

Establecimiento de una metodología eficiente para el cultivo *in vitro* de *Aloe vera* L.

Ángela Matos*, Julia Molina y Délima Acosta

Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia.
Apdo. 526. Maracaibo, Venezuela.

Recibido: 02-11-98 Aceptado: 23-10-00

Resumen

La Zábila (*Aloe vera* L.) es una de las especies de mayor importancia económica y medicinal en nuestro país. Sin embargo, el cultivo de esta planta hasta ahora ha presentado bajos rendimientos debido a una velocidad de propagación muy lenta para su producción comercial. El objetivo del presente estudio es establecer una metodología eficiente para el cultivo *in vitro* de Zábila para lo cual se probaron tres tratamientos de desinfección, siendo el más exitoso el lavado de los explantes con agua corriente y jabón azul, luego el lavado con agua destilada, y Gerdex durante 20 minutos, y finalmente solución de cloro al 15% por 20 minutos, el enjuague con agua destilada estéril 3 veces. Con este tratamiento de desinfección se obtuvo el más bajo porcentaje de contaminación (24%) en comparación con los otros dos tratamientos que presentaron un 80% y un 30%. El tipo de explante más adecuado es la yema apical de plantas jóvenes, mientras que el medio de cultivo de Murashige y Skoog donde se observó el mayor número de brotes fue el suplementado con 1mg/L de AIA y 5 mg/L de BAP.

Palabras clave: *Aloe vera* L.; cultivo *in vitro*; zábila.

Establishment of an efficient methodology for *in vitro* cultivation of *Aloe vera* L.

Abstract

The Zabila (*Aloe vera* L.) is a medicinal and important commercial plant in Venezuela. However, the cultivation of this plant has presented low yield due to a very slow propagation speed for its commercial production. The aim of this study is to establish an efficient methodology for *in vitro* cultivation of Zabila. The best disinfection treatment to sterilize the explants was: first, the washing of these with TAP water and blue soap. Second, the washing with distilled water and Gerdex during 20 minutes. Third, the washing with a chorine solution (15%) for 20 minutes and finally the rinsing with sterile distilled water for 3 times. With this treatment, the lowest percentage of contamination was obtained (24%). The most adequate explant was the apical bud from young plants and the best cultivation medium was the Murashige and Skoog, supplemented with 1 mg/L of AIA and 5mg/L of BAP. This medium induced a greater number of shoot growths.

Key words: *Aloe vera*; *in vitro* cultivation; zabila.

* Autor para la correspondencia. Fax: 061-515390. E-mail: angelam@telcel.net.ve

Introducción

La Zábila (*Aloe vera* L.) es un miembro de la familia Liliaceae (1,2). Es una planta exótica, estolonífera, mediterránea, nativa del norte de África (2). En Venezuela es muy común en las regiones xerofíticas de los Estados Zulia y Falcón, frecuentes en patios y jardines (2, 1). Es una planta acaule o casi acaule (1). Consiste en una roseta basal de hojas erguidas, suculentas, gruesas, angosto-lanceoladas, de 30-60 cm de largo, con márgenes espinosas (2, 1). Las flores son amarillas, de unos 2,5 cm de largo, agrupadas en racimos sobre un pedúnculo erguido de más o menos un metro de alto (1).

La Zábila es una de las especies de mayor importancia económica y medicinal en nuestro país. Sin embargo, el cultivo de esta planta hasta ahora ha presentado bajos rendimiento debido a una velocidad de propagación muy lenta para su producción comercial (3).

El cultivo de tejidos se ha convertido en una de las alternativas tecnológicas más utilizadas para conseguir una propagación clonal rápida en plantas cuyos cultivos presentan bajos rendimientos como el caso de la Zábila. Debido a ello, es necesario ensayar técnicas de cultivo *in vitro* con el fin de establecer las más adecuadas para la obtención de vitroplantas.

En este sentido, el cultivo *in vitro* de tejidos es uno de los más utilizados debido a la totipotencialidad de las células, ya que, en general, con un manejo adecuado de las condiciones nutricionales, hormonales y ambientales, tienen la capacidad de desarrollar brotes, raíces, embriones, etc., los cuales pueden llegar a formar plántulas completas (4).

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar una metodología eficiente para el cultivo *in vitro* de *Aloe vera* L. Con esto se lograría incrementar la población de plantas y abaratar los costos por unidad. Además, se tendría la posibilidad, en un futuro de in-

troducir el producto a mercados internacionales.

Materiales y Métodos

El material vegetal consistió de plantas jóvenes de Zábila obtenidas de los jardines de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia, en Maracaibo, Venezuela. Para la micropropagación de zábila se utilizaron dos tipos de explantes: Yemas axilares y Yemas apicales.

Los dos tipos de explantes se esterilizaron utilizando los siguientes métodos de desinfección:

Esterilización

Tratamiento 1: Lavado con agua corriente, luego solución de cloro al 30% durante 20 minutos y finalmente agua destilada estéril una sola vez.

Tratamiento 2: Lavado con agua corriente y jabón azul, luego lavado con Betadine durante 5 minutos y solución de cloro al 30% durante 20 minutos y finalmente enjuague con agua destilada 2 veces para luego aplicar alcohol al 70% durante 30 segundos.

Tratamiento 3: Lavado con agua corriente y jabón azul, luego lavado con agua destilada. Se aplica Gerdex (antibacteriano y antimicótico) durante 20 minutos, después la solución de cloro al 15% durante 20 minutos y finalmente enjuague con agua destilada estéril 3 veces.

Estos tratamientos fueron aplicados a 10 explantas por cada tratamiento.

Propagación

Los dos tipos de explantes fueron sembrados en medio de cultivo Murashige y Skoog (4, 6) suplementado con una mezcla de vitaminas (myo-inositol 1000 mg/100mL; tiamina 1 mg/100 mL; piridoxina 5 mg/100mL; ácido nicotínico 5 mg/100mL), 30% de sacarosa, Gellan 0,2% y 2 mg/L de glicina. El primer (medio 1) contenía

Tabla 1
Tratamientos de Desinfección y Porcentaje
de Explantes Contaminados

Tratamientos de Desinfección	Explantes Contaminados
1	80%
2	30%
3	24%

0,25 mg/L de AIA (ácido indol acético) y 0,5 mg/L de BAP (Benzil Amino Purina), mientras que en el medio 2 se aumentaron las concentraciones de AIA a 1 mg/L y 5 mg/L de BAP. El pH del medio se ajustó a 5,7 y se esterilizó en autoclave por 20 minutos a 121°C. Se dispensaron 25 mL de medio en cada frasco de cultivo. Se sembraron de 2 a 4 explantes para el caso de las yemas axilares y un explante por frasco para yema apical, siendo 10 explantes para cada medio utilizado. Se siguieron todas las normas de asepsia necesarias y se incubaron a 25°C aproximadamente con luz continua (3, 5).

Resultados y Discusión

Después de las dos primeras semanas de la siembra, el 80% de los cultivos que se desinfectaron con tratamiento 1 se contaminaron, con el tratamiento 2 presentaron contaminación el 30% de los cultivos, mientras que con el tratamiento 3 sólo se contaminaron el 24% (Tabla 1). En los tres tratamientos algunos de los frascos presentaron contaminación sólo en uno de los explantes, sin embargo, en pocos días la contaminación afectó todos los explantes. De acuerdo con las características que presentaban los frascos contaminados, se dedujo que era principalmente contaminación con hongos.

En cuanto a las yemas axilares sembradas, a pesar de que algunos sobrevivieron a la contaminación usando los diferentes tratamientos de desinfección y los dos tipos de medio de cultivo, ninguno de estos se regeneró, por lo cual no se observaron brotes.

La razón por la cual los explantes con yemas axilares no sobrevivieron, aunque no estuviesen contaminados, puede deberse al tipo de material vegetal utilizado ya que cabe la posibilidad de que no hubiese ninguna yema axilar en los tejidos cortados y sembrados. Por el contrario, las yemas apicales sembradas dieron origen a regeneración y formación de brotes de color verde tal como se ha reportado anteriormente (3). Sin embargo, los métodos de desinfección y la regeneración de las yemas apicales fueron probados en un primer momento con el medio de cultivo 1. Cuando se observó que existía bajo índice de contaminación pero muy poca regeneración, entonces se pensó que podía deberse a la falta o poca concentración de hormonas de crecimiento. Esto se dedujo tomando en cuenta que algunos de los explantes aunque no desarrollaron brotes, sin embargo, permanecieron de color verde. De esta manera, se aumentaron las concentraciones de AIA y BAP (medio de cultivo 2) con el cual se ha obtenido, hasta ahora un 24% de contaminación y un 76% de regeneración.

Natali *et al* (5) lograron cultivar callos exitosamente de zábila utilizando el medio de cultivo Murashige y Skoog suplementado con 1,1 µM de 2,4-D y 2,3 µM de cinetina. En el presente trabajo no se obtuvieron callos, sólo regeneración a partir de yemas apicales.

Los primeros brotes aparecieron aproximadamente 15 días después de la siembra (Figura 1). Después de 30 días los brotes presentaban 3-4 cm de longitud (Figura 2), posteriormente de 30-45 días los brotes eran pasados a medio fresco. Como el medio de cultivo 2 que contenía 1 mg/L de AIA y 5 mg/L de BAP demostró ser el más adecuado para la regeneración y crecimiento de brotes, se utilizó éste como medio de iniciación o establecimiento (6).

La presencia de BAP contribuye a mantener la habilidad de regeneración de los cultivos por largo tiempo, tal como fue descrito por Natali *et al* (5).

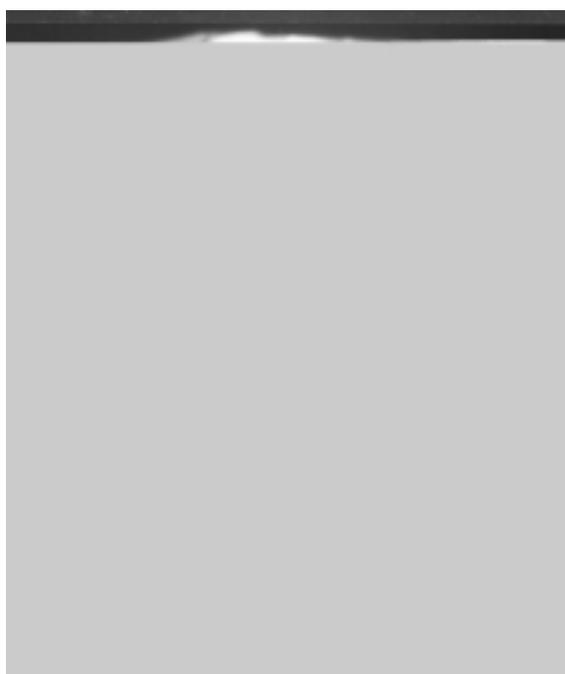


Figura 1. Brotes en *Aloe vera L.* a partir de yema apical. Edad 15 días. Medio de cultivo 2.



Figura 2. Regeneración en *Aloe vera L.* a partir de yemas apicales. Edad 30 días. Medio de cultivo 2. Tratamiento 3.



Figura 3. Planta adulta de *Aloe vera L.* obtenida *in vitro*. Edad 5 meses. Medio de cultivo 2.

El medio utilizado para enraizamiento es el medio Murashige y Skoog sin hormonas, ocurriendo esto en aproximadamente 10 días.

Las plantas fueron transferidas a materos (Figura 3) con una mezcla de suelo y arena en invernadero con un alto índice de supervivencia, aproximadamente el 100%.

Conclusiones

El tratamiento de desinfección número 3 utilizado en la micropropagación de *Aloe vera L.* resultó exitoso si se toma en cuenta el bajo índice de contaminación (24%) obtenido con el mencionado tratamiento.

El tipo de explante más adecuado fue la yema apical. No se observó regeneración en los cultivos realizados utilizando yemas axilares.

El medio de cultivo donde se obtuvo mayor número de brotes regenerados fue el

suplementado con 1 mg/L de AIA y 5 mg/L de BAP (medio de cultivo 2).

El método de micropropagación descrito para *Aloe vera* L. es eficiente para lograr la regeneración rápida de esta planta.

Referencias Bibliográficas

1. SCHNEE L. **Plantas comunes de Venezuela**, Universidad Central de Venezuela, Caracas (Venezuela), pp. 737, 1973.
2. OLIVA ESTEVA F. **Plantas de los jardines de Venezuela**, Ediciones Armitano C.A., Caracas (Venezuela), 1981.
3. MEYER H.J., VAN STADEN J. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 26: 167-171, 1991.
4. HURTADO D., MERINO M.E. **Cultivo de tejidos vegetales**, Editorial Trillas, S.A. de C.V. México, 1991.
5. NATALI L., CASTORENA I., CAVALLINI A. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 20: 711-714, 1990.
6. MOGOLLON DE LUCENA N., GIL DE SERPA M. **Agronomía Tropical** 42: 261-283, 1992.