sin embargo, los valores de TP y TVP fueron diferentes para cada población estudiada bajo las dos condiciones de crecimiento.

interpreted as the relation between the number of the new plants at the end of the cycle, except the number of plants introduced in the multiplication phase on the time (t) expressed in months, that is $TVP = (N^{\circ} \text{ of final plants in the cycle} - N^{\circ} \text{ of plants introduced to the cycle})/t$.

The analysis of the data was done using the statistical software SPSS, 20 version, using the variance analysis (ANOVA) and mean Tukey test.

Results and discussion

In vitro multiplication is a useful tool to increase the propagation of plants that in natural conditions have a slow propagation. In this research was seen one more time, that the propagation of *A. vera* plants is favored in *in vitro* conditions, compared to *in vivo*. However, the values of TP and TVP were different for each population studied under the two growth conditions.

In table 1 is observed the TP obtained from the population of Aloe Vera naturally propagated in the threshold after 6 to 12 months. The average number of sprouts in all the studied populations is higher than the one reported by Contreras (1990). As can be observed, the quantity of sprouts increased at the time the plant had a more extended time in the threshold, that is, the age of the plant influences on its capacity to form sprouts. Nevertheless, the quantity of sprouts obtained from the different populations varied, being the plants of los Mayales, Guajira County, the ones that presented higher quantity of offsets in each of the studied periods.

En la cuadro 1 se observa la TP obtenida de las poblaciones de zábila propagadas naturalmente en el vivero luego de 6 y 12 meses. El número promedio de brotes en todas las poblaciones estudiadas es mayor a lo reportado por Contreras (1990). Como puede observarse, la cantidad de brotes aumentó a medida que la planta tenía mayor tiempo en el vivero, es decir, la edad de la planta incide en su capacidad de formación de brotes. No obstante, la cantidad de brotes obtenidos de las diferentes poblaciones fue variable, siendo las plantas de los Mayales del municipio Guajira, las que presentaron mayor cantidad de hijuelos en cada uno de los períodos estudiados. También se destacan las plantas provenientes

The plants coming from Tamare (Mara county) are also outstanding, as well as the ones of Puertos de Altigracia (Miranda-Zulia counties) and Cumarebo (Colina county). These populations have the highest indexes of TP and TVP with 8.9 and 1.48 for Mayales, 6.7 and 1.12 for Tamare, 5.8 and 0.97 in Cumarebo, finally, 4.9 and 0.82 in plants of Puertos de Altigracia.

The plants coming from Carazao, Caramón and Siquisique produced a relatively constant quantity of sprouts within 6 to 12 months. The differences in the behavior of plants of the different regions of the Occident, regarding the production of sprouts, might be due to the adaptation of each genotype where it develops, Pierce (2009) considers

Cuadro 1. Tasa de Propagación y Tasa de Velocidad de Propagación de plantas de *Aloe vera* de diferentes poblaciones del occidente de Venezuela obtenidas *in vivo*.

Table 1. Propagation rate and velocity propagation rate of *Aloe vera* plants from different populations in the Occident of Venezuela obtained *in vivo*.

Población	6 meses			12 meses		
	TP	TVP	TP	TVP	Pr.TP	Pr.TVP
C	2,9	0,48	2,9	0,48	2,9 ^d	0,48 ^d
A	3,3	0,56	4	0,67	3,7 ^{cd}	0,61 ^{cd}
CA	2,7	0,46	2,9	0,49	2,8 ^d	0,47 ^d
CU	5,5	0,92	6	1,01	5,8 ^{bc}	0,97 ^{bc}
T	6,4	1,06	7	1,18	6,7 ^{ab}	1,12 ^{ab}
PA	4,6	0,77	5,2	0,87	4,9 ^{bcd}	0,82 ^{bcd}
M	8,2	1,37	9,5	1,59	8,9 ^a	1,48 ^a
S	2,9	0,49	4	0,67	3,5 ^{cd}	0,58 ^{cd}

TP: Tasa de Propagación; TVP: Tasa de Velocidad de Propagación; Pr.: Promedio Tasa de Propagación; Pr.: Promedio Tasa Velocidad de Propagación; C: Caramón; A: Adaure; CA: Carazao; CU: Cumarebo; T: Tamare; PA: Puertos de Altigracia; M: Mayales; S: Siquisique

tes de Tamare (municipio Mara), Los Puertos de Altigracia (municipio Miranda-Zulia) y Cumarebo (municipio Colina). Son éstas poblaciones las que poseen mayores índices de TP y TVP con 8,9 y 1,48 para la población de los Mayales, 6,7 y 1,12 para las plantas de Tamare, 5,8 y 0,97 en la población de Cumarebo y finalmente 4,9 y 0,82 en las plantas de los Puertos de Altigracia.

Las plantas provenientes de Carazao, Caramón, y Siquisique produjeron una cantidad de brotes relativamente constantes a los 6 y 12 meses. Las diferencias en el comportamiento de las plantas de las distintas regiones del occidente del país en cuanto a la producción de brotes puede ser debida a la adaptación de cada genotipo al medio donde se desarrolla, ya que Pierce (2009) considera que el ambiente modifica el genotipo e interfiere directamente sobre el crecimiento y desarrollo de las especies, produciendo diferentes ecotipos a partir de un mismo acervo génico.

En el caso particular de la zábila que crece en ambientes xerofíticos, Imery (2007) comenta que es posible que el estrés ambiental imperante en estas zonas promueva la acumulación de altos niveles de antraquinonas en el acíbar que ocasionan inestabilidad cromosómica durante el proceso de meiosis. La presencia de estos metabolitos secundarios (MS), como una respuesta de defensa de la planta ante heridas, al ataque de animales y a las condiciones ambientales, se debe a cambios en la activación transcripcional de diversos genes que afectan la reproducción celular y mejoran la producción de las enzimas

that the environment modifies the genotype and interferes directly on the growth and development of the species, producing different ecotypes after the same genetic acquis.

In the particular case of *Aloe vera*, it grows in xerophytic environments; Imery (2007) says that it is possible that the environmental stress in this area promotes the accumulation of high levels of anthraquinone in the aloe that cause the chromosome instability during the meiosis process. The presence of these secondary metabolites (MS) as a defense response of the plant towards the bounds, to the attack of animals and the environmental conditions is due to the changes in the transcriptional activation of diverse genes that affect the cellular reproduction and improve the production of the enzymes involved in the synthesis of MS, the production of the proteins involved in the fortification of the cellular wall and the synthesis of antimicrobial and antioxidant substances (Sepúlveda *et al.*, 2003).

The changes in the genes that control the enzymes and proteins involved in the mitosis process by the latter factors (environmental stress and presence of MS) must affect the mitotic division for the formation of new resurgences in the plant, which might be the reason to explain the diversity of TP and TVP among the population under study.

In table 2 are observed the quantity of new vitroplants obtained from each *in vitro* crop cycle of the explants sowed from each of the populations in the Occident of Venezuela. As well as in the *in vivo* essay,

involucradas en la síntesis de los MS, la producción de las proteínas involucradas en la fortificación de la pared celular y la síntesis de sustancias antimicrobianas y antioxidantes (Sepúlveda *et al.*, 2003).

Los cambios en los genes que controlan las enzimas y proteínas involucradas en el proceso de mitosis por los factores antes nombrados (estrés ambiental y presencia de los MS), debe afectar la división mitótica para la formación de nuevos hijuelos en la planta, lo cual puede ser la razón para explicar la diversidad de TP y TVP entre las poblaciones en estudio.

En la cuadro 2 se observa la cantidad de nuevas vitroplantas obtenidas de cada ciclo de cultivo *in vitro* de los explantes sembrados de cada una de las poblaciones del occidente de Venezuela. Al igual que en el ensayo *in vivo*, se destaca nuevamente las plantas de los Municipios Guajira, Mara y Colina por la cantidad de nuevos brotes obtenidos en 8 meses. De las plantas de los Mayales se obtuvieron 6.76, 15.88, 16.5 y 14.52 brotes en el 1er, 2do, 3er y 4to ciclo respectivamente, lo que supera a la cantidad de hijuelos obtenidos del resto de las poblaciones. El NB de las plantas de Tamare y Cumarebo también son importantes desde el punto de vista de propagación de plantas. Los índices de TP y TVP para las plantas cultivadas *in vitro* son mayores que las plantas cultivadas *in vivo*.

El número promedio de brotes de *A. vera* en multiplicación convencional sin reguladores de crecimiento fue de 3,75 por explante (Albany *et al.*, 2006). Sin embargo, otras investigaciones reportan mayor cantidad de

the plants belonging to Guajira, Mara and Colina counties were outstanding by their quantity of new sprouts obtained in 8 months. 6.76, 15.88, 16.5 and 14.52 sprouts from Mayales plants were obtained in the 1st, 2nd, 3rd and 4th cycles respectively, which surpass the quantity of sprouts, obtain from the rest of the populations. The NB of the plants in Tamare and Cumarebo are also important from the point of view of the propagation of the plants. The indexes of TP and TVP for plants crop *in vitro* are higher than plants crops *in vivo*.

The average number of sprouts of *A. vera* in a conventional multiplication without any grow regulators was of 3.75 per explants (Albany *et al.*, 2006). However, other researchers report higher quantity of vitroplants handling values from 9 (Meyer and Van Staden, 1991), 15 (Liao *et al.*, 2004), 22 (Das *et al.*, 2010) until 28 new sprouts with different BAP concentrations (Singet *et al.*, 2009). This suggests that sprouting depends not only on the hormonal concentration of the environment and their components, but also on the intrinsic factors of the plant, for example, its genetic constitution.

This idea is supported by Singet *et al.* (2009), Hashemabadi and Kaviani (2008) and Jayakrishna *et al.* (2011). These authors affirm that independently from the source of the explants, its size, age, culture composition and crop conditions, the genome of the plant intervenes on the regeneration of new plants. This might explain the fact that populations of Mayales, Cumarebo and Tamare have, in decreasing order, the highest

Cuadro 2. Tasa de Propagación y Tasa de Velocidad de Propagación de plantas de *Aloe vera* de diferentes poblaciones del occidente de Venezuela obtenidas *in vitro*.

Table 2. Propagation rate and velocity propagation rate of *Aloe vera* plants from different populations in the Occident of Venezuela obtained *in vitro*.

Población	Ciclo 1			Ciclo 2			Ciclo 3			Ciclo 4		
	TP	TVP	Pr.TP	TP	TVP	Pr.TP	TP	TVP	Pr.TP	TP	TVP	Pr.TP
C	4,1	2,05	6	3	5,86	2,93	4,33	2,16	5,07 ^d	2,54 ^{cd}		
A	3,35	1,67	8,4	4,2	9,71	4,85	7,06	3,53	7,13 ^{bc}	3,56 ^c		
CA	2,93	1,46	6,81	3,41	5,63	2,81	6,91	3,45	5,57 ^d	2,78 ^{cd}		
CU	3,38	1,91	11,15	5,57	12,6	6,3	11,43	5,72	9,76 ^b	4,88 ^b		
T	4,7	3,85	9,27	4,63	9,94	4,97	10,12	5,31	9,38 ^b	4,69 ^b		
PA	2,2	1,10	6,61	3,3	7,12	3,56	2,39	1,64	4,81 ^d	2,39 ^d		
M	6,76	3,38	15,88	7,9	16,5	8,2	14,52	7,26	13,40 ^a	6,70 ^a		
S	5,86	2,93	6,46	3,23	7,99	3,99	5,51	2,75	6,46 ^{cd}	3,11 ^{cd}		

TP: Tasa de Propagación; TVP: Tasa de Velocidad de Propagación; Pr.: Promedio Tasa de Propagación; Pr.: Promedio Tasa Velocidad de Propagación; C: Caramón; A: Adaware; CU: Cumarebo; T: Tamare; PA: Puertos de Altagracia; M: Mayales; S: Siquisique

vitroplantas, manejando valores de 9 (Meyer y Van Staden, 1991), 15 (Liao *et al.*, 2004), 22 (Das *et al.*, 2010) y hasta 28 nuevos brotes con diferentes concentraciones de BAP (Sing *et al.*, 2009). Esto sugiere que el apareamiento de nuevos brotes depende no sólo de la concentración hormonal del medio y de sus componentes, sino de otros factores intrínsecos de la planta, como por ejemplo su constitución genética. Esta idea es apoyada por Sing *et al.* (2009), Hashemabadi y Kaviani (2008) y Jayakrishna *et al.* (2011). Estos autores afirman que independientemente de la fuente del explante, su tamaño, edad, composición del medio y condiciones de cultivo, el genoma de la planta interviene en gran medida la regeneración de nuevas plantas. Esto podría explicar el hecho de que las poblaciones de los Mayales, Cumarebo y Tamare posean, en orden decreciente, la mayor cantidad de brotes puesto que las condiciones de crecimiento en los dos ambientes, *in vivo* como *in vitro*, fueron iguales para todas las plantas estudiadas.

Contrariamente a lo ocurrido en vivero en la cual se observó que a medida que la planta era de mayor edad, su capacidad de multiplicación aumentaba, en las plantas cultivadas *in vitro* se notó que la cantidad de nuevas vitroplantas disminuyó a partir del cuarto ciclo de cultivo en todas las poblaciones. En este sentido, Kadlecek *et al.* (2001) indican que la alta humedad relativa, el bajo o nulo intercambio gaseoso, la escasez de CO₂, la producción de etileno y la baja densidad fotosintética en las plantas cultivadas en condiciones *in vitro* producen per-

quantity of sprouts, because the grow conditions in both environments, *in vivo* and *in vitro*, were the same for all the plants studied.

Opposite to what happened in the threshold, where was observed that at the time the plant got older, its multiplication capacity increased, in plants cropped *in vitro*, was seen that the quantity of new vitroplants reduced after the four month of the crop's cycle in all the populations. In this matter, Kadlecek *et al.* (2001) indicate that the relative high humidity, the low or none gas interchange, the scarcity of CO₂, the production of ethylene and the low photosynthetic density in the plants cropped in *in vitro* conditions disrupt the development of these plants, reasons that might explain the phenomena observed in this research.

In figure 1 is compared graphically the TP of *A. vera* plants propagated in *in vitro* and *in vivo*, where is observed that the values are higher for plants obtained *in vitro*. Likewise, the plants of Mayales, Cumarebo and Tamares were the ones with higher TP in all the locations studied.

In figure 2 is compared the TVP of *A. vera* plants of the different populations studied in *in vitro* and *in vivo* conditions. It can be seen that in vitro culture is a biotechnological tool that allows, in less time, to produce higher quantity of plants, surpassing the number of sprouts that are obtained naturally in the field. The multiplication of the plants of Mayales, Cumarebo and Tamare during the research was faster than in the rest of the populations studied in *in vitro* and *in vivo* conditions.

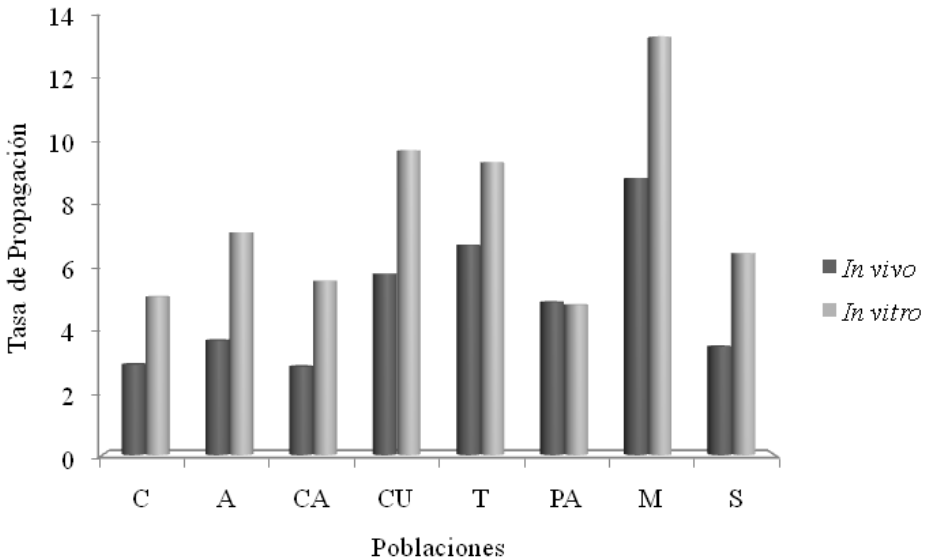
turbaciones en el desarrollo de estas plantas, razones éstas que podría explicar el fenómeno observado en este trabajo de investigación.

En la figura 1 se compara gráficamente la TP de las plantas de *A. vera* propagadas *in vitro* e *in vivo*, donde se observa que los valores son mayores para las plantas obtenidas *in vitro*. De igual manera, se destacan las plantas de las poblaciones de los Mayales, Cumarebo y Tamare como las que manifestaron mayor TP entre todas las localidades estudiadas.

En la figura 2 se compara la TVP de las plantas de *A. vera* de las diferentes poblaciones estudiadas tanto en con-

Conclusions

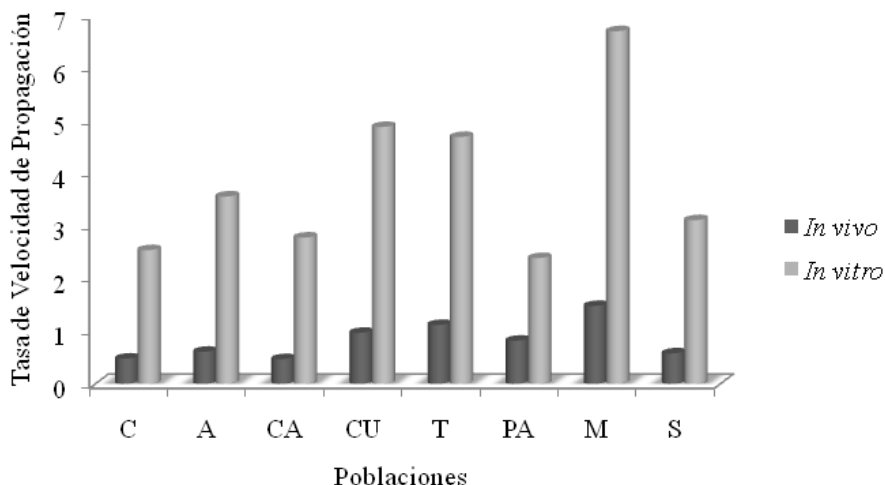
The results of this research showed that *A. vera* plants coming from los Mayales town, Guajira county, Zulia state, are the ones with higher propagation rate (TP) and propagation velocity rate (TVP) multiplied in natural threshold conditions *in vitro*, secondly followed by the plants coming from Tamare, Mara county, Zulia state, and in third position aloe vera plants from the Cumarebo town, Colina county, Falcón state. The values of TP and TVP were higher for plants multiplied *in vitro* and *in vivo* for all the studied



C: Caramón; A: Adaure; CA: Carazao; CU: Cumarebo; T: Tamare; PA: Puertos de Altigracia; M: Mayales; S: Siquisique

Figura 1. Tasa de propagación de plantas de *Aloe vera* del occidente de Venezuela obtenidas *in vivo* e *in vitro*.

Figure 1. Propagation rate of *Aloe vera* plants in the Occident of Venezuela obtained *in vivo* and *in vitro*.



C: Caramón; A: Adaure; CA: Carazao; CU: Cumarebo; T: Tamare; PA: Puertos de Altigracia; M: Mayales; S: Siquisique

Figura 2. Tasa de velocidad de propagación de plantas de *Aloe vera* en el occidente de Venezuela obtenidas *in vivo* e *in vitro*.

Figure 2. Velocity propagation rate of *Aloe vera* plants in the Occident of Venezuela obtained *in vivo* and *in vitro*.

visualizarse que el cultivo *in vitro* es una herramienta biotecnológica que permite en menor tiempo producir mayor cantidad las plantas, superando el número de brotes que naturalmente se obtienen en campo. La multiplicación de las plantas de los Mayales, Cumarebo y Tamare durante el tiempo de estudio, fue más rápida que el resto de las poblaciones estudiadas tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*.

Conclusiones

Los resultados de esta investigación demostraron que de las plantas de *A. vera* provenientes de la población de los Mayales del Municipio Guajira del estado Zulia son las que poseen mayor Tasa de Propagación (TP) y

populations. This information is useful to achieve the massive propagation of *A. vera* plants for the establishment of new plantations in the Occident of Venezuela.

Acknowledgments

The authors thank the Scientific and Humanistic Board of Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) by the financing given for carrying out this research through the project CC-0622-10 and CC-0423-10 and the Biological Research Center of Universidad del Zulia.

End of english version

Tasa de Velocidad de Propagación (TVP) multiplicadas en condiciones naturales de vivero e *in vitro*, seguido en segundo lugar por las plantas provenientes de la población de Tamare del Municipio Mara del estado Zulia y en tercer lugar por las plantas de zábila de la población de Cumarebo del municipio Colina del estado Falcón. Los valores de TP y TVP fueron mayores para las plantas multiplicadas *in vitro* que *in vivo* para todas las poblaciones estudiadas. Esta información es útil para lograr la propagación masiva de plantas de *A. vera* para el establecimiento de nuevas plantaciones en la región occidental de Venezuela.

Agradecimientos

Los autores deseamos expresar nuestro agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto CC-0622-10 y CC-0423-10 y al Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad del Zulia.

Literatura citada

Abadi, D. y B. Kaviani. 2010. *In vitro* proliferation of an important medicinal plant aloe- a method for rapid production. Australian Journal of Crop Science 4: 216-222.

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

Chaplot, B., A. Dave y Y. Jasrai. 2007. *In vitro* rapid propagation of *Aloe Vera* L., a high valued medicinal plant through rhizome and axillary bud

proliferation. The Icfai Journal of Biotechnology 1: 48-56.

Contreras, S., J. 1990. El cultivo de la zábila en Venezuela. Aspectos agroecológicos-terapéuticos. Acrive. Caracas, Venezuela. 45 p.

Das, A., P. Mukherjee y T. Baran Jha. 2010. High frequency micropropagation of *Aloe vera* L. Burm. f. as a low cost Option towards commercialization. Plant Tissue Culture y Biotechnology 20: 29-35.

Guillot, D., E. Laguna y J. Rosselló. 2009. La familia Aloaceae en la flora alóctona valenciana. Monografías de la Revista Bouteloua 6. 58 pp. Disponible en: www.floramontiberica.org. Fecha de consulta 11/03/2012.

Hashemabadi, D. y B. Kaviani. 2008. Rapid micro-propagation of *Aloe vera* L. via shoot multiplication. African Journal of Biotechnology 7: 1899-1902.

Imery, J. 2007. Inestabilidad cariológica durante la formación de células madres del polen en *Aloe vera* (Aloaceae). Revista de 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 Venezuelica. 25: 143-152.

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.

Kadlecek, P., I. Ticha, D. Haisel, V. Capkova y C. Scafer. 2001. Importance of *in vitro* pretreatment for *ex vitro* acclimatization and growth. Plant Science 161: 695-701.

Liao, Z., M. Chen, F. Tan, X. Sun y K. Tang. 2004. Micropropagation of endangered chinese aloe. Plant Cell Tissue and Organ Culture 76:83-86.

Meyer, H.J. and L. Van Staden. 1991. Rapid *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill. Plant Cell Tissue and Organ Culture 26:167-171.

- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15:473- 497.
- Nayanakantha, N., M. Singh y A. Kumar. 2010. Improved culture medium for micropropagation of *Aloe vera* L. *Tropical Agricultural Research & Extension* 13: 1022-1030.
- Oliveira, E. y O. Crocomo. 2009. Large-scale micropropagation of *Aloe vera*. *Hortscience* 44:1675–1678.
- Pérez, J., N. Albany, J. Vílchez, S. León de Sierralta y M. Molina. 2010. Efecto del medio de cultivo en la multiplicación *in vitro* de *Aloe barbadensis* Mill. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 27: 447-459.
- Pierce, B. 2009. Genética. Un Enfoque Conceptual. Editorial Médica Panamericana. España. p.255-258.
- Piña Zambrano, H. y Morales Espinoza, A. 2010. Aloe en Venezuela: de la cadena de valor al distrito industrial problemas del desarrollo. *Revista Latinoamericana de Economía* 41. Disponible en: <<http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=11820132009>> ISSN 0301-7036. Fecha de consulta: 13 de febrero de 2012.
- Piña, H. 2005. Perfil preliminar del mercado de la zábila en Falcón. *Bioagro* 17: 85-92.
- Piña, H. y L. Chirino. 2008. Mercado de la zábila (*Aloe vera* L.) en el estado Falcón. *Revista Facultad Agronomía (LUZ)* 25: 364-392.
- Rathore, M., J. Chikara y N. Shekhawat. 2011. Plantlet regeneration from callus cultures of selected genotypes of *Aloe vera* L. An ancient plant for modern herbal industries. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 163: 860-868.
- Schuler, I., S. Baquero, D. Gaona, E. Vega, J. Rodríguez, C. Ramírez, V. Nieto y E. Hodson. 2005. Propagación *in vitro* de material seleccionado de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC (Ocobo) y *Cordia Alliodora* (Ruiz & Pav.) Oken (Nogal Cafetero). *Revista Colombiana de Biotecnología* VII (001): 39-50.
- Schweizer, M. 1994. *Aloe vera* la planta que cura. APB Ediciones. Francia. 64 p.
- Sepúlveda-Jiménes, F., H. Porta-Ducoing y M. Rocha-Sosa. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 355-363.
- 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.
- Stevens, N. 2000. *Aloe vera*. Editorial Sirio. Cuarta Edición. 220p.
- Torres, M., A. Rodríguez, A. Torres y O. Llorente. 2010. Propagación de ajo (*Allium sativum* L.) a partir de microcrobulbillos conservados *in vitro*. *Agrotecnia de Cuba* 34 (1): 59-65.
- 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.
- Vílchez, J., O. Ferrer, P. Chacín y N. Albany. 2007. Efecto del pulso líquido sobre la multiplicación *in vitro* de zábila (*Aloe vera* (L.) Burm. F.). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 24 Supl. 1: 110-113.