

Instructivo Técnico para la Producción de Ajo-Semilla de Alta Calidad Fitosanitaria Mediante el Empleo de Técnicas Biotecnológicas

Introducción

El ajo (*Allium sativum* L.), fue domesticado por el hombre para ser usado primero como condimento y luego como planta medicinal. Su centro de origen es Asia Central (Kazajastán, Uzbekistán y Turkmenistán) y se ha encontrado silvestre en las montañas Altaicas de Siberia y en la parte sur del macizo de los Urales, cerca de donde se une el Volga con el Mar Caspio, de donde se expandió hacia Egipto y China. Se introdujo en América por los conquistadores españoles probablemente a través de México, desde donde fue diseminado hasta Chile por el Sur y posteriormente fue introducido en el hemisferio Norte, donde constituye en la actualidad un cultivo de importancia económica.

En Cuba, esta especie fue introducida desde principios del siglo XIX, se encuentra en algunas localidades de La Habana y en la actual provincia de Sancti Spiritus, cultivándose años más tarde en todo el país; junto a la cebolla y el ají son los condimentos indispensables en casi todas las recetas.

El nombre romano del ajo es *Allium* y *sativum* proviene del latín y quiere decir cultivado. Es una especie que depende de las condiciones termofotoinductoras y se encuentra distribuida desde el Ecuador hasta los 40°LS y desde el nivel del mar hasta los 3 700 m.s.n.m., lo que demuestra su amplia capacidad de adaptación.

Esta hortaliza presenta una interesante variabilidad en materiales cultivados en el mundo, diferenciándose en madurez, dormancia, requerimientos de frío, tamaño del bulbo y número de bulbillos, color de la hoja protectora, facilidad de emitir vara floral, entre otras. No se conoce cuánta variabilidad fue seleccionada cuando *Allium sativum* o su ancestro todavía se multiplicaba sexualmente o cuánto ha surgido por muta-

ciones en las yemas luego de que se convirtiera en una planta exclusivamente agámica y estéril. El presunto ancestro, *Allium longicuspi*, es también es de reproducción asexual y no tiene semillas viables.

Es un cultivo ampliamente utilizado como ingrediente fundamental en diversos alimentos, ya que tiene un alto contenido de sólidos (36 - 40 %) y cantidades adecuadas de vitamina C (15.6-20.5 mg %); también fue popularizado como planta medicinal, recomendada y empleada contra distintas enfermedades, ya que se ha demostrado científicamente la acción bactericida de sus sustancias fitocidas presentes en sus aceites esenciales (0.06-0.19 %), que de su cantidad depende el gusto picante y su acción bactericida, éstos matan o detienen el desarrollo de bacterias tuberculosas, tíficas, disintéricas, diftéricas, coléricas y muchas otras. Se usa como tratamiento preventivo contra la arterioesclerosis, catarro, asma, tuberculosis, trastornos del sistema digestivo, además previene los coágulos y disuelve el colesterol, es muy beneficioso para los varicoseles y las hemorroides.

Principales características botánicas

El ajo es una planta anual de reproducción vegetativa, que al finalizar su ciclo de vida muere, quedando con vida las yemas que se forman en los dientes, mediante las cuales realiza su reproducción. Su sistema radical es de tipo barba; las raíces son adventicias, blancas y crecen del tallo verdadero, alcanzan una profundidad de 5-45 cm.

El tallo es muy corto, se encuentra en la base de la planta y muere totalmente al final del ciclo vegetativo. Las hojas se forman después de terminado el estado de reposo de los dientes y constan de limbo y vaina en

forma de canal. En el bulbo se acumulan las sustancias nutritivas; las túnicas externas envuelven el bulbo entero y las internas a los dientes, estos últimos se componen de: túnica apergaminada, túnica carnosa, yema y tallo verdadero. Además, pueden ser simples (una sola yema) o compuestos (dos o más yemas) y su número en el bulbo varía en dependencia del genotipo o clon.

Genotipos o clones

Se cultivan fundamentalmente dos clones: 'Criollo' y 'Vietnamita'.

- **'Criollo':** Es un genotipo con muy buena adaptación a las condiciones climáticas del país, sus bulbos pueden ser de diferentes tamaños, aunque por lo general se clasifican de pequeños a medianos; el número de dientes varía entre 15 - 30 aproximadamente y con frecuencia tiende a formar dientes compuestos. El ciclo vegetativo es aproximadamente de 150 días aunque a veces se reduce hasta 130 días. Con el término de ajo 'Criollo' se conocen en Cuba diferentes clones que se fueron mezclando a través del tiempo.
- **'Vietnamita':** Es un genotipo que se introdujo en el país en la década del 80, que se ha adaptado muy bien al clima de Cuba. Los bulbos por lo general son de forma irregular y de tamaño de medianos a grandes; el número de dientes oscila entre 8 - 10 aproximadamente. Su ciclo vegetativo oscila entre 115 - 120 días.

Principales plagas y enfermedades que afectan el cultivo

Entre las plagas y enfermedades que más afectan el cultivo se encuentran el nemátodo *Ditylenchus dipsaci* y los hongos *Penicillium corymbiferum*, *Alternaria porri* y *Sclerotium cepivorum* y los virus que pueden provocar pérdidas económicas en el rendimiento del 50 % o más, esto se debe a que la contaminación atribuida antiguamente a un solo virus, se produce por lo general por un complejo viral compuesto por lo menos por dos o más carlavirus y potyvirus, entre los que se encuentran: virus del mosaico del ajo (GMV), virus latente del ajo (GLV), virus del estriado amarillo del ajo (GYSV), virus latente del clavel (CLV), virus latente del chalote (SLV), virus del estriado amarillo del puerro (LYSV) y virus del enanismo amarillo de la cebolla (OYDV). Este último es el más difícil de erradicar.

El combate ante las plagas y las enfermedades es muy importante y en ocasiones la aplicación de productos químicos resulta eficiente, pero contra los virus sólo se pueden erradicar mediante el empleo de técnicas biotecnológicas (saneamiento, diagnóstico y propagación *in vitro* de los mejores genotipos) y con un posterior manejo adecuado de la semilla, se obtienen rendimientos superiores.

Factores a tener en cuenta para iniciar los trabajos de cultivo *in vitro*

- **Selección del explante:**

Prácticamente se puede utilizar cualquier porción o parte de la planta; para iniciar los trabajos de cultivo *in vitro*. Generalmente, se emplean plantas sanas y vigorosas y dentro de éstas, las zonas que se encuentran en activa división, como los meristemos y ápices caulinares son los más empleados aunque también se utilizan secciones de ápice, hojas jóvenes de vitroplantas y explantes directamente del diente. Pero este último primero debe desinfectarse.

- **Desinfección:**

Diversos compuestos químicos se utilizan para desinfectar superficialmente los explantes. Los dientes se lavan con agua y detergente comercial, se enjuagan con agua corriente. Posteriormente, en el flujo laminar, se elimina la hoja de protección y el disco basal, se sumergen en etanol 70 % unos segundos y posteriormente se pasan a una solución de hipoclorito de calcio 5 %-20' o con NaOCl 10 %-15' con 5 % de Cl_2 activo, en ambos casos se le adicionaron dos gotas de Tween 20 y finalmente, se enjuagaron con agua destilada estéril tres o cuatro veces y se colocaron sobre papel de filtro estéril para extraerle la humedad adherida.

- **Medio de cultivo:**

El medio de cultivo universalmente empleado es el de Murashige y Skoog (1962), que se identifica con las siglas MS con diferentes variaciones en los reguladores del crecimiento y en sus concentraciones, según la fase o etapa en que se desarrolla la vitroplanta, aunque también se utiliza con menos frecuencia, el medio de Gamborg. *et al.* (1968) (B₅).

Saneamiento

Se pueden emplear diferentes técnicas como son:

Cultivo de meristemos: Los meristemos son tejidos perpetuamente jóvenes que están en constante división celular y que intervienen primariamente en el crecimiento de la planta. En general, se considera que la obtención de plantas libres de virus por este método puede encontrar fundamentación en que los meristemos se encuentran en constante división celular con la que compite desfavorablemente el patógeno. El éxito varía en dependencia de la variedad o clon, tipo de virus a erradicar, tamaño del meristemo (0.3 mm, aproximadamente), medio y condiciones de cultivo.

Termoterapia: La hipótesis de la inactivación de los virus por efecto de altas temperaturas se basa en que la síntesis de los virus y su degradación ocurren simultáneamente, y las altas temperaturas cambian el balance de la síntesis a la degradación del virus, lo que resulta en una eventual erradicación. Los mejores resultados se alcanzan cuando las plantas madres o bulbos se tratan con calor antes de extraer los meristemos, y que de esta forma la mayoría de los virus pueden eliminarse.

Electroterapia: Es un método mediante el cual se le suministra corriente eléctrica al diente de ajo. Se han probado diferentes voltajes e intervalos de tiempo, que varía en dependencia del genotipo. Esta técnica permite posteriormente cuando se extrae el meristemo que este sea de mayor tamaño (0.4 a 0.7 mm) y por consiguiente un mayor porcentaje de establecimiento de los explantes

Después de la introducción *in vitro* de los explantes es imprescindible conocer el estado de sanidad de las plántulas que se originaron.

Diagnóstico

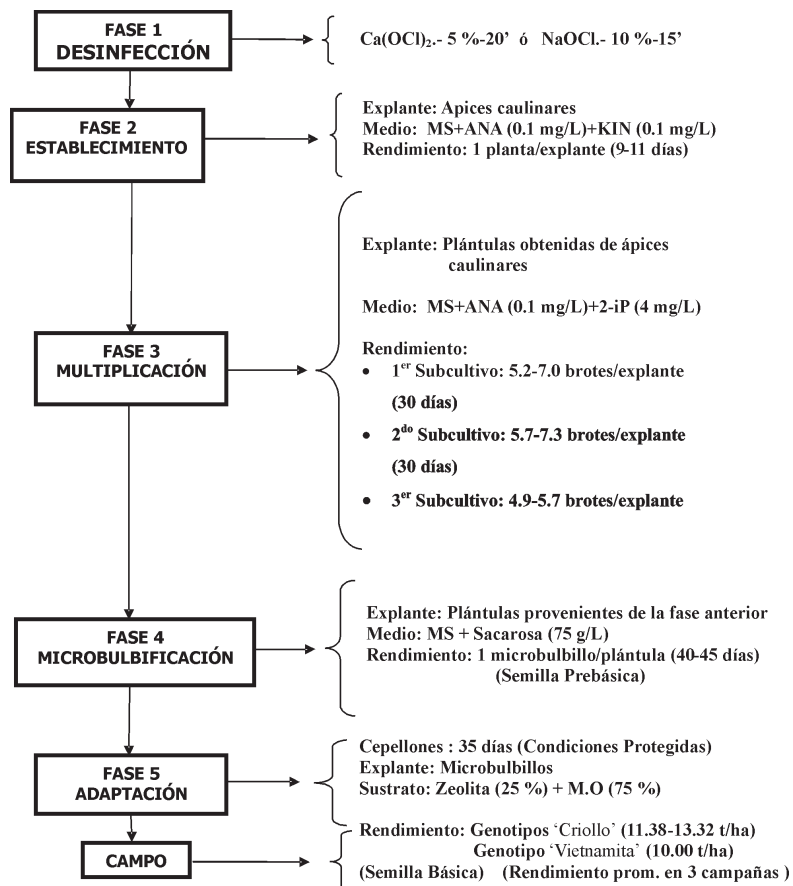
Dentro de las técnicas más sensibles para el diagnóstico del complejo viral antes y después de introducir los explantes *in vitro*, se emplea el ELISA o μ MELISA, con optimización de los reactivos y la Inmuno-electromicroscopía (IEM) como recomprobación.

Si el material testado está sano (libre de virus) continúa a la fase de multiplicación, de ser positivo se volverá a sanear con una o varias de las técnicas anteriormente descritas.

Propagación *In Vitro*

Una vez que se confirme por el diagnóstico que las plántulas están sanas, se pasan a la etapa de propagación *in vitro* (Figura 1).

FIGURA 1. ETAPAS DE LA PROPAGACIÓN *IN VITRO* DEL AJO Y SU RENDIMIENTO POSTERIOR EN CAMPO



Como se puede observar en la figura anterior, se debe iniciar el trabajo con la desinfección de los dientes con Ca(OCl)₂- 5 %-20' o NaOCl- 10 %-15' (5 % de Cl₂ activo) e inocular los explantes (ápices caulinares) en un medio MS + ANA (0.1 mg/L) + KIN (0.1 mg/L), las plántulas se establecen entre los 9-11 días aproximadamente, posteriormente se transfieren a un medio de inducción de brotes múltiples, que es el MS + ANA (0.1 mg/L) + 2-iP (4 mg/L), donde se realizan subcultivos cada 30 días, que no deben ser más de tres. Los microbulbillos se inducen *in vitro* en un medio MS + Sacarosa (75 g/L) entre los 40-45 días, en dependencia del genotipo y alcanzan una mayor sobrevivencia en la fase de adaptación cuando se plantan en cepellones (en condiciones protegidas), que contengan como sustrato Zeolita (25 %) + M.O (75 %), estando

aptas las plántulas para su trasplante definitivo a campo a los 35 días, que tienen dos hojas, 15 cm de altura y más de un 98 % de enraizamiento. En la fase de campo después de tres ciclos consecutivos de cultivo después de haber obtenido los minibulbillos iniciales (condiciones protegidas), los genotipos 'Criollo' pueden llegar a alcanzar un rendimiento que oscila entre 11.38-13.32 t/ha y el clon 'Vietnamita' puede alcanzar las 10.00 t/ha, siendo estos resultados muy superiores a la media nacional que se encuentra entre 4-6 t/ha.

Determinación de la variabilidad genética:

Esta es una etapa muy importante, ya que en la fase de multiplicación se debe determinar si la técnica empleada induce o no variabilidad genética, que es un fenómeno que está asociado al cultivo de tejidos vegetales *in vitro* y a la regeneración de plántulas, que van desde cambios morfológicos hasta cambios a nivel de cromosomas. Estas variaciones pueden ser detectadas a través de estudios morfológicos, bioquímicos, citogenéticos y moleculares.

En el caso del ajo, es posible realizar tres subcultivos sin que haya variación en las plántulas que se obtienen.

Condiciones de incubación en la fase *in vitro*:

Este requisito se debe cumplir rigurosamente para el éxito en el establecimiento de los cultivos *in vitro*. Para ello es conveniente que los explantes se incuben a una temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 2 000 lux y un fotoperíodo de 16 horas luz.

Instalaciones para la producción de semilla básica:

Para la siembra de los microbulbillos además de realizarse en cepellones, es necesario contar con instalaciones sencillas pero adecuadas para el cultivo de este costoso material. Un caso particular y muy eficiente es la construcción de una jaula antiáfidos que debe tener puertas herméticas. Requieren además condiciones de umbráculo (30-50 % de radiación solar) alta humedad del suelo y del aire, así como temperaturas algo inferiores a las que se registran externamente.

Una vez que las plántulas crecen, las mismas deben ser trasplantadas a campo pero en jaulas antiáfidos, que deben tener puertas herméticas y dobles de tal forma que sólo se abra para el ingreso del personal, mientras la otra se encuentra cerrada evitando así las corrientes de aire e impedir el ingreso de insectos posibles portadores de patógenos. Los canteros deben ser profundos, deben tener un buen aporque y muy buen drenaje.

Hay que tener en cuenta los requerimientos técnicos para el buen desarrollo del cultivo, es imprescindible principalmente los primeros dos años, que es lo que nos garantiza mayor calidad de la semilla y rendimientos superiores cada año, ya que el material se encuentra saneado de virus. A partir del tercer año, el material se puede plantar en condiciones normales, pero en lugares aislados para evitar la rápida reinfección del material.

Requerimientos del cultivo

Una vez que han sido recolectados los bulbos, estos no pueden germinar rápidamente, sino que sufren un período de latencia variable en función de la variedad y la temperatura de conservación. Esta latencia puede romperse sometiendo a los bulbos a temperaturas cercanas a los 7°C . Este cultivo requiere clima fresco a frío durante el desarrollo inicial y caluroso y luminoso desde que comienza a formarse el bulbo hasta la cosecha. Cuando la planta no ha estado sujeta a bajas temperaturas, esto puede traducirse en que el bulbo no se forme, aun cuando los días sean largos; con temperaturas medias diarias muy próximas o por debajo de los 21°C durante 40 días se obtienen los mejores rendimientos, pero cuando el descenso de las mismas ocurre durante los primeros 30 días de la plantación o 70 días después de la siembra los rendimientos disminuyen considerablemente.

Las mejores fechas de plantación están entre el 15 de octubre y el 15 de noviembre; requiere para su cultivo suelos profundos y fértiles, de consistencia media, permeables, con una proporción equilibrada de Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Potasio (K). Aplicar una dosis de 40-80, 50-60 y 70 kg/ha de N, P_2O_5 y K_2O , respectivamente añadiendo 1/3 de N en plantación con todo el P_2O_5 y K_2O y 2/3 a los 35-40 días (si se decide aplicar todo el fertilizante de una sola vez, se debe fertilizar 10 días después de plantar).

Los riegos tienen gran importancia, ya que interactúan con otros factores, tales como los bioclimáticos y la fertilización, por lo que para lograr un crecimiento satisfactorio y una producción aceptable es conveniente mantener el suelo prácticamente al 75 % de la capacidad de campo durante todo el período. El mismo debe suspenderse a los 20-25 días antes de la cosecha.

La madurez se conoce por el cambio de color de las hojas y el falso tallo, existiendo diversos criterios, ya sea la presencia de sólo dos o tres hojas nuevas ver-

des, o la flexión de la planta para realizar la cosecha del cultivo. Cuando se trata de ajo para semilla, y siempre que las condiciones lo permitan, la cosecha deberá efectuarse a madurez plena, es decir, cuando la planta no sólo se pone amarilla sino que se seca, garantizando el traslado de todos los productos de síntesis al bulbo. El curado es la etapa posterior, que consiste en someter a los bulbos a temperaturas entre 25-30°C de cuatro a siete días al sol y humedad relativa entre 60-70 %. Posteriormente los bulbos se almacenan en lugares ventilados y en mazos.

Los rendimientos en este cultivo varían de acuerdo a la variedad, densidad de población y condiciones de cultivo, en nuestro país no superan las 3 t/ha pero a través de la técnica de saneamiento y propagación *in vitro* se pueden alcanzar rendimientos superiores a las 10.00 t/ha. Se debe tener en cuenta que los mejores rendimientos se logran cuando después de 25 días de brotados los dientes, las temperaturas medias diarias permanecen por debajo de 21°C durante 40 días aproximadamente. Estas temperaturas se producen en Cuba generalmente de diciembre a febrero.

Material de siembra

Se debe tener en cuenta que cuando se emplean dientes de mayor tamaño como semilla se favorece la obtención de rendimientos superiores. Por lo que la semilla debe clasificarse de forma manual antes de sembrarse y los calibres deben separarse, ya que los mismos presentarán diferencias no sólo en el rendimiento sino durante el desarrollo del ciclo del cultivo. No debe emplearse después del segundo año dientes con menos de 0.4 g de peso, pues estos no son aptos como semilla.

Se debe tener muy presente que no deben pasar más de 10-14 días desde el desgrane hasta la plantación.

Requerimientos del área para la siembra

Además de las buenas condiciones de drenaje y fertilidad del suelo como se planteó con anterioridad, el pH óptimo debe oscilar entre 6.5 y 7.0. Debe garantizarse un riego adecuado y preferiblemente por aspersión, el cultivo responde muy bien a la fertilización orgánica, se debe estabilizarse un adecuado régimen de rotación de cultivos y nunca debe repetirse la siembra por más de tres años consecutivos.

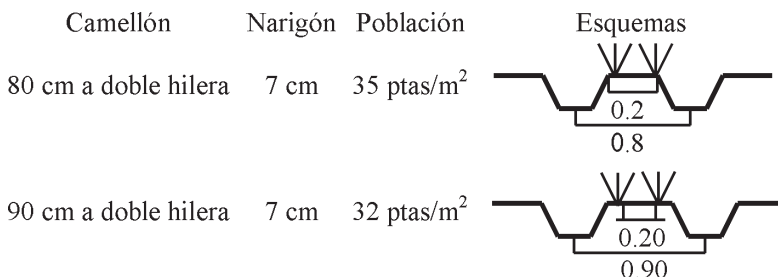
Preparación del suelo

Una adecuada preparación del suelo constituye una garantía para un efectivo control de las malezas. Se debe tener en cuenta, la aplicación de materia orgánica descompuesta (20-40 t/ha), nivelar correctamente el suelo para evitar encharcamientos y riego eficiente y el suelo debe quedar lo suficientemente mullido y sin residuos secos sin descomponer.

Plantación

La densidad óptima de siembra está entre 25-35 plantas/m², teniendo cuidado de no reducir la distancia de narigón menos de 7 cm, por lo que la densidad hay que buscarla reduciendo la distancia entre hileras hasta 10 cm. El marco de siembra debe ajustarse a las posibilidades disponibles para el control de malezas, combinando medios mecánicos y químicos. A partir de éstos se recomiendan los siguientes marcos.

FIGURA 2. MARCOS Y ESQUEMAS DE PLANTACIÓN DEL AJO



Labores culturales

Se deben realizar labores de cultivo para aflojar el terreno y mejorar la aereación del suelo. Hay que tener muy presente que el ajo no puede aporcar, pues exceso de tierra por encima del cuello produce mermas en los rendimientos.

Control de las malas hierbas

Es un cultivo poco competitivo con las malas hierbas, debido a que su follaje no cierra en el camellón o cantero, por lo que es imprescindible el deshierbe durante su ciclo, y hay que combinar las escardas manuales con las aplicaciones de herbicidas y labores de cultivo.

Entre los herbicidas más utilizados se encuentran:

Gesagard 50 %PH

Controla las gramíneas y dicotiledóneas en preemergencia a una dosis de 2-3 kg/ha antes o después de la plantación. El producto tiene acción fitotóxica.

Treflan 48% EC

Se aplica en presiembra a una dosis de 3-4 L/ha, la dosis más alta se aplicará en suelos infestados con 'Don Carlos'. Este producto se debe incorporar mecánicamente al suelo a una profundidad que oscila entre 5-10 cm. Controla fundamentalmente gramíneas y algunas dicotiledóneas.

Fusilade 25 % EC

La dosis adecuada para el control de gramíneas anuales o perennes es de 2 L/ha, se debe aplicar cuando la vegetación que se debe controlar presenta entre 2 y 4 hojas y hay humedad en el suelo. Es de acción sistemática y no se deben realizar más de dos tratamientos al cultivo durante su ciclo.

Propaclor 65 % PH

Se puede utilizar en cualquiera etapa del cultivo pero en pre-emergencia de las malas hierbas, la dosis más adecuada es de 10 kg/ha. Controla gramíneas.

Control de las Principales Plagas y Enfermedades que Afectan al Cultivo

Entre las plagas más importantes que afectan el cultivo están:

Thrips tabaci, es un insecto que chupa el contenido de las células epidérmicas que raspa con su aparato bucal afectando principalmente las partes jóvenes y tiernas del follaje. Sus adultos y ninfas pueden alojarse en las malas hierbas en el interior y alrededor del cultivo.

Aceria tulipae, es un ácaro de pequeño tamaño, invisible a simple vista. Produce afectaciones en el cultivo en el campo, haciéndose difícil su combate, por la forma en que se aloja en la planta. Durante el almacenamiento los ácaros se mantienen dentro de los bulbos, dañando los dientes, los que son fuente de infestación.

Ditylenchus dipsaci, es el nemátodo del bulbo, es el más importante, habita normalmente en los suelos en los que se ha cultivado ajo, cebolla, alfalfa o bulbos de especies florales, siendo en algunos casos tan alta su concentración que inhabilita al lote para su cultivo. Una planta de ajo atacada por este nemátodo pierde altura y gana grosor debido a una hipertrofia de sus tejidos, éstos se tornan esponjosos y poco consistentes.

El combate de estas plagas es generalmente mediante el empleo de productos químicos, tales como: Metil Parathion 50 % EC - L L/ha, Metil Parathion 18 % PH - 2 kg/ha, Malathion 57 % EC - 2 t/ha y Tamarón 60% CS - 0.8 t/ha.

Entre las enfermedades más importante que afectan al ajo se encuentran:

La mancha púrpura causada por **Alternaria porri**. Es una enfermedad que afecta las hojas, tallos y bulbos. En las plantas afectadas se observan al inicio lesiones hundidas con centro púrpura pequeño que se va agrandando con rapidez. A las tres semanas de la aparición de la enfermedad, se observa en la lesión zonas oscuras que forman masas superficiales de esporas del hongo.

La podredumbre blanca que la causa **Sclerotium cepivorum**, que se manifiesta mediante abundante micelio superficial blanco y sedoso, en el que rápidamente se forman esclerosios negros, pequeños y esféricos. Las hojas se vuelven amarillentas y terminan secándose por la intensidad del ataque. Si la infección tiene lugar cerca del momento de cosechar sólo aparece como podredumbre incipiente, para después desarrollarse como podredumbre de almacenaje.

Para el control de estas enfermedades se recomienda: Zineb 75% PH (2 kg/ha), Policarbacin 75 % PH (2 kg/ha), Maneb 80% PH (2 kg/ha), Oxidicloruro de Cobre 50 % PH (3 kg/ha) y Score 25 % EC (0.5 L/ha).

Aunque cuando se trabaja con semilla de alta calidad biológica, es casi nula la presencia de plagas y enfermedades en el cultivo.

Desinfección de la Semilla

Se remoja el ajo desgranado en agua, de forma tal que recubra toda la semilla, después se escurre y se deja secar al aire y a la sombra y se sumerge durante 10 minutos en una solución de Dicofol 18.5% CE (0.4 % i a) + Citol 33 % CE (0.1% i.a) a razón de 0.6 L de dicofol + 40 mL de citol en 35 L de agua para 450 kg de semilla desgranada. Posteriormente se deja escurrir durante 24 horas aproximadamente.

Cosecha

La cosecha debe realizar cuando el 50 % de las hojas estén secas o el 20 % de las plantas desmayadas. Las plantas se arrancan y se secan al sol en el campo 2 ó 3 días y posteriormente se llevan a naves ventiladas para terminar de secar. Aunque si el ajo es para semilla es preciso cosecharlo cuando más del 90 % de las plantas estén secas.

Conservación

El almacenamiento debe ser en locales ventilados y preferentemente en ristras colgadas, que sólo pueden realizarse cuando las hojas estén bien secas. En esta etapa debe tratarse la semilla con fungicidas e insecticidas.

Rendimientos

Se pueden obtener rendimientos muy buenos, 10.00 o más t/ha, en dependencia del genotipo 

Bibliografía

- ABIKO, K., Y. WATANABE Y Y. NISHI
1980 Studies on garlic mosaic I. Causal virus. *Veg. and Orn. Crops. Res. St. Service* 7: 139-147.
- AGRAMONTE, D.; F. JIMÉNEZ Y MIGUEL A. DITA
1998 Aclimatización.— p. 193-206. *En*: Pérez, J. (Ed.). Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología.— Santa Clara: IBP.— 390 p.
- ALJARO, A.
1989 Cosecha y procesamiento de ajos.— Chile: INIA.— p. 41.
- AYUSO, P. Y A. PEÑA-IGLESIAS
1981 The elimination of garlic viruses by thermotherapy and/or tissue culture. *Cell Biology International Reports* 5: 835.
- BURBA, J. L.
1992 Producción, propagación y utilización del ajo (*Allium sativum* L.). *En*: Producción, poscosecha, procesamiento y comercialización de ajo, cebolla y tomate.— Santiago de Chile: FAO— p. 63-126.
- BURBA, J. L. Y D. N. MORICONI
1991 Manejo integrado de bancos de germoplasma de ajo (*Allium sativum* L.). *En*: Moriconi, D. N. y P. Dallari (Eds.). Antecedentes Científicos en *Allium sativum* L. producidos en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba— p. 157-171.
- CABRERA, CARMEN Y P. ELLIOT
1996 La cabeza que sólo tiene dientes. Primer Encuentro sobre agricultura urbana y su impacto en la alimentación de la comunidad. *Se puede* 1 (5): 22-23.
- CASANOVA, A.
1999 Guía técnica para la producción de plántulas de hortalizas en cepellones. La Habana: MINAG: II-HLD—7 p.
- CASTILLO, A.; M. CEPPEA; M. RIZZA; D. MAESO; G. DEL PINO; G. RODRÍGUEZ Y F. VILARÓ
1991 Producción de semilla de ajo (*Allium sativum* L.) de sanidad mejorada. *En*: III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. Sección Cultivo de Tejidos. Resumen.—p. 102.

- CLARK, M. F. y A. N. ADAMS
1977 Characterization of the microplante methods enzyme linked inmunsorbent assay (ELISA) for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-482.
- CONCI, VILMA.
1991 Virus de ajo. Diagnóstico y obtención de plantas libres. *En*: 1^{er} y 2^{do} Curso-Taller sobre Producción, Comercialización e Industrialización de ajo.— Argentina: INTA.— p. 59-60.
- Cuba. MINAG
1983 Instructivo Técnico del cultivo del ajo. Dirección Nacional de Cultivos Varios.— 40 p.
- DAVIES, P. J. PLANT HORMONES
1995 Physiology, Biochemostry and Molecular Biology.— The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.— 836 p.
- DEL TORO, M. S.
1985 Nemátodo del tallo, del cuello y de los bulbos (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev) en ajo. *Therapia* 1 (1): 3-11.
- ENGELAND, R.
1996 Growing great garlic.— 7. Ed.— Okanogan. Washington: Filaree Productions.— 213 p.
- ETOH, T.
1983 Germination of seeds obtained form a clone of garlic, *Allium sativum* L. *Proc. Japan Acad.* 59 (4): 83-87.
- FAO
1988 Intercambio y manejo de germoplasma *in vitro* de ajo.— Santiago de Chile: FAO-INIA, Estación Experimental “La Platina”.— 9 p.
- FAO
1991 Intercambio y propagación de germoplasma de ajo a través de microbulbillos.— Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Agropecuarias. — 45 p.
- FAO
1999 Producción. Yearbook 52.— Roma: FAO.— p. 137.
- FELLNER, M. y P. HAVRÁNEK
1994 Culture of protoplasts isolated from leaves and callus cultures of *Allium sativum* and *Allium longicuspis*: a peliminary report. *Biol. Zentralbl.* 113: 317-328.
- GIACONI, V.
1993 Cultivo de hortalizas. / M. Escaff.— 8. ed.— Santiago de Chile: Editorial Universitaria: INIA — p. 93-103.
- GIDEKEL, M. E ISABEL VALLADARES
1998 Obtención de un eficiente sistema de regeneración *in vitro* de ajo susceptible de ser implementado en la transformación genética. *En*: III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. Sección Cultivo de Tejidos. Resumen, — p. 88-89.
- GIMÉNEZ, ADRIANA; ELENA ARANITI; VIVIAN GUINTE; H. ROBY; J. LLERA Y PATRICIA WINTER
1998 Ajo cv. ‘Colorado’ (*Allium sativum* L.). Manejo postcosecha. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* XXX (1): 47-54.
- GÓMEZ, OLIMPIA; T. DEPESTRE; H. IZQUIERDO; ROSALINA DISOTUAR; CARMELINA VÁZQUEZ; S. RAMÍREZ; MARÍA J. BEJERANO; ESTHER L. PERALTA Y E. DALMAU
1993 Obtención de clones de ajo libres de virus por cultivo de meristemos.— IIHLD-MINAG: 8^{vo} Forum de Ciencia y Técnica.— 10 h.
- GONZÁLEZ, J.
1998 Sustratos más empleados en la aclimatización de vitroplantas. *En*: Adiestramiento en aclimatización de plántulas *in vitro* e *in vivo*. Conferencia.— Ciego de Avila: Centro de Bioplasmas — 4 h.
- HERNÁNDEZ, R.; J. C. NOA, TATIANA PICHARDO Y YANET IGARZA
1995 Saneamiento al complejo viral del ajo (*Allium sativum* L.) mediante termoterapia y cultivo de meristemos. *Cuadernos de Fitopatología: Revista de Fitopatología y Entomología.* 12 (47): 194-195.
- HERNÁNDEZ, R.; J. FONTANELLA; J. C. NOA; R. MANSO; TATIANA PICHARDO Y H. CÁRDENAS
1997 Electroterapia, nuevo método para el saneamiento a virus en *Allium sativum* L. con optimización del diagnóstico por μ MELISA. *Centro Agrícola* 24 (1): 64-65.
- HERRERA, L.; R. HERNÁNDEZ; H. GRILLO
1994 Problemas fitosanitarios del banano, la papa, la caña de azúcar y el ajo en la fase de adaptación de vitroplantas. *Centro Agrícola* 21 (2): 67.

- IZQUIERDO, H.; ROSALINA DISOTUAR; OLIMPIA GÓMEZ S. RAMÍREZ; CARMELINA VÁZQUEZ; MARÍA J. BEJERANO; ESTHER L. PERALTA; T. DEPESTRE Y E. DALMAU
- 1995 Multiplicación *in vitro* del ajo (*Allium sativum* L.) en condiciones tropicales. *Avances en Biotecnología Moderna* 3.— Ciudad de La Habana: CIGB.— p.II.20.
- IZQUIERDO, H.; S. RAMÍREZ; CARMELINA VÁZQUEZ; MARÍA J. BEJERANO; ROSALINA DISOTUAR; ESTHER L. PERALTA; J. BETANCOURT Y E. DALMAU.
- 1997 La microbulbificación inducida *in vitro*, una vía para la producción de semilla prebásica de *Allium sativum* L. *En: Evento Científico Producción de Cultivos en Condiciones Tropicales. Resúmenes.*— I.I.H.L.D. — p. 31.
- JIMÉNEZ, E.
- 1998 Cultivo de ápices y meristemos.— p. 45-56. *En: Pérez, J. (Ed.). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología.*— Santa Clara: IBP.— 390 p.
- KITTO, S. L.
- 1997 Comercial micropropagation. *HortScience* 32 (6): 1-3.
- LEÓN, MARÍA E.
- 1991 Estudio del régimen de riego, densidades de siembra y su influencia en la conservación de distintos clones de ajo. Informe Final de Etapa. Resultado 510.
- LINDSEY, K.
- 1992 Biotecnología Vegetal Agrícola. / M. G. K. Jones.— España: Editorial Acribia.— 276 p.
- MARGARA, J.
- 1988 Multiplicación vegetativa y cultivo *in vitro*. Los meristemos y la organogénesis.— Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.— 232 p.
- Messiaen, C. M.
- 1993 Les Allium alimentaires reproduits par voie végétative. / J. Cohot, J. P. Leroux, M. Pichon y A. Beyries.— París: Ediciones INRA.— 225 p.
- Moriconi, D. N.
- 1990 Rapid multiplication of garlic (*Allium sativum* L.). *Phyton* 51 (2): 145-151.
- Murashige, T. y F. Skoog
- 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- PAREDES, O. M.; V. L. BECERRA; M. I. GONZÁLEZ
- 1998 Análisis de la diversidad genética de una colección de *Allium sativum* mediante RAPDs. *En: III Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. Sección Marcadores. Resumen.* — p. 244-245.
- PÉREZ, C.
- 1998 Cebolla, ajo y especies afines: Conózcalas mejor.— Ciudad de La Habana: CIDA.— 61 p.
- RACCA, R. W.; A. LOSAN; G. DE BILLERBECK; VILMA CONCI Y O. BONGIORNO
- 1989 Microbulbificación sincronizada *in vitro* en ajos de sanidad controlada. *En: XII Reunión de la Sociedad Argentina de Horticultura. Resúmenes.*— p. 35.
- RODRÍGUEZ, J. F.; H. PINZÓN; H. LAVERK; G. CORCHULO
- 1998 Comportamiento del crecimiento y desarrollo del ajo (*Allium sativum* L.) cv. 'Rosado Criollo'. *Agronomía Colombiana* 15 (1): 76-81.
- SAVÓN, J. R.
- 1992 Efecto de la fecha de plantación en el rendimiento de tres clones de ajo. *Agrotecnia de Cuba* 24 (3-4): 29-31.
- SAVÓN, J. R.; A. AYALA Y D. LORDANOV
- 1987 Influencia de la distancia entre plantas y fechas de plantación sobre los rendimientos de ajo (*Allium sativum* L.). *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Hortalizas, Papa, Granos y Fibras* 6 (2): 39-50.
- STAHLSCHEIDT, OLGA M.; J. B. CAVAGNARO
- 1997 Efectos ecofisiológicos del ajo. *En: Burba, J. L. (Ed.). 50 temas sobre la producción de ajo.*— Mendoza, Argentina: INTA. Estación Experimental "La Consulta".— p. 20-38.
- WALKEY, D. G. A. Y D. N. ANTILL.
- 1989 Agronomic evaluation of virus-free and virus-infected garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Horticultural Science* 64 (1): 53-60.

M. Sc. Humberto Izquierdo Oviedo

Investigador Auxiliar. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Carretera a Tapaste Km. 3 ½ San José de las Lajas. La Habana. Cuba. C.P. 32700.