

## Morfo-anatomía de vitroplantas de zábila (*Aloe vera* L. Burm.f.)

### Morpho-anatomy of aloe (*Aloe vera* L. Burm.f.) vitroplants

A.B. Sánchez-Urdaneta<sup>1</sup>, E. Suárez-Calleja<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. <sup>2</sup>Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia.

### Resumen

Se evaluó la morfo-anatomía de vitroplantas de zábila antes y después de la aclimatización, describiéndose la morfo-anatomía, longitud, anchura y densidad de los estomas en la superficie adaxial y abaxial de los nomófilos (LEH, LEE, AEH, AEE, DEH y DEE). Con hojas alargadas, alternas, espiralmente arrosietadas y suculentas. Epidermis uniestratificada, de forma regular, rectangular o romboide, con cutícula delgada. La epidermis de las costillas de las hojas presentó forma puntiaguda. Parénquima homogéneo, células de menor tamaño después de la epidermis, hacia el interior de gran tamaño, incoloras, con numerosos estratos de células, presencia de rafidios. Pencas anfiestomáticas, estomas hundidos y tetracíclicos. La LE y AE fue similar y la DE de las vitroplantas de zábila se incrementó en las pencas desarrolladas durante la fase de aclimatización.

**Palabras clave:** *Aloe vera*, estomas, vitroplantas, epidermis.

### Abstract

The morpho-anatomy of aloe vitroplants was evaluated. A descriptive analysis of the morpho-anatomy of the vitroplants, length, width and stomatic density in the surface adaxial and abaxial (LSAd, LSAb, WSAd, WSAb, DSAd and DSAb) was carried out. They showed elongated leaves, rosettes, succulent and alternate. Epidermis unistratified, of regulate, rectangular form or rhomboid and thin cuticle. The epidermis of the leaves ribs showed sharp-pointed form.

Homogeneous parenchyma, cells of minor size after the epidermis towards the inner of great size, colorless, with numerous cells strata, raphides presence, amphistomatal leaves, sunk and tetracyclic stomas. LSAd and LSAb were similar and DS of the aloe vitroplants increased in leaves developed during the acclimatization phase.

**Keywords:** *Aloe vera*, stomas, vitroplants, epidermis.

## Introducción

*Aloe vera* L. Burm.f., familia Aloaceae (Hokche *et al.*, 2008) es considerada una planta que posee múltiples propiedades medicinales. Unas 360 especies de zábila, (comúnmente aceptado como *Aloe*) crecen en las regiones áridas de América, Europa y Asia. *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe vera*, por la sinonimia) es el más ampliamente utilizado en la fabricación de alimentos, bebidas, productos farmacéuticos y cosméticos (Xu *et al.*, 2008; Castillo *et al.*, 2010).

La zábila constituye una alternativa de producción para las zonas áridas y semi áridas del mundo, sin embargo su propagación presenta problemas con la reproducción sexual, por lo que su multiplicación se hace tradicionalmente por separación de brotes o hijos que salen en la base de la planta. Este método convencional, requiere un periodo de 20 meses para la producción de aproximadamente cuatro hijos o brotes por cada planta, después de la realización del trasplante (Contreras, 1990). La propagación *in vitro* representa una alternativa ya que permite disminuir los costos de producción, satisfacer la demanda de plántulas debido a la alta tasa de reproducción, se consigue una propagación clonal rápida (Albany *et al.*, 2005).

Las plantas producidas *in vitro* inicialmente no se encuentran adap-

## Introduction

*Aloe vera* L. Burm.f., Aloaceae family (Hokche *et al.*, 2008) is considered a plant having multiple medicinal properties. 360 species of aloe, (commonly accepted like *Aloe*) grow up in arid regions of América, Europa and Asia. *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe vera*, by sinonimia) is more widely used in aliment elaboration, beverages, pharmaceuticals and cosmetic products (Xu *et al.*, 2008; Castillo *et al.*, 2010).

The aloe constitutes an alternative of production for arid and semi arid regions in world; however, its propagation present problems with sexual reproduction, thus, its multiplication is traditionally done by shoots separation grown in plant base. This conventional method, require a period of 20 months for approximate production of four shorts at any plant, after transplant (Contreras, 1990). *In vitro* propagation represent an alternative since permit to decrease production costs, to satisfy seedlings demand because the high reproduction rate, a rapid clonal propagation is achieved (Albany *et al.*, 2005).

Plants *in vitro* produced are not well adapted to stress field conditions where be transplanted at the beginning. During *in vitro* culture changes in plant phenotype are

tadas a las condiciones estresantes del campo a donde van a ser trasplantadas. Durante el cultivo *in vitro* se inducen cambios en el fenotipo de las plantas (tallos delgados, menor cantidad de ceras cuticulares y epicuticulares, escasa capacidad fotosintética, estomas con baja funcionalidad, entre otros). Estos cambios ocurren como respuesta a un ambiente controlado: con alta humedad relativa, baja intensidad lumínica, temperatura constante y un comportamiento heterótrofo debido a la dependencia del medio de cultivo (Rodríguez *et al.*, 2000).

En el cultivo *in vitro* se reportan anomalías en la morfología y anatomía asociada con los estomas como son la reducción de la densidad estomática y en su forma, generando por lo tanto cambios en el tamaño. La nueva emisión foliar *ex vitro* se presenta cambios en la morfología de las vitroplantas. Esta información es escasa para la zábila; por ello, se evaluó la morfo-anatomía de vitroplantas de zábila (*Aloe vera* L. Burm.f.).

## Materiales y métodos

Para describir la morfo-anatomía de las pencas se recolectaron segmentos del tercio medio de vitroplantas de zábila (seis semanas después de sembradas en el medio de cultivo) y de plantas aclimatizadas (ocho semanas después de haber sido sembradas en los diferentes sustratos y colocada en los diferentes ambientes). Cada segmento fue fijado con una solución de ácido acético: formaldehído: etanol al 70% (FAA; 5:5:90. Los segmentos fueron proce-

induced (thin stems, less quantity of cuticular and epicuticular waxes, scarce photosynthetic capacity, and stomas with low functionality, among others). These changes occur like response to a controlled environment: with high relative humidity, low light intensity, constant temperature and a heterotrophic behavior because dependence on culture medium (Rodríguez *et al.*, 2000).

On *in vitro* culture some abnormalities are reported in morphology and anatomy related to the stomas like reduction of stomatic density and its shape, causing changes in size. The new foliar emission *ex vitro* show changes in morphology of vitroplants. This information is not abundant for aloe, therefore, the morpho-anatomy of aloe (*Aloe vera* L. Burm.f.) vitroplants was evaluated.

## Materials and methods

To describe the morpho-anatomy of leaves segments belonging to the middle third of aloe vitroplants (six weeks after sowed in culture medium) and of acclimatized (eight weeks after been sowed in different substrates and placed on different environments). Each segment was fixed with a solution of acetic:formaldehyde:ethanol acid to 70% (FAA; 5:5:90). Segments were processed with inclusion technique in paraffin, obtaining permanent histological preparations. Consequently, for the observation and analysis of preparations, micro photographs were taken, by digitalizing images with software Image-Pro Plus®.

sados con la técnica de inclusión en parafina, de ellos se obtuvieron preparaciones histológicas permanentes. Posteriormente para la observación y análisis de las preparaciones se tomaron microfotografías, digitalizando las imágenes con el software Image-Pro Plus®.

Para la evaluación de las variables relacionadas con el análisis estomático (longitud y anchura de los estomas (LA y AE) y densidad estomática (DE) se utilizó la técnica de impresiones epidérmicas, aplicando pegamento rápido (éster de cianoacrilato), en la epidermis adaxial y abaxial en el tercio medio de la penca, en vitroplantas representativas de cada tratamiento y de cada repetición. Pasados 60 min, se extrajo el pegamento rápido; haciendo uso de cinta adhesiva transparente de 1,8 cm de ancho, para luego colocarlo sobre portaobjetos limpios y debidamente identificados.

Las observaciones de las impresiones epidérmicas se estudiaron en un microscopio óptico monocular, Olympus KC 1972, Tokio-Japón, con ocular de 10X. Para esta medición se utilizó un aumento total de 100X. El área o campo de observación fue 2,545 mm<sup>2</sup>. Se determinó esta variable según la fórmula: Número de estomas.mm<sup>-2</sup> = Número de estomas contados en el campo de observación del microscopio, dividida por el área observada (Rodríguez *et al.*, 2000).

## Resultados y discusión

En las especies de la familia Aloeaceae, las hojas fotosintéticas (pencas) en estado adulto son largas,

For the evaluation of variables related to the stomatic analysis (length and width of stomas (LS and WS) and density of stomas (DS) the epidemical impressions technique was used, by applying rapid glue (cyanoacrylate ester), in the adaxial and abaxial epidermal at middle third of leave, in vitroplants representative any treatment and any replication. 60 min after, rapid glue was removed; by using transparent adhesive tape of 1.8 cm width, for after placing it on clean slides and properly identified.

The observations of epidermal impressions were studied on a monocular optical microscope, Olympus KC 1972, Tokyo-Japan, with ocular of 10X. For this measurement, a total increase of 100X was used. The observation area was of 2.545 mm<sup>2</sup>. This variable was determined according to the formula: Number of stomas · mm<sup>-2</sup> = Number of stomas counted in observation field of microscope, divided by the area observed (Rodríguez *et al.*, 2000).

## Results and discussion

In the species of Aloeaceae family, photosynthetic leaves in adult state are long, disposed in dense rosettes or along the stem, since shows very short internodes, are generally sessile, perennial, succulent, parallel-nerved, in some species margins are spiny and with apex spiny-sharp, in agreement to those observations reported by Vegetti *et al.* (2004). These characteristics were equally observed on vitroplants and on aloe acclimatized plants. In relation to this

dispuestas en densas rosetas o a lo largo del tallo, ya que presentan entrenudos muy cortos, son generalmente sésiles, perennes, succulentas, paralelinervadas, en algunas especies los márgenes son espinosos y con los ápices espinosos-puntiagudos, coincidiendo estas observaciones con las reportadas por Vegetti *et al.* (2004). Dichas características fueron igualmente observadas en las vitroplantas y en las plantas aclimatizadas de zábila. En cuanto a esta disposición de las hojas en el tallo (filotaxia), se cree que está asociada con las características de presentar hojas anfiestomáticas y que fue constatada en esta investigación.

La cutícula tanto en las vitroplantas como en las plantas aclimatizadas resultó muy delgada, aunque con ligeras variaciones de espesor, cantidad, tipo y disposición de las ceras intra y epicuticulares (figura 1A, 1B, 1C y 1D). Lo cual podría estar relacionado con las funciones de protección que realiza y en la mayor o menor facilidad de penetración de productos químicos (fertilizantes foliares, insecticidas, fungicidas, entre otros). Además los diversos patrones de las ceras epicuticulares tienen importancia en su taxonomía, tal como lo señalaron Vegetti *et al.* (2004).

En general, la epidermis fue uniestratificada, en vista superficial las células epidérmicas propiamente dichas fueron de forma regular, rectangulares o romboides, con paredes rectas, o variadamente onduladas (figura 1A, 1B, 1C y 1D). En corte transversal ambas epidermis presentaron similar tamaño, o las células epidérmicas adaxiales fueron un poco más

leaves disposition atem (phyllotaxis), possibly is associated to characteristics of showing amphistomatic leaves and proved in this research.

Cuticle both in vitroplants and in the acclimatized plants was very thin, although with light variations of thickness, quantity, type and disposition of intra and epicuticular sides (figure 1A, 1B, 1C and 1D), which could be related to the functions of protection done and on the higher or lower penetration facility of chemical products (foliar fertilizers, insecticides, fungicides, among others). Also, diverse patterns of epicuticular sides have importance on its taxonomy, as established by Vegetti *et al.* (2004).

In general, epidermis was unistratified from surface, epidermal cells themselves were regular, rectangular or rhomboid, with right plots, or sometimes undulating (figure 1A, 1B, 1C and 1D). In transversal cut both epidermis showed similar size, or adaxial epidermal cells were a little bit high in comparison to abaxial epidermis. Epidermal cells disposed in nerves toward margins of leaves showed sharp shape (figure 1A and 1B).

The aloe leaves showed sink stomas with curved holes with an edge of cuticle (figure 1C), in both plants types. Each of stomas rounded by four subsidiary or accompanist cells (figure 2). These observations agreed with those reported by Dickison (2000b), who detached that besides of epidermal cells showed micro papillas over external periclinal wall and wax was observed in little scales or particles.

grandes que las de la epidermis abaxial. Las células epidérmicas dispuestas en las nervaduras hacia los márgenes de las pencas presentaron forma puntiaguda (figura 1A y 1B).

Las pencas de zábila presentaron estomas hundidos con aberturas arqueadas con un borde de cutícula (figura 1C), en ambos tipo de plantas. Cada estoma rodeado por cuatro células subsidiarias o acompañantes (figura 2). Estas observaciones coincidieron con las reportadas por Dickison (2000b), señalando además que las células epidérmicas presentaron micropapilas sobre la pared periclinal externa y se presentó cera en pequeñas escamas o partículas.

Se observó la presencia de un parénquima homogéneo, de células de menor tamaño inmediatamente después de la epidermis, constituido por cuatro o cinco estratos de células, con la presencia esporádica de rafidios (figura 1D, 1E y 1F) y abundantes espacios intercelulares (figura 1E). Presentando hacia el centro de la penca, células parenquimáticas de gran tamaño e incoloras, como numerosos estratos de células (figura 1A y 1B). Hacia el parénquima más externo se presentaron rafidios, un tipo de cristal de oxalato de calcio (figura 1F).

Es importante destacar, tal como lo señaló Dickison (2000a), una adaptación es cualquier aspecto de una planta que promueve su bienestar en el ambiente que ésta habita. Las adaptaciones le permiten a las plantas sobrevivir en condiciones extremas. Para el caso de la zábila se observan adaptaciones al medio *in vitro* como la ausencia de ceras, las cuales aparecen nuevamente al ser

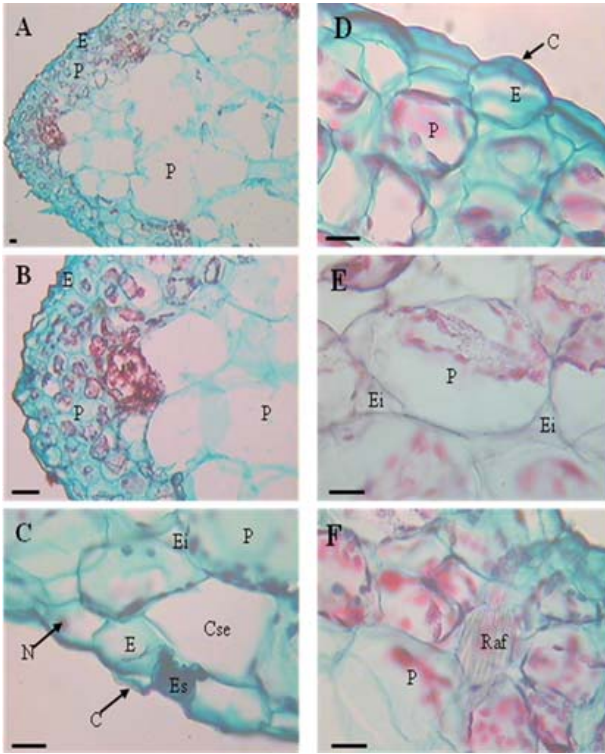
Presence of an homogeneous parenchyma, of cells of lower size immediately after epidermis, constituted by four or five cells strata, with occasional presence of raphides (figure 1D, 1E and 1F) and abundant intercellular spaces (figure 1E), also showing toward leaf center, parenchymatic cells of high size and colorless, with numerous cells strata (figure 1A and 1B). Raphides were observed toward more external parenchyma, a type of crystal of calcium oxalate (figure 1F).

It is important to detach that as Dickison established (2000a), an adaptation is any aspect of a plant promoting its well-being on environment of habitat. The adaptations permit to the plants survival on extreme conditions. In case of aloe adaptations to the *in vitro* environment like absence of sides are observed, which again appears to be acclimatized and increase when they are exposed to field conditions. Perhaps, this happens because the *in vitro* condition does not need protection against desiccant conditions like those received on external environment.

The aloe has amphistomatic leaves, with stomas both surfaces (adaxial and abaxial). The stomatic apparatus observed in aloe was tetracyclic, thus, the stoma is rounded by four accompanist cells in pairs, one parallel to the occlusive (figure 2).

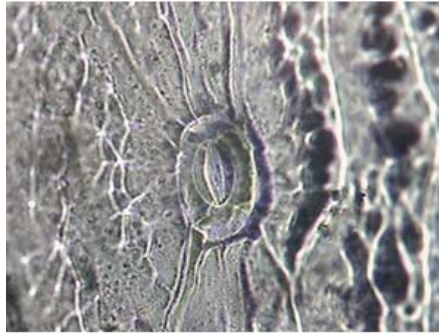
LS and WS of stomas were similar *in vitro* in comparison to the new foliar emission, at the end of evaluation, therefore, it is suggested that aloe did not show morphological





**Figura 1. Anatomía de hojas de vitroplantas y plantas aclimatizadas de zábila (*Aloe vera* (L.) Burm.f.). A y B. Corte transversal mostrando las costillas de la penca de zábila, escala 40 mm, 4X y 10X, respectivamente. C y D. Corte transversal mostrando estoma y células epidérmicas, escala 10 mm, 40X. E. Células parenquimáticas mostrando espacios intercelulares, escala 10 mm, 40X. F. Células parenquimáticas mostrando rafidios, escala 10 mm, 40X. C= cutícula, E= epidermis, P= células parenquimáticas, Ei= espacios intercelulares, Es= estoma, Cse= cámara subestomática, N= núcleo, Raf= rafidios.**

**Figure 1. Leaves anatomy of vitroplants and acclimatized plants of aloe (*Aloe vera* (L.) Burm.f.). A and B. Transversal cut showing ribs of aloe leaves, scale 40 mm, 4X and 10X, respectively. C and D. Transversal cut showing stoma and epidermal cells, scale 10 mm, 40X. E. Parenchymatic cells showing intercellular spaces, scale 10 mm, 40X. F. Parenchymatic cells showing raphides, scale 10 mm, 40X. C= cuticle, E= epidermis, P= Parenchymatic cells, Ei= intercellular spaces, Es= stoma, Cse= Sub-stomatic chamber, N= nucleolus, Raf= raphides.**



**Figura 2. Microfotografía de aparato estomático presente en pencas de vitroplantas de zábila (*Aloe vera* L.). 40X.**

**Figure 2. Micro photograph of estomatic apparatus present in pencas of zábila (*Aloe vera* L.). vitroplants 40X.**

aclimatizadas y se incrementan en la medida en que son expuestas a condiciones de cultivo en campo. Esto quizás se deba a que en condición *in vitro* no necesita protección ante condiciones desecantes como a las que se expone en el medio externo.

La zábila posee pencas anfiestomáticas, con estomas en ambas superficies (adaxial y abaxial). El aparato estomático observado en zábila fue del tipo tetracítico, es decir, el estoma está rodeado por cuatro células acompañantes en pares uno paralelo a las oclusivas (figura 2).

La LE y el AE de los estomas fue similar *in vitro* en comparación con la nueva emisión foliar, al finalizar la evaluación. Por lo que se sugiere, que la zábila no mostró variaciones morfológicas relacionadas con el tamaño de los estomas en la condición *in vitro* y *ex vitro*. Los valores promedios para la LE y AE de los estomas tanto en la epidermis adaxial como abaxial, inicial y final expresados en

variaciones related to the size of stomas on *in vitro* and *ex vitro* conditions. Mean values for LS and WS of stomas both in adaxial like abaxial epidermis, initial and final expressed in  $\mu\text{m}$  were LSAbi=10.02; LSAdf=10.58; LSAbf=10.19; LSAbf=9.30 and WSAdi=5.09; WSAdf=5.94; WSAbi=5.25; WSAbf=5.60.

In this research, middle third stomas of leaf were selected, thus, in next researchers it would be consider to do a selection from the apical and basal third in order to establish a comparison. It has been reported that in a leaf, differences in stomas can be observed depending if they are in apical, middle or basal and according to state of leaf development; also, high light intensities have influence on stomatic differencing (Lindorf *et al.*, 1991; Sanabria *et al.*, 2005).

Stomatic density (DS), in case of aloe, did not showed differences between the adaxial and abaxial epi-



$\mu\text{m}$  fueron LEAdi=10,02;  
 LEAdf=10,58; LEAbi=10,19;  
 LEAbf=9,30 y AEAdi=5,09;  
 AEAdf=5,94; AEAbi=5,25;  
 AEAbf=5,60.

En esta investigación, se seleccionaron los estomas del tercio medio de la penca, por lo que habría que considerar en próximas investigaciones, seleccionar del tercio apical y basal para comparar. En este sentido, se ha señalado que en una hoja pueden observarse diferencias en el tamaño de los estomas dependiendo si se encuentran en la parte apical, media o basal y según el estado de desarrollo de la hoja; además, altas intensidades lumínicas también influyen en la diferenciación estomática (Lindorf *et al.*, 1991; Sanabria *et al.*, 2005).

Lo que sí se puede asegurar es que la densidad estomática (DE), en el caso de zábila, no manifestó diferencias entre las epidermis adaxial y abaxial, posiblemente debido a la forma de crecimiento arrosetada de esta planta. Cañizares *et al.* (2003) consideraron en sus estudios que los estomas fueron más frecuentes en la superficie abaxial de las hojas de lima Tahití y en algunas especies, sólo se presentaron en esta. En la zábila se encontraron en ambas superficies.

La DE se incrementó en la zábila comparando la condición *in vitro* con las plantas aclimatizadas. Teniendo entonces de 2,95 a 5,60 estomas. $\text{mm}^{-2}$  en la epidermis adaxial y entre 3,05 y 4,52 estomas. $\text{mm}^{-2}$  en la epidermis abaxial. Las variaciones en la estructura de las plantas que comúnmente son afectadas por factores exógenos fuertes, son expresadas en la morfología y la anatomía de hojas. La hoja,

posiblemente porque la rosetada es la forma de crecimiento de esta planta. Cañizares *et al.* (2003) consideraron en sus estudios que los estomas fueron más frecuentes en la superficie abaxial de las hojas de lima Tahití y en algunas especies, sólo se presentaron en esta. En la zábila se encontraron en ambas superficies.

DS aumentó en la zábila comparando la condición *in vitro* con las plantas aclimatizadas. Hay una diferencia de 2.95 a 5.60 estomas. $\text{mm}^{-2}$  en la epidermis adaxial y entre 3.05 y 4.52 estomas. $\text{mm}^{-2}$  en la epidermis abaxial. Variaciones en la estructura de las plantas que comúnmente son afectadas por factores exógenos fuertes, se expresan en la morfología y la anatomía de las hojas. La hoja, es comúnmente considerada el órgano anatómico con mayor plasticidad de la planta y la adaptación de las hojas a las condiciones ambientales adversas (Dickison, 2000a).

Lindorff *et al.* (1991) reportó que el número de estomas por unidad de superficie fue muy variable; sin embargo, Verdugo *et al.* (1999) consideró que se han estudiado muy poco los programas de desarrollo que generan patrones de densidad estomática y la distribución en respuesta a variables ambientales, diferencias fueron encontradas entre las variedades de ajo (*Allium* sp.), que no fueron significativas entre el tercer y cuarto folio, ni entre las superficies adaxial y abaxial, y de acuerdo a los resultados de estos mismos autores, las hojas con valores más altos de densidad estomática, también mostraron los valores más altos del índice estomático.

de hecho, a menudo es considerada el órgano anatómicamente con mayor plasticidad de la planta e históricamente las adaptaciones de las hojas han sido utilizadas como indicadores de condiciones ambientales adversas (Dickison, 2000a).

Lindorff *et al.* (1991) señalaron que el número de estomas por unidad de superficie fue muy variable; sin embargo, Verdugo *et al.* (1999) consideraron que se ha estudiado muy poco acerca de la regulación de los programas de desarrollo que generan los patrones de densidad y distribución estomática en respuesta a variables ambientales, encontrando diferencias entre los promedios de densidad estomática de variedades de ajo (*Allium* sp.), las cuales no fueron significativas entre la tercera y cuarta hoja, ni entre las superficies adaxiales y abaxiales, y según los resultados de estos mismos autores, las hojas con mayores valores de densidad estomática, también presentaron los mayores valores de índice estomático.

## Conclusiones

Las vitroplantas de zábila presentaron hojas alargadas, arrosetadas, suculentas, alternas. Cutícula delgada con ligeras variaciones de espesor, epidermis uniestratificada, de forma regular, rectangulares o romboides, con paredes rectas, o variadamente onduladas. Las células epidérmicas de las costillas de las hojas presentaron forma puntiaguda. Parénquima homogéneo, células de menor tamaño después de la epidermis, hacia el interior células de gran tamaño, incoloras, presencia

## Conclusions

The aloe vitroplants showed enlarged, rosetted, succulent, and alter leaves; thin cuticle with light variations on thickness, unistratified epidermis, regular shape, rectangular or rhomboid, with right or undulating walls. Epidermal cells of ribs showed sharp shape, homogeneous parenchyma, cells of less size after epidermis, toward inside of higher size cells, colorless, occasional raphides presence. Leaves were classified as amphistomatic, sink and tetracyclic stomas. LS and WS were similar, DS of aloe vitroplants increased in plants developed during acclimatization phase.

*End of english version*

---

esporádica de rafidios. Hojas clasificadas como anfiestomáticas, estomas hundidos, tetracíticos. La LE y AE fue similar, la DE de las vitroplantas de zábila se incrementó en las pencas desarrolladas durante la fase de aclimatización.

## Literatura citada

- Albany, N., J. Vílchez, P. Chacín, O. Ferrer, S. León y M. Molina. 2005. Multiplicación y aclimatación de zábila (*Aloe* sp.). Rev. SABER. Memorias del XVI Congreso Venezolano de Botánica, Suplemento 17:124-126.
- Cañizares, A., M.E. Sanabria, D. Rodríguez y Y. Perozo. 2003. Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre ocho patrones cítricos. Revista

Científica UDO Agrícola 3(1):59-64.

Castillo, S., D. Navarro, P.J. Zapata, F. Guillén, D. Valero, M. Serrano, D. Martínez-Romero. 2010. Antifungal efficacy of *Aloe vera* in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and Technology* 57:183-188.

Contreras, J. 1990. El cultivo de la zábila en Venezuela (Aspectos agroeconómicos-terapéuticos). Vice-rectorado de Producción Agrícola, UNELLEZ. 66 p.

Dickison, W.C. 2000a. Ecological anatomy. pp. 295-337. En: *Integrative Plant Anatomy*. Harcourt, Academic Press. Elsevier Science. USA

Dickison, W.C. 2000b. Genetics and plant breeding. pp. 341-355. En: *Integrative Plant Anatomy*. Harcourt, Academic Press. Elsevier Science. USA

Hokche, O., P.E. Berry y O. Huber. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.

Lindorf, H., L. Parisca y P. Rodríguez. 1991. Botánica. Clasificación, estructura y reproducción. Ediciones de la biblioteca de la Universidad Central de Venezuela. 584 p.

Rodríguez, R., M. Escalona, Y. Rodríguez, M. Cid y J. González. 2000. Aclimatización de plántulas de caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrido) provenientes de sistemas

de inmersión temporal. *Rev. Cultivos Tropicales* 21(3):51-56.

Sanabria, M.E., N. Maciel y D. Bautista. 2005. Efecto de diferentes fotoperiodos sobre la anatomía, el índice y la densidad estomática de la lamina foliar de *Heliconia latispatha* Benth. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* 48:5-9.

Vegetti, A.C., J.C. Tivano, A.I. Amsler y M.G. Perreta. 2004. La hoja en las liliópsidas. pp. 89-120. En: *La hoja: Morfología externa y anatomía*. Blanco C.A., T.A. Kraus, A.C. Vegetti (Eds.). Universidad Nacional de Río Cuarto. Universidad Nacional del Litoral.

Verdugo, V., A. Rojas, A. de León, B. Zambrano, S. Barrios, E. León, B. Ríos y A. Benavides. 1999. Estimación del índice estomático y la frecuencia estomática en cuatro variedades de ajo (*Allium sativum* L.). Curso de Fisiología de hortalizas. Maestría en horticultura. UAAAN, Saltillo. Coahuila, México. <http://www.geocites.com/CapeCanaveral/Runway/8787/estomajo.htm> (20 de septiembre de 2009).

Xu, F.G., Y. Liu, Z.J. Zhang, R. Song, H.J. Dong y Y. Tian. 2008. Rapid simultaneous quantification of five active constituents in rat plasma by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry after oral administration of *Da-Cheng-Qi* decoction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 47:586-595.