

Estudio morfológico y citogenético del híbrido experimental *Aloe vera* (L.) Burm. f. x *A. jacksonii* Reyn

Morphological and cytogenetic study in experimental hybrid *Aloe vera* (L.) Burm.f. x *A. jacksonii* Reyn

José del Valle IMERY BUIZA  y Hernán CEQUEA RUÍZ

Laboratorio de Genética Vegetal, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente. AP 245, Cumaná, 6101, Venezuela E-mail: jimeryb@cantv.net  Autor para correspondencia

Recibido: 30/05/2011 Fin de primer arbitraje: 01/02/2012 Primera revisión recibida: 14/03/2012
Fin de segundo arbitraje: 14/05/2012 Segunda revisión recibida: 02/06/2012 Aceptado: 26/06/2012

RESUMEN

Se evaluaron rasgos morfológicos y citogenéticos en un híbrido obtenido experimentalmente empleando *Aloe vera* como progenitor femenino y *A. jacksonii* como especie donadora de polen, a fin de caracterizar a este nuevo genotipo, determinar sus potencialidades ornamentales y/o agronómicas y aspectos citogenéticos relacionados con su reproducción. Se aplicaron metodologías convencionales de estudios morfométricos en plantas suculentas y protocolos de análisis citogenéticos ya establecidos por los autores. 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 la progenie, siendo las aberraciones meióticas más frecuentes 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 en los tres genotipos evaluados. Aunque fue evidente la superioridad agronómica del parental *A. vera*, la exuberancia de los atributos vegetativos del híbrido artificial le confieren un considerable valor ornamental.

Palabras clave: *Aloe*, cromosomas, microsporogénesis, anomalías.

ABSTRACT

Morphological and cytogenetic features were evaluated in an experimental hybrid obtained using *Aloe vera* as female parent and *A. jacksonii* as pollen donator, to characterize this new genotype, in order to determinate its ornamental and/or agronomic potential, and cytogenetic aspects related to reproduction. Conventional methods to the morphometric study of succulent plants and cytogenetic analysis protocols established by the authors were applied. Progeny showed intermediate expression in most vegetative traits, except for flower color (hybrid = *A. jacksonii*), as well as, number of suckers, number and area of leaf spots, variable in which the hybrid exceeded the expression of both parents. Root tips showed bimodal karyotype $2n=2x=14=8L+6S=2L(sm)+6L(st)+6S(sm)$ in *A. vera*, $2n=4x=28=16L+12S=3L(sm)+13L(st)+3S(m)+9S(sm)$ in *A. jacksonii*, and $2n=3x=21=12L+9S=3L(sm)+9L(st)+1S(m)+8S(sm)$ chromosomes in the hybrid. Abnormalities in more than 50% of the pollen mother cells were identified in the progeny, being more frequent univalents and chromosomal adherence in prophase I, dicentric bridges with or without acentric fragments in anaphase and telophase I-II, and one, two, or three additional microspores. After flowering, no fruit and seeds were observed in all three genotypes. Although it was clear agronomic superiority of *A. vera*, the exuberance of vegetative attributes in artificial hybrid give considerable ornamental value.

Key words: *Aloe*, chromosomes, microsporogenesis, abnormalities.

INTRODUCCIÓN

El género *Aloe* L. comprende unas 400 especies nativas de África, Arabia e islas del Océano Índico (Newton, 2004). Son hierbas, arbustos o árboles, generalmente con tejidos suculentos y de importancia económica por sus atractivos rasgos ornamentales y

usos terapéuticos (Rowley, 1997; Smith y Van Wyk, 2008). Entre estas plantas exóticas, *A. vera* (= *A. barbadensis* Mill.) es bien conocida a nivel mundial por sus propiedades medicinales, aprovechadas por la industria de cosméticos, fármacos y alimentos (Davis, 1997; Imery, 2011). Otros congéneres como *A. jacksonii* se valoran principalmente como plantas

decorativas por su adaptabilidad, escaso tamaño, lento crecimiento y la belleza de sus hojas variegadas y flores rojas de aspecto cremoso (Sajeva y Costanzo, 1994; Smith y Steyn, 2004). Ambas especies de *Aloe* se propagan exclusivamente por vía asexual, son protándricas y autoincompatibles (Imery y Cequea, 2008); no obstante, en ensayos preliminares de cruzamientos recíprocos con múltiples repeticiones (Imery, 2005), se logró una progenie viable, empleando *A. jacksonii* como especie donadora del polen. La necesidad de conocer mejor a este nuevo genotipo conllevó a la realización del presente trabajo, el cual tuvo como objetivo evaluar rasgos morfológicos y citogenéticos que permitieran caracterizar a este híbrido experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon plantas adultas de *A. vera* y *A. jacksonii* cultivadas en el banco de germoplasma de especies suculentas del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente, bajo condiciones ambientales de un bosque muy seco tropical de la ciudad de Cumaná (Venezuela), ubicado a 10°26'32" N y 64°09'14" O. Los ejemplares de *A. jacksonii* (P₂) fueron adquiridos originalmente en viveros locales y los de *A. vera* (P₁) provenían de una población naturalizada en la península de Araya, ubicada a 10°34'15" N y 64°12'08" O (Albornoz e Imery, 2003). Ambas especies fueron identificadas considerando las descripciones morfotaxonómicas de Jacobsen (1955), Carter (1994) y Van Wyk y Smith (1996).

La progenie (H) se logró mediante cruzamientos manuales con polen de *A. jacksonii* sobre estigmas de flores en anthesis de *A. vera*, según Imery *et al.* (2008). Las semillas híbridas fueron sembradas en germinadores plásticos con una mezcla 2:1 de arena gruesa/perlita expandida, bajo condiciones de vivero. A los seis meses, se transplantaron los híbridos a bolsas plásticas con una mezcla de arena y vermiculita cocida en proporción 1:1.

Evaluación morfológica

Una vez alcanzada la fase adulta de la progenie (plantas en floración, Figura 1), se determinaron los siguientes rasgos morfométricos: número de dientes foliares, tamaño de dientes foliares, número de hojas, longitud de las hojas (LH), ancho de las hojas (AH),

espesor de las hojas (EH), volumen de las hojas (VH = $\pi \times LH \times AH \times EH / 12$), ángulo de inserción de las hojas, ángulo entre hojas continuas, número de manchas foliares, área de las manchas foliares, número de hijuelos, número de flores, color de las flores, longitud de la inflorescencia y longitud del segmento floral, según Imery (2007).

Se caracterizaron 10 plantas adultas de cada genotipo (*A. vera*, *A. jacksonii* y progenie). Las variables cuantitativas se procesaron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias entre promedios se sometieron a la prueba de rangos múltiples de Duncan. Todos los análisis estadísticos se realizaron con una probabilidad de 0,05 (Sokal y Rohlf, 1979).

Evaluación citogenética

Los cromosomas mitóticos se estudiaron a partir de láminas temporales preparadas con meristemas de raíces jóvenes colectadas entre las 7:30-8:00 a.m., pretratadas con colchicina (0,05% m/v) por 2 h, fijadas en solución de Carnoy I (3:1 etanol: ácido acético glacial) durante 3 h, hidratadas en agua destilada por 10 min, hidrolizadas con HCl (1N) durante 15 min y 24°C, rehidratadas por 10 min, coloreadas con orceína acética (1,5% m/v) por 4 min y aplastadas suavemente (Imery y Caldera, 2002). Los cromosomas fueron tipificados por tamaño en grandes (L) y pequeños (S) según Brandham (1971) y por la forma de acuerdo al sistema de clasificación de Levan *et al.* (1964). La microsporogénesis se evaluó en botones florales entre 3,8-4,1 mm de longitud, fijados en Carnoy I y coloreando el contenido de una antera con orceína (Imery y Cequea, 2002). Al menos cinco botones florales en meiosis fueron analizados en cada genotipo. Todas las láminas fueron sistemáticamente evaluadas empleando un microscopio Nikon LABPHOT-2. Se tomaron fotomicrografías a 400 X con cámara digital DSC-W110 y las imágenes se analizaron en computadora con el programa SigmaScan Pro 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las variables morfológicas resultaron con diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los genotipos evaluados (P₁: *A. vera*, P₂: *A. jacksonii* y H: híbrido). La progenie se expresó de forma intermedia entre P₁ y P₂ en la mayoría de las características, excepto en el color de la flor (H = P₂), así como para el número de hijuelos, número y área de manchas foliares, en donde el híbrido superó la expresión de ambos parentales

(Cuadro 1, Figura 1). Algunos rasgos de valor ornamental y/o agronómico, entre los que se destacan las dimensiones foliares (largo, ancho, espesor y volumen de las hojas), número de flores, longitud de la inflorescencia y del segmento con flores, mejoraron significativamente en la progenie como consecuencia de la contribución del genoma materno (*A. vera*). En estos casos, la magnitud de las mejoras estuvieron entre 1,37 a 5,42 veces por encima de la expresión del progenitor *A. jacksonii* (parental de menor tamaño).

Las células meristemáticas subapicales presentaron cariotipos bimodales y clasificación cromosómica (Levan *et al.*, 1964) descritos por las fórmulas $2n=2x=14=8L+6S=2L(sm)+6L(st)+6S(sm)$ en P_1 con ocho cromosomas grandes (L) de 12,1-14,4 μm y seis cromosomas pequeños (S) de 4,3-5,2 μm , $2n=4x=28=16L+12S=3L(sm)+13L(st)+3S(m)+9S(sm)$ en P_2 con 16 cromosomas L de 12,6-15,2 μm y 12 cromosomas S de 4,6-5,9 μm , y $2n=3x=21=12L+9S=3L(sm)+9L(st)+1S(m)+8S(sm)$ en el híbrido con 12 cromosomas L de 12,3-15,4 μm y nueve cromosomas S de 4,5-6,1 μm (Figura 2). Durante la microsporogénesis se observaron anomalías cromosómicas en más del 50% de los meiocitos. Las aberraciones meióticas más frecuentes fueron univalentes y adherencia cromosómica en profase I, puentes dicéntricos acompañados o no con fragmentos acéntricos en anafase I y II, ocasionalmente persistentes en profase II, puentes,

fragmentos y micronúcleos en telofase I y II, una, dos o tres microsporas adicionales de tamaño variable (microcitos) al final de la microsporogénesis (Figura 3). Al igual que sus parentales, el híbrido no presentó frutos ni semillas luego de varios periodos de floración, atribuible a la segregación desigual de los homólogos en anafase I, la disminución de la fertilidad debido a las anomalías genéticas observadas en meiosis y a las barreras reproductivas preexistentes en ambos progenitores (Imery y Cequea, 2002, 2008; González, 2008).

La variación del número de juegos cromosómicos mediante la inducción de autoploidía, así como el cruzamiento entre especies con diferentes niveles de ploidía o la duplicación de genomas luego de la hibridación interespecífica para la obtención de anfidiplóides, conllevan generalmente a la producción de tejidos más robustos y pigmentaciones más intensas (Molina y García, 1999). No obstante, en este trabajo el nivel de ploidía de los parentales no se correlaciona con la acumulación de biomasa vegetativa, debido a que el parental diploide (*A. vera*) presenta un volumen foliar muy superior al tetraploide (*A. jacksonii*), por lo que la exuberancia en la expresión de los rasgos vegetativo observada en la progenie triploide se le atribuye principalmente a la aditividad de genes particulares que controlan la expresión de estos atributos vegetativos, heredados de *A. vera*.

Cuadro 1. Atributos morfológicos evaluados en plantas adultas de la progenie y sus parentales *Aloe vera* y *A. jacksonii*, bajo condiciones de vivero en Cumaná, Venezuela.

Rasgo\Genotipo	P_1 (<i>A. vera</i>)	P_2 (<i>A. jacksonii</i>)	H (Híbrido)	P_1/P_2	H/ P_1	H/ P_2
Número dientes foliares	35,3 ± 1,9 ^a	31,5 ± 3,2 ^b	30,7 ± 2,4 ^b	1,12	0,87	0,97
Tamaño dientes foliares (mm)	2,3 ± 0,3 ^a	1,0 ± 0,1 ^c	1,9 ± 0,2 ^b	2,30	0,83	1,90
Número de hojas	27,8 ± 2,1 ^a	7,6 ± 0,7 ^c	14,6 ± 1,1 ^b	3,66	0,53	1,92
Longitud hojas (cm)	57,5 ± 1,1 ^a	15,2 ± 1,2 ^c	26,4 ± 1,0 ^b	3,78	0,46	1,74
Ancho hojas (cm)	9,1 ± 0,6 ^a	1,2 ± 0,1 ^c	2,5 ± 0,1 ^b	7,58	0,27	2,08
Espesor hojas (cm)	2,8 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,1 ^c	1,4 ± 0,1 ^b	3,11	0,50	1,56
Volumen hojas (cm ³)	377,7 ± 36,5 ^a	4,3 ± 0,6 ^c	23,3 ± 2,1 ^b	87,84	0,06	5,42
Ángulo inserción hojas (°)	30,6 ± 4,1 ^c	85,8 ± 3,9 ^a	65,3 ± 2,8 ^b	0,36	2,13	0,76
Ángulo hojas continuas (°)	81,8 ± 5,4 ^c	118,5 ± 12,9 ^a	95,8 ± 6,4 ^b	0,69	1,17	0,81
Número manchas foliares	0,0 ± 0,0 ^c	24,5 ± 2,9 ^b	98,6 ± 7,7 ^a	0,00	∞	4,02
Área manchas foliares (mm ²)	0,0 ± 0,0 ^c	0,9 ± 0,2 ^b	2,8 ± 0,4 ^a	0,00	∞	3,11
Número de hijuelos	18,8 ± 3,4 ^b	5,4 ± 2,2 ^c	21,3 ± 4,8 ^a	3,48	1,13	3,94
Color flores	Amarillo	Rojo	Rojo	-	-	-
Número flores	206,5 ± 20,6 ^a	42,3 ± 6,0 ^c	104,1 ± 11,3 ^b	4,88	0,50	2,46
Longitud inflorescencia (cm)	102,8 ± 11,2 ^a	41,6 ± 5,2 ^c	65,2 ± 6,8 ^b	2,47	0,63	1,57
Longitud segmento floral (cm)	39,6 ± 4,5 ^a	14,4 ± 2,1 ^c	19,7 ± 3,5 ^b	2,75	0,50	1,37

Los valores indican promedio ± desviación estándar con n = 10 individuos provenientes de clones separados. Letras distintas indican promedios estadísticamente diferentes entre genotipos. Prueba de rangos múltiples de Duncan ($\alpha=0,05$).

Varios estudios reproductivos han referido que las plantas promueven su propagación vegetativa en respuesta a adversidades ambientales, como mecanismo fisiológico que les permite reducir el

gasto energético requerido para la gametogénesis (Clarke, 1995). Otras especies vegetales se ven obligadas a propagarse asexualmente debido a la existencia de alteraciones cromosómicas (deleciones,

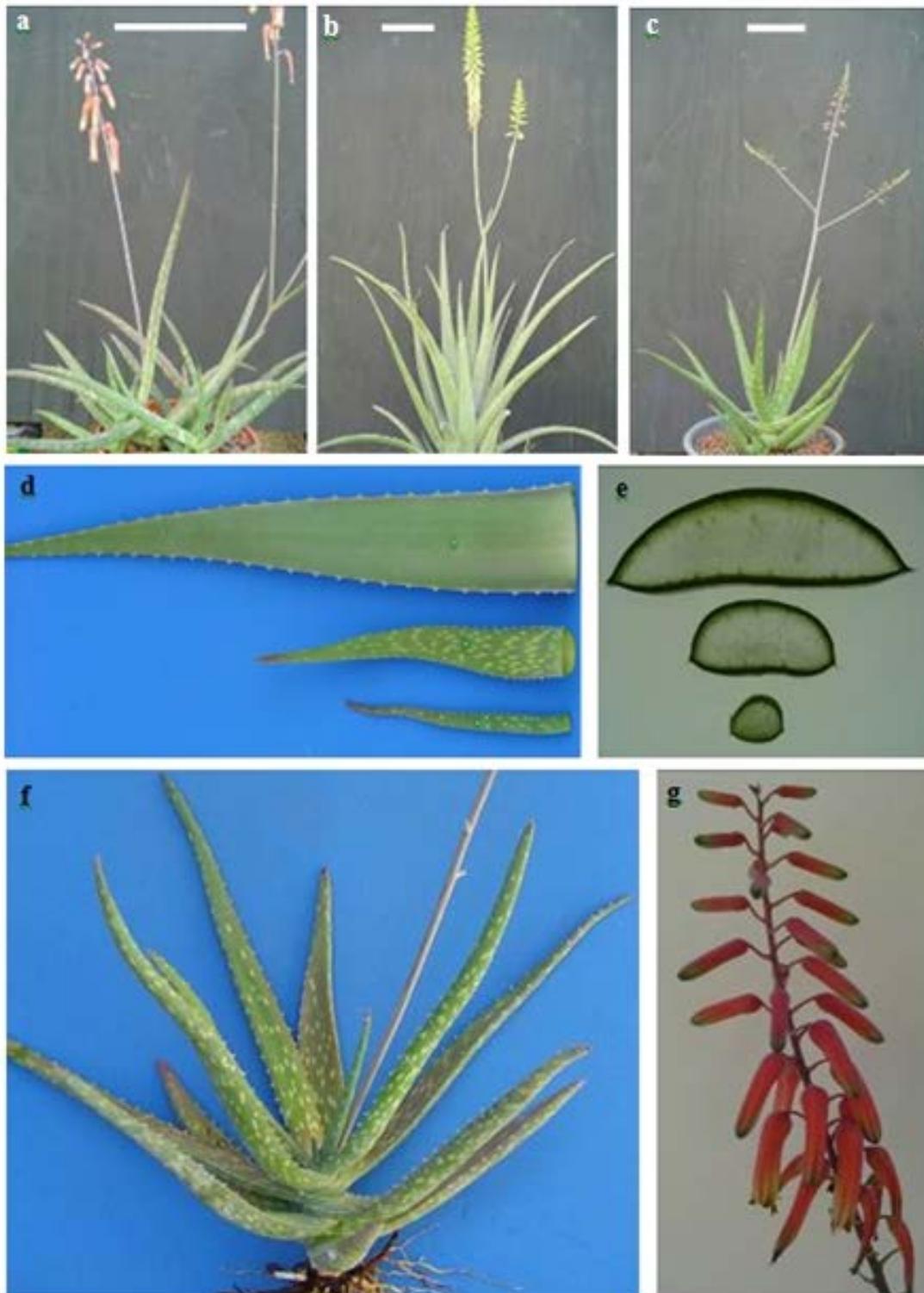


Figura 1. Rasgos vegetativos del híbrido y sus parentales *Aloe jacksonii* y *A. vera*. a) *A. jacksonii*, b) *A. vera*, c) híbrido (barra = 10 cm). Detalles de superficie adaxial (d) y corte trasversal (e) en hojas de *A. vera* (superior), híbrido (medio) y *A. jacksonii* (inferior). Híbrido en floración (f) y detalles florales (g).

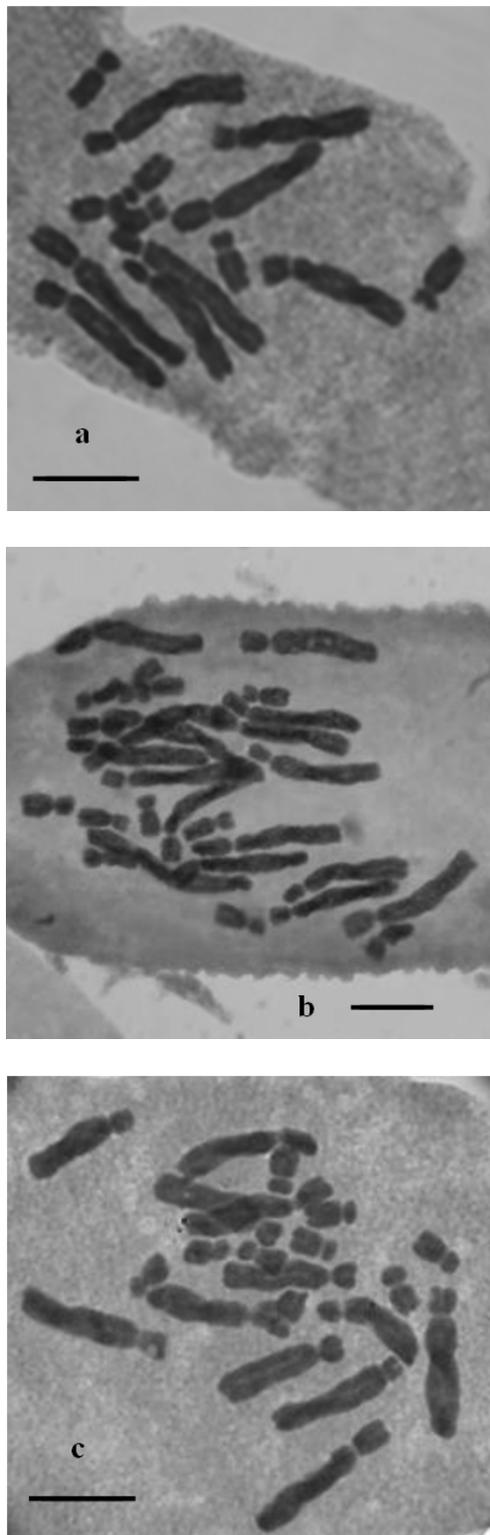


Figura 2. Cromosomas mitóticos en células meristemáticas subapicales de *Aloe vera* (a), *A. jacksonii* (b) y progenie experimental (c). Cariotipos bimodales con cromosomas grandes (L) y pequeños (S). Barra = 10 μ m.

inversiones y translocaciones), transmitidas desde sus progenitores, ya sea porque estaban presentes en sus genomas o porque se originaron durante la formación de sus células sexuales (Darlington, 1963; Swamy y Krishnamurthy, 1980; Imery, 2012). Por otra parte, cuando el número de cromosomas en los progenitores es diferente, el cariotipo de la progenie puede resultar con un número impar de cromosomas, lo cual también afecta negativamente su fertilidad (Briggs y Knowles, 1977; Lacadena, 1996; Poehlman y Allen, 2005). En este sentido, la ausencia de frutos y semillas en la progenie evaluada en este trabajo, puede ser el resultado de la combinación de este tipo de situaciones genéticas, que explican la observación de univalentes, puentes, fragmentos, micronúcleos y microcitos durante la evaluación de su microsporogénesis y que posiblemente promueven la formación de una gran cantidad de hijuelos. Siendo este híbrido triploide ($2n=3x=21$) el resultado de la fusión de gametos $n=x=7$ (aportado por P_1) y $n=2x=14$ (aportado por P_2), se espera entonces que en las anteras de plantas híbridas se observen trivalentes o univalente/bivalentes como consecuencia del apareamiento entre homólogos; no obstante, de cualquier modo, se reducirá la fertilidad debido a la desigualdad en el desplazamiento de homólogos impares hacia ambos polos meióticos (Sharma y Sharma, 1999; Singh, 2003).

Los puentes, fragmentos, micronúcleos y microsporas adicionales son frecuentes en especies de *Aloe* con inversiones paracéntricas heterocigóticas, fusiones entre cromátidas hermanas y errores de apareamiento entre homólogos (Riley y Majumdar, 1979), alteraciones cromosómicas que permanecen en una fracción de los descendientes sexuales, pero que pueden estar presentes en clones que se conformaron por propagación vegetativa a partir de individuos portadores (caso de las poblaciones de *A. vera* del oriente de Venezuela) (Imery, 2011).

Los fragmentos cromosómicos presentes individualmente o vinculados a puentes dicéntricos durante anafase/telofase podrían ser los responsables de la formación de micronúcleos adicionales que incrementan definitivamente el número de microsporas al final de la meiosis y que ocasionan deficiencias génicas. Estos eventos meióticos reducen la fertilidad del polen y disminuyen las posibilidades de reproducción sexual, aunado a otras barreras reproductivas como la protandria y autoincompatibilidad, ya reportadas en especies de *Aloe* y algunos híbridos (Imery y Cequea, 2008; Smith y Van Wyk, 2008; Imery, 2011).

La caracterización morfométrica de la progenie revela un considerable valor ornamental en este nuevo genotipo y la posibilidad de incorporarlo como un modelo para el estudio de anomalías

cromosómicas en meiosis, herencia de rasgos de valor ornamental y/o de importancia agronómica o para futuros cruzamientos en la búsqueda de nuevos genotipos e investigaciones complementarias.

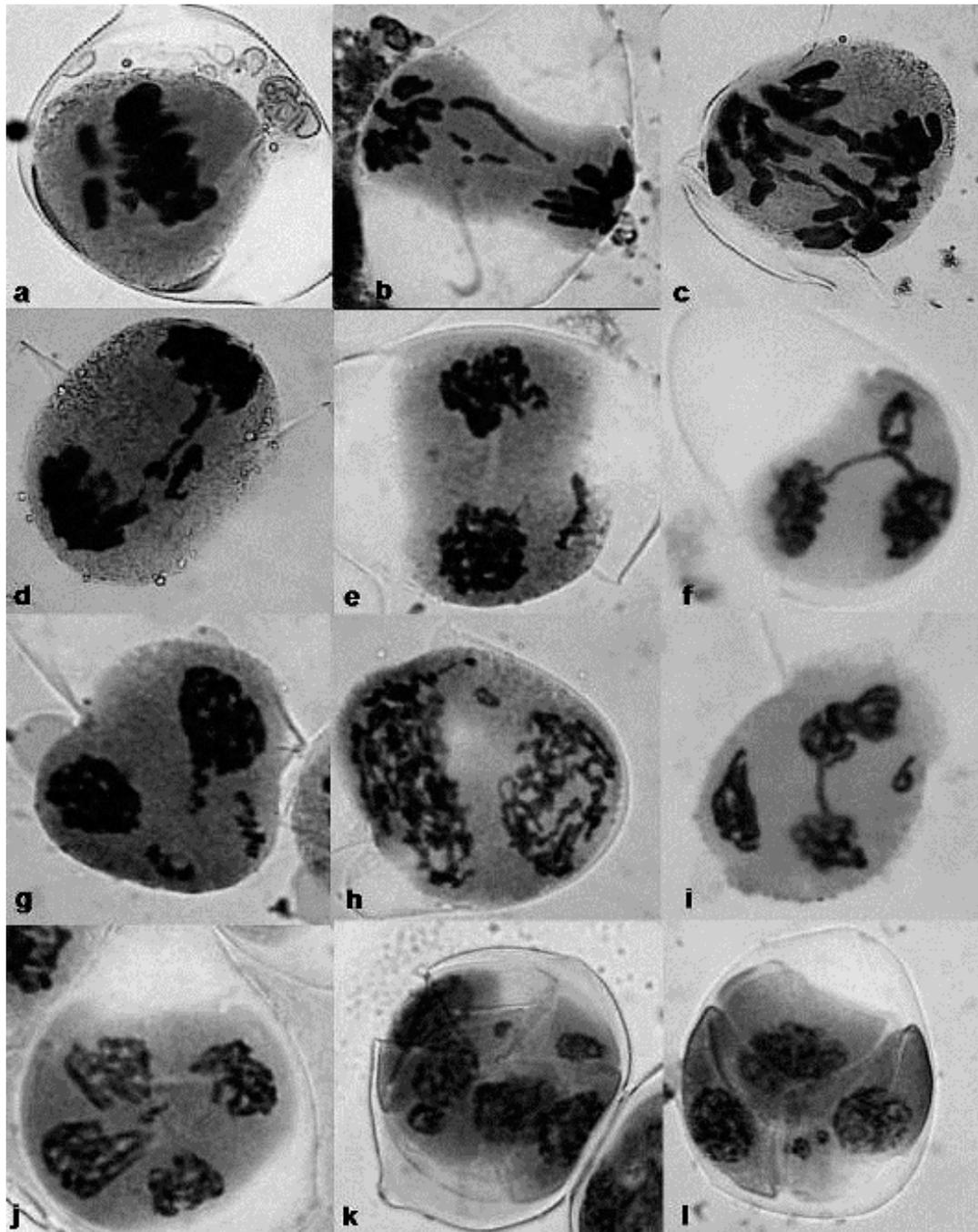


Figura 3. Anormalidades meióticas más frecuentes en el híbrido *Aloe vera* x *A. jacksonii*. a) Univalentes en metafase I; b,c,d) puentes y fragmentos en anafase I; e) fragmento en telofase I; f,g) puentes y fragmentos en telofase I; h) fragmento en profase II; i) puentes y fragmentos en telofase II; j) fragmento en telofase II; k,l) microsporas adicionales (microcitos) al final de microsporogénesis.

CONCLUSIÓN

La mayoría de los atributos vegetativos de importancia agronómica se manifestaron de forma intermedia en el híbrido experimental *A. vera* x *A. jacksonii*; no obstante, la configuración de las hojas y flores en esta progenie le confieren elevado valor ornamental. Se confirmó el cariotipo esperado en el híbrido triploide ($2n=3x=21=12L+9S$) y en los parentales *A. vera* ($2n=2x=14=8L+6S$) y *A. jacksonii* ($2n=4x=28=16L+12S$). Aunque el desbalance en el número de cromosomas somáticos y la elevada frecuencia de anomalías meióticas presentes en la progenie limitan sus oportunidades de reproducción sexual, es evidente que la gran cantidad de hijuelos promueve la propagación de este nuevo genotipo.

LITERATURA CITADA

- Albornoz, A. R. y J. Imery. 2003. Evaluación citogenética de ocho poblaciones de *Aloe vera* L. de la península de Araya-Venezuela. *Ciencia (LUZ)* 11 (1): 5-13.
- Brandham, P. 1971. The chromosome of the Liliaceae. III. Polyploidy and karyotype variation in the Aloineae. *Kew Bull.* 25: 381-399.
- Briggs, F. N. and P. F. Knowles. 1977. Introduction to plant breeding. Reinhold Pub. Corp. New York, USA. 426 p.
- Carter, S. 1994. Flora of tropical east Africa. Aloaceae. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 61 p.
- Clarke, M. 1995. Symposium on vegetative propagation. *Cactus and Succ. J. (U.S.)* 67: 327-328.
- Darlington, C. 1973. Chromosome botany and the origins of cultivated plants. 3ed. George Allen and Unwin Ltd. London, U.K. 237 p.
- Davis, R. H. 1997. *Aloe vera*: a scientific approach. Vantage, New York, USA. 321 p.
- González, J. E. 2008. Microsporogénesis de cinco especies de *Aloe* L. (Aloaceae). Trabajo de Grado. Licenciado en Biología. Universidad de Oriente, Escuela de Ciencias. Cumaná, Venezuela. 64 p.
- Imery, J. 2005. Cruzabilidad unidireccional en *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Aloaceae). LV AsoVAC. Caracas. *Acta Cient. Venez.* 56 (Supl. 1): 15.
- Imery, J. 2007. Caracterización genética de parentales e híbridos diploides (VS) y triploides (VVS) entre *Aloe vera* (L.) Burm. f. (2V y 4V) y *Aloe saponaria* Haw. (2S) (Aloaceae). Tesis doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. 188 p.
- Imery, J. 2011. *Aloe vera*. In: Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement. Medicinal Plant, Volume 6, R. Singh (Ed.). CRC Press. Boca Ratón, USA, p: 849-886.
- Imery, J. 2012. Biología, cultivo y mejoramiento genético de *Aloe vera* (L.) Burm. f. Trabajo de ascenso a Profesor Titular. Departamento de Biología. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 89 p.
- Imery, J. y H. Cequea. 2002. Anormalidades cromosómicas en la microsporogénesis de *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Aloaceae). *Acta Bot. Venez.* 25 (2): 143-152.
- Imery, J. y H. Cequea. 2008. Autoincompatibilidad y protandria en poblaciones naturalizadas de *Aloe vera* de la península de Araya, Venezuela. *Polibotanica* 09 (2): 113-125.
- Imery, J.; M. B. Raymúndez and A. Menéndez. 2008. Karyotypic variability in experimental diploid and triploid hybrids of *Aloe vera* x *A. saponaria*. *Cytologia* 73 (3): 305-311.
- Imery, J. y T. Caldera. 2002. Estudio cromosómico comparativo de cinco especies de *Aloe* (Aloaceae). *Acta Bot. Venez.* 25 (1): 47-66.
- Jacobsen, H. 1955. Succulent plants. Description, cultivation and uses of succulent plants, other than cacti (authorized translation by Higgins, V.). Ernest Benn Limited. London, UK. 293 p.
- Lacadena, J. R. 1996. Citogenética. Edit. Complutense. Madrid, España. 931 p.
- Levan, A.; K. Fridga and A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Molina, M. C. and M. D. García. 1999. Influence of ploidy levels on Phenotypic and cytogenetic traits in maize and *Zea perennis* hybrids. *Cytologia* 64: 101-109.

- Newton, L. 2004. *Aloe* in habitat. *In: Aloes, the genus Aloe*, T. Reynolds (Ed.). CRC Press. Boca Ratón, USA, p: 3-14.
- Poehlman, J. M. y D. Allen. 2005. Mejoramiento genético de las cosechas. 2ed. Edit. Limusa. México. 511 p.
- Riley, H. P. and S. K. Majumdar. 1979. The Aloineae; a biosystematic survey. University Press. Lexington, Kentucky, USA. 180 p.
- Rowley, G. D. 1997. A history of succulent plant. Strawberry Press. California, USA. 409 p.
- Sajeva, M. and M. Costanzo, M. 1994. Succulents. The illustrated dictionary. Timber Press. Oregon, USA. 192 p.
- Sharma, A. K. and A. Sharma. 1999. Plant chromosomes. Harwood Academic Pub. Calcutta, India. 371 p.
- Singh, R. J. 2003. Plant cytogenetics. 2ed. CRC Press. Boca Ratón, USA. 463 p.
- Smith, G. F. and E. M. A. Steyn. 2004. Taxonomy of Aloaceae. *In: Aloes, the genus Aloe*, T. Reynolds (Ed.). CRC Press. Boca Ratón, USA, p: 15-36.
- Smith, G. F. and B. Van Wyk. 2008. Aloes in Southern Africa. New Holland Pub. Cape Town, South Africa. 136 p.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1979. Biometría, principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Blume. Madrid, España. 834 p.
- Swamy, B. and K. Krishnamurthy. 1980. From flower to fruit, Embryology of flowering plants. Tata McGraw-Hill Pub. Company. New Delhi, India. 205 p.
- Van Wyk, B. E. and G. Smith. 1996. Guide to the Aloes of South Africa. Briza Publications. Pretoria, South Africa. 302 p.