

CONSERVACIÓN DE GERMOPLASMA DE AJO (*ALLIUM SATIVUM* L.) POR REDUCCIÓN DE LA TASA DE CRECIMIENTO

María de los Ángeles Torres Mederos¹, Manuel R. López¹, Ana Julia Rodríguez Mansito¹ y María Benítez Alzola¹.

¹*Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT)*

E-mail: matorres@inifat.co.cu

RESUMEN

El ajo es una especie de altos valores culinarios y propiedades medicinales. Aunque su actividad medicinal ha sido reconocida desde la antigüedad; más recientemente, su acción sobre la salud humana ha ganado el interés de los investigadores. El ajo no produce semilla botánica en las condiciones estándar de cultivo. Su germoplasma se conserva mediante colecciones de campo, y el almacenamiento de los bulbos entre los ciclos de crecimiento vegetativo, por lo que está expuesto a diferentes riesgos naturales y humanos. Las colecciones conservadas *in vitro*, en temperaturas que reducen la tasa de crecimiento de las plantas, disminuye los riesgos de pérdidas. El presente trabajo estuvo dirigido a evaluar la conservación de germoplasma de ajo por reducción de la tasa de crecimiento, y la aclimatación, en el Banco de Germoplasma del INIFAT; así como las características de los bulbos obtenidos en dos siembras sucesivas: la primera en un huerto (organopónico) y la segunda en condiciones de campo. La temperatura de conservación de 5-6°C redujo el crecimiento de las plantas, lo que se expresa por un desarrollo de las hojas y bulbificación más lentos. Los bulbos compuestos (cabezas) cosechados en el organopónico se conservaron como semillas para ser evaluados en campo. Los bulbos cosechados en campo mantuvieron sus características fenotípicas y recuperaron sus dimensiones. La cantidad de ajo semilla obtenida en campo contribuyó a recuperar las pérdidas que se produjeron durante la aclimatación con un coeficiente de multiplicación de 20 a 30 bulbos (dientes) apropiados para la siembra, en dependencia del clon. Los resultados recogidos en este trabajo, aún cuando pueden ser optimizados, constituyen una contribución al conocimiento sobre las posibilidades de aplicación de la conservación de ajo por reducción de la tasa de crecimiento, en el Banco de Germoplasma del INIFAT.

Palabras Claves: ajo, conservación por reducción de la tasa de crecimiento, germoplasma

SLOW GROWTH CONSERVATION OF GARLIC (*ALLIUM SATIVUM* L.) GERMPLASM

ABSTRACT

Garlic is a specie with high culinary value and medicinal properties. Its medicinal activity has been recognized until ancient times, but more recently, its action over human health has got the interest of researchers world wide. Garlic does not produce botanic seeds under standard cultivation conditions. It's germplasm is conserved as field collections, and bulb storage between vegetative growth cycles, so it is exposed to different natural and human risks. Slow growth conserved collections reduce the risk of germplasm loss. The objective of this paper is to evaluate slow growth garlic germplasm conservation and acclimation at INIFAT's Gene Bank; and bulb characteristics after two cycles of sowings: the first in an orchard (organoponic) and the second under field conditions. Conservation temperature of 5-6°C reduced plant growth, expressed as leaf development and bulbification lower rate. Bulbs harvested from the orchard were conserved in order to use them as "seeds" for field evaluation. Field harvested bulbs maintained phenotypical characteristic and recovered bulb proportions. The number seeds (cloves) harvested from field sowing overcame acclimation loses with a multiplication rate of 20 to 30 seed bulbs, depending on clone. Even so these

results could be optimised, they are a contribution to the knowledge about garlic slow growth conservation at INIFAT's Gene Bank.

Key words: garlic, slow growth conservation, germplasm

INTRODUCCION

El ajo es una especie de alto valor culinario y medicinal. Por ello, atrae la atención de los investigadores respecto a su origen (Kamenetsky *et al.* 2005), su genética (Burba, 2008) y la conservación de su germoplasma (ECP/GR Working Group on *Allium*, 2006; Hassan *et al.*, 2007; Shemesh *et al.*, 2008; Stavělíková, 2008).

Desde hace años, China aparece como el principal productor de ajo del mundo, seguido de Argentina, España y Estados Unidos (Materias Primas, 2009). En el 2009, la producción china alcanzó los 12 millones de toneladas, Argentina produjo 120 mil y España 50 mil toneladas. (Moreno, 2009). Estados Unidos, por su parte, además de productor con 8,797 toneladas en el 2008, es el principal importador de ajo del mundo, con importaciones evaluadas para ese año en los 93 millones de dólares (Boriss y Koundinya., 2009).

Los efectos curativos y preventivos del ajo han sobrevivido en el tiempo y a los avances en la medicina (Serre, 2009). Se le atribuye actividad anticoagulante (Rahman, 2007); actividad antiséptica y acción en la disminución del colesterol en sangre (Hunter, 2006), y acción como antioxidante, protector de las membranas celulares y el ADN (Iannazzo, 2009).

El ajo cultivado es una planta estéril, que sólo se propaga asexualmente. Rabinowitch y Kamenetsky (2004) señalan que la causa de su infertilidad radica en que durante generaciones, los agricultores seleccionaron las plantas de madurez más temprana y bulbos mayores, lo que, como consecuencia de la competencia por los nutrientes, condujo al aborto temprano de la yema floral y a la esterilidad.

Es una especie exigente en cuanto a las atenciones culturales. Internacionalmente, se considera un cultivo relativamente caro respecto a su producción, debido a que el desyerbe se realiza principalmente de forma manual; y en el caso de los pequeños productores, la siembra y la cosecha también se ejecutan manualmente (Hannan y Sorensen, 2001).

Además, por ser una especie bulbosa y de reproducción agámica requiere de cuidados respecto al secado y la conservación de los bulbos, y cada año la semilla existente está en riesgo de perderse; entre otras causas posibles, por ser un cultivo cuya fisiología es altamente dependiente de las condiciones ambientales (Portela y Cavagnaro 2005; Hannan y Sorensen, 2001), y por estar expuesto a un largo periodo de almacenamiento entre la cosecha y la próxima siembra.

En Cuba, debido a factores agroecológicos no favorables al cultivo, la producción nacional de ajo y el germoplasma conservado por los agricultores, han sufrido un decrecimiento, lo que puede conducir a la pérdida de los clones adaptados al clima del país, y por ello, a la pérdida de la variabilidad del germoplasma nacional.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la conservación *in vitro* de germoplasma de ajo por reducción de la tasa de crecimiento (a la temperatura de 5-6°C), así como su aclimatación y evaluación en campo, con vistas a aportar una forma de conservación complementaria a las colecciones de campo, que contribuya a preservar el germoplasma existente en el país ante los riesgos de erosión genética.

MATERIALES Y METODOS

Conservación.

Material vegetal

Se trabajó con 16 clones procedentes de diferentes territorios del país, derivados del trabajo de mejoramiento del INIFAT y de la colección de campo mantenida en la Unidad de Semillas y Extensiones de Banao (provincia de Sancti Spíritus), los que se colectaron entre 2005 y 2006. Los clones se identificaron según su procedencia. Como material vegetal se utilizaron los bulbos (dientes), en la fase de brotación.

Los dientes de ajo se desinfectaron con alcohol al 70% por un minuto y a continuación con hipoclorito de sodio al 5%, durante 15 minutos. Además, se les eliminó la parte externa de la base (zona más propensa a la penetración de los microorganismos) y se les realizó un ligero flameo (Torres, 2007). A continuación, se sembraron en medio Murashige y Skoog (MS) (1962) sin hormonas, para estimular su germinación.

Posteriormente, se extrajeron los ápices de crecimiento como explantes de 1 cm de altura y de 0.5 a 0.8 cm de diámetro, los que se sembraron en medio BDS (Dustan y Short, 1977), con sacarosa al 10-15% y se conservaron a la temperatura de 5-6°C.

Para evaluar el efecto de las condiciones de conservación (temperatura de 5-6°C y oscuridad) sobre la reducción de la tasa de crecimiento de las plantas, se comparó la muestra conservada 5-6°C, con un control mantenido en el cuarto de cultivo (temperatura de 24±2°C e iluminación). A estas muestras se les determinó la evolución en el tiempo del desarrollo de las hojas, de las raíces y los microbulbillos, los que se denominaron como índice foliar, radical y de bulbificación. Para estas mediciones se realizaron evaluaciones, cada 15 días, de la cantidad de hojas y raíces de las vitroplantas considerando los niveles 1, 2, 3, 4, 5 o más, estableciendo para estos valores las categorías correspondientes 1, 2, 3, 4 y 5. Los índices de desarrollo foliar y radical, se calcularon de la forma siguiente:

$$\text{Índice Foliar (o Índice Radical)} = \frac{\sum(\# \text{ de plantas en cada categoría}) \cdot [\text{valor de la categoría (del 1 al 5)}]}{\text{Número total de plantas}}$$

El índice de bulbificación se cuantificó considerando la ausencia o presencia de microbulbillos (Cantidad de plantas bulbificadas /Total de plantas) y para obtener un indicador comparable al índice foliar, se calculó según la fórmula:

$$\text{Índice de Bulbificación} = \frac{\text{Cantidad de plantas bulbificadas}}{\text{Número total de plantas}} \times 5$$

El tamaño de las muestras fue de 24 plantas. De los resultados de estas evaluaciones se expusieron los que resultaron más significativos: el Índice Foliar y el Índice de Bulbificación, tomando como modelo el clon Quivicán (cuyo comportamiento se expone en los diferentes aspectos que componen este trabajo).

A partir del comportamiento observado en los primeros clones evaluados a baja temperatura (5-6°C), se decidió incorporar al protocolo, antes de la conservación, un período de cultivo previo a 24±2°C (de uno a dos meses), que se denominó precultivo. Para comparar el efecto del precultivo sobre la bulbificación entre los diferentes clones conservados, se consideró el porcentaje de plantas bulbificadas (PB) [(Cantidad de plantas bulbificadas /Total de plantas) x 100, y el grado de desarrollo de los microbulbillos (DM, según la escala: 1<0.5; 2: 0.5-1cm; 3: >1cm de diámetro). El tamaño de muestra mínimo fue de 24 plantas por cada clon.

Aclimatación y producción en campo de las plantas conservadas in vitro.

La aclimatación de los microbulbillos al sustrato se evaluó en tres clones que terminaron la fase de dormancia en la cámara de conservación, e iniciaron espontáneamente la brotación en un período óptimo para la siembra en suelo: los clones: Quivicán, Güira y Alquizar. Los microbulbillos se extrajeron del medio de cultivo y se colocaron en placas petri, donde se mantuvieron a 5-6°C para promover la emergencia del brote (Torres, 2007). Posteriormente, los microbulbillos germinados se transfirieron a vasos plásticos de 200 ml con tres tipos de sustrato, previamente esterilizados. El sustrato en todos los casos estuvo constituido por un 50% de suelo. Para el otro 50%, se probaron 3 variantes: 1) zeolita; 2) una mezcla de zeolita y materia orgánica (humus de lombriz) 1:1; 3) solo materia orgánica. Las plantas se mantuvieron en el sustrato hasta que alcanzaron aproximadamente los 10 cm de altura, en condiciones de temperatura e iluminación controlada (25±2°C y 12 horas de luz blanca directa). Posteriormente, se transplantaron a canteros en un organopónico, con un sustrato compuesto de capa vegetal y materia orgánica (estiércol vacuno) 1:1, en el período óptimo

para el cultivo (del 15 de octubre al 15 de noviembre) y recibieron las atenciones culturales propias del cultivo en organopónico (INIFAT-MINAG, 2000). Las dimensiones de los bulbos cosechados de cada clon se compararon mediante un análisis de varianza de clasificación simple para muestras compuestas mediante el paquete de programas estadísticos Statgraphics plus para Windows. Versión 5.0 (1994-2000).

De cada uno de los clones aclimatados se tomó una muestra de 5-8 plantas, las que se sembraron en el próximo ciclo del cultivo, en la Unidad de Semillas y Extensiones de Banao, en la provincia de Sancti Spíritus. Los bulbos simples (dientes) se sembraron en suelo Ferralítico Rojo típico, a una distancia de 40 cm entre surcos, y de 5 cm entre plantas. Se aplicaron 11 riegos que mantuvieron un nivel de humedad adecuado y se realizó un escarde ligero. La fertilización se realizó con fórmula completa (9-13-18), y a los 35 días, se aplicó urea, en una dosis 112 Kg/ha. Para evitar el enyerbamiento se aplicó una cobertura al suelo de restos de cosecha de arroz (López *et al.*, 2005). Se aplicaron 11 riegos que mantuvieron un nivel de humedad adecuado. Se cosechó cuando el 50% o más de las plantas mostraron la caída del falso tallo. Las cabezas obtenidas presentaron tres dimensiones fácilmente identificables que se denominaron como grandes de peso (P) mayor de 20 g y diámetro (D) mayor de 3.6 cm; medianas, de peso entre 11 y 20 g y diámetro entre: 3.0 y 3.6 cm; y pequeñas cuyo peso fue menor de 20 g y el diámetro menor de 3.0 cm. De cada tamaño se tomó una muestra de 5 cabezas, y a esta muestra se le evaluó la altura, el diámetro (en cm), el peso (en gramos) y el número de dientes. Para conocer la cantidad de semilla agámica a recuperar de cada planta, se evaluó, el número de dientes, así como la altura, el diámetro y el peso de los dientes. Para el cálculo de la cantidad de ajo semilla obtenida se consideraron las cabezas grandes y medianas. No se tuvieron en cuenta las pequeñas porque la proporción de ajo semilla fue, por lo general, inferior al 50%. No obstante, ese germoplasma constituye un potencial para siembras posteriores. El peso de los dientes se comparó considerando los clones y las dimensiones de las cabezas de procedencia, mediante un análisis de varianza de clasificación doble para muestras univalentes (Lerch, 1977).

Se analizaron las dimensiones y el número de dientes de los bulbos del germoplasma original (Colectado) con los obtenidos de la siembra de campo mediante la comparación dos muestras de tamaño desigual, según Lerch (1977).

RESULTADOS

Conservación.

La comparación del Índice Foliar y el Índice de Bulbificación desarrollados por el clon Quicacán durante la conservación a baja temperatura (5-6°C) y el control a 24±2°C se expresa en Fig. 1. En ella se observa el contraste entre las plantas mantenidas a 5-6 y 24±2°C, tanto para el desarrollo foliar como en la bulbificación. A 24±2°C, las plantas se aproximan al índice foliar máximo de 5 (5 o más hojas) a los 3 meses, mientras que las conservadas a 5-6°C no alcanzan el índice 5 hasta los 5 meses en conservación. Estos resultados tienen correspondencia con los obtenidos en otros clones (Torres *et al.*, 2003). El Índice de Bulbificación también mostró el efecto de la baja temperatura en el retardo de este proceso.

Los porcentajes de bulbificación de los 16 clones conservados a 5-6°C se recogen en la Tabla 1. El porcentaje de plantas bulbificadas (PB) indicado corresponde al de la primera evaluación en la que dicho porcentaje superó el 50%. Los datos no corresponden a los de un diseño experimental, ya que los clones se incorporaron a la conservación gradualmente, según el momento de la colecta. Tampoco es pertinente hacer comparaciones entre genotipos de una misma temperatura, ya que los clones proceden de territorios y agricultores diferentes con distinto manejo del cultivo. Sin embargo, si resulta obvio que todos los clones conservados directamente a 5-6°C (sin precultivo) requirieron de al menos 7 meses para lograr un porcentaje de bulbificación superior al 50%, mientras que los que recibieron el precultivo a 24°C superaron el 50% en un período no mayor de 3 meses y presentaron grados de desarrollo de los microbulbillos (DM) relativamente superiores.

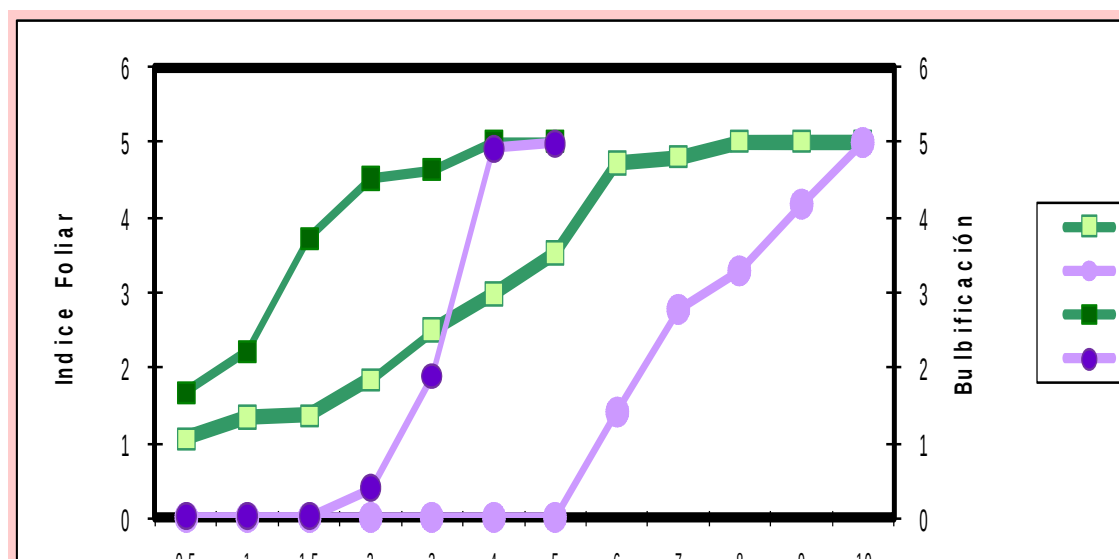


Fig. 1. Evolución del Índice Foliar y del Índice de Bulbificación desarrollados por el clon Quivacán a las temperaturas de 5-6 y 24±2°C, hasta los 10 meses de conservación.

Dado que el bulbillito acumula las sustancias de reserva que utiliza para generar una nueva planta, es conveniente el desarrollo de bulbillos vigorosos, lo que hace recomendable incluir un precultivo a la temperatura relativamente alta del cuarto de cultivo (24±2°C), para estimular el desarrollo de los bulbillos, antes su conservación a baja temperatura. Este resultado es coherente con los obtenidos por Keller y Lesemann (1997), quienes establecieron una fase de 2 meses de precultivo en medio enriquecido en sacarosa al 15%, a la temperatura de 25°C, previo a la conservación *in vitro* a 3°C del ajo y la cebolla, en el Banco de Germoplasma de Gatersleben. El efecto de la temperatura sobre la bulbificación *in vitro* mantiene correspondencia con los estudios de Portela y Cavagnaro (2005) sobre el crecimiento y desarrollo de la planta de ajo en condiciones de campo, en relación con el ambiente termico y fotoperiódico del sitio de cultivo. En este estudio los autores encontraron que las temperaturas mínimas elevadas (es decir las altas temperaturas nocturnas) son las que controlan el rápido crecimiento del bulbo. La optimización de las condiciones de precultivo, respecto a las concentraciones de sacarosa, es objeto de estudio en el presente, en el Banco de Germoplasma del INIFAT.

Aclimatación y producción en campo de las plantas conservadas.

Las características de los bulbos compuestos (cabezas) cosechados en el organopónico se representan en la Tabla 2. El clon Quivacán produjo bulbos con peso promedio de 10 g, y algunos alcanzaron talla y peso similares a los bulbos comerciales. Esto pudiera estar relacionado con el hecho de que este clon fue de los que tuvo un período más largo en la fase de organopónico. Los bulbos obtenidos en todos los casos mantuvieron las características morfológicas propias de la especie y se conservaron como semillas para ser evaluados en campo. Se observan diferencias significativas entre los clones en el peso promedio y el diámetro de los bulbos, y el número de hojas por plantas, no así en la altura. Izquierdo y Quiñónez (2001), al estudiar los bulbos desarrollados en la fase de campo a partir de microbulbillos desarrollados *in vitro*, también reportaron el diámetro de los bulbos entre los factores que más contribuyeron a la variabilidad entre los clones estudiados.

La Figura 2 compara las dimensiones de los bulbos antes y después de la conservación a baja temperatura (Colectado y Bulbillo, respectivamente), y después

de dos ciclos de siembra en suelo (Organopónico y Campo). En ella se observa que el bulbillo, obtenido durante la fase de conservación a baja temperatura, tiene dimensiones notablemente reducidas respecto al tamaño de los bulbos colectados. Así mismo, los bulbos obtenidos después de la primera siembra en el organopónico todavía presentan un tamaño relativamente reducido. Sin embargo, los obtenidos después de la siembra en campo, de modo general, recuperaron las dimensiones del germoplasma original (Colectado). Los clones Güira y Alquizar tuvieron un comportamiento similar.

Tabla 1. Características de la bulbificación de los clones conservados a 5-6°C.

	Clon	% Bulbificación (PB)		Grado de desarrollo de los microbulbillos (D M)	
		Tiempo para PB>50% (meses)	PB ¹ %	DM ²	Tiempo ³ (meses)
Plantas conservadas 5-6°C sin precultivo a 24°C	Quivicán	7	55.2	3.0	20
	V. Camajuaní	8	79.2	2.2	8
	V. Vueltas	9	61.5	2.8	11
	V. Holguín	8	92.8	2.3	7
	S. Spíritus	7	91.7	2.5	7
	C. de Ávila	8	100	1.5	8
	S. Rosario	7	71.4	1.5	7
	Güira	7	94.7	2.1	7
Plantas precultivadas a 24°C antes de la conservación a 5-6°C	Quivicán	3	98.4	3.0	-
	Villa Clara	3	72.3	2.6	24
	Batabanó	3	69.6	2.0	11
	L (2)	1.5	100	3.0	5
	L (3-5)	1	55.6	3.0	5
	L (3-9)	1	86.9	3.0	5
	L (8)	1	95.2	3.0	5
	L (15)	1	50.0	2.8	5
	L (17)	2	85.7	2.2	5

¹El % de PB corresponde al período señalado en la columna anterior.

²DM: Grado de Desarrollo de los Microbulbillos: 1:< 0.5 cm; 2: 0.5-1cm; 3: >1cm de diámetro. Expresa el valor promedio de la muestra.

³Meses a los que se alcanzó el DM dado.

- No se conserva la muestra.

Tabla 2. Dimensiones de los bulbos de ajo cosechados en el organopónico, desarrollados a partir de los microbulbillos conservados por reducción de la tasa de crecimiento a la temperatura de 5-6°C.

Clon	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	No. de hojas
Quivicán	10.0 a	3.0 a	2.1	6.7 a
Güira	7.0 ab	2.5 a	2.0	4.6 b
Alquízar	4.5 b	2.3 b	2.0	4.6 b
	$S_D=4.1$	$S_D=0.55$	ns $S_R^2=0.23$	$S_D=1.6$

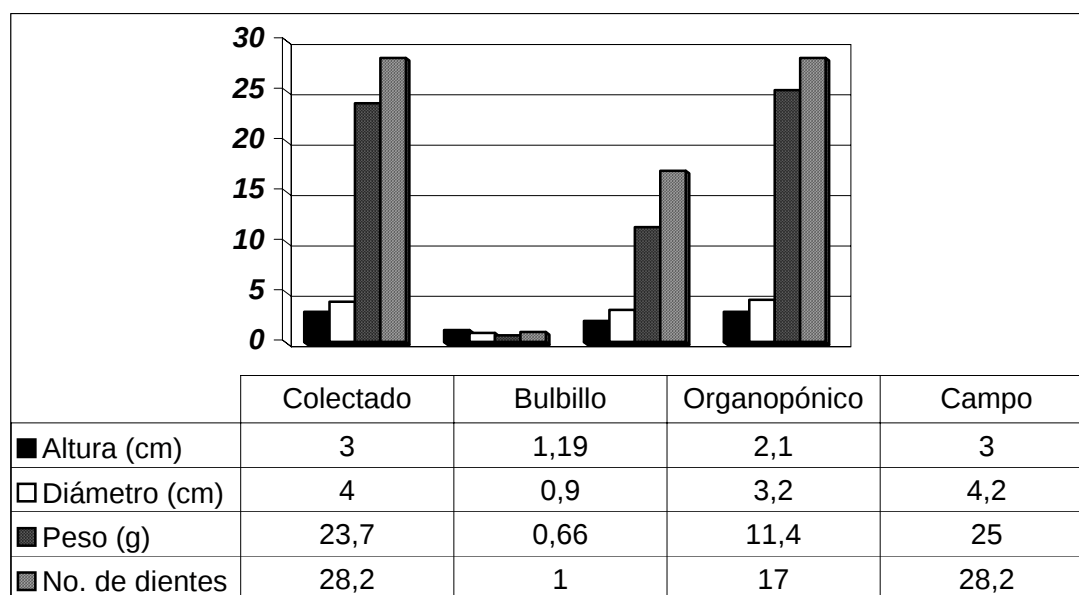


Fig. 2. Variación en las dimensiones de los bulbos de ajo antes del tratamiento de conservación (Colectado, CL) y después de la bulbificación *in vitro* (Bulbillo, B), de la siembra en organopónico (Organopónico, O) y la cosecha en campo (Campo, CA). Clon Quivicán.

No se encontraron diferencias significativas en la comparación del diámetro de los bulbos y del número de dientes antes de la conservación (CL) y después de la cosecha en campo (CA). SD (peso) = 0.62, SD (No. de dientes) = 5.9.

La Tabla 3 recoge la cantidad de bulbos recuperados en la siembra en campo (CA) por cantidad de bulbillos (B) germinados y plantados en el organopónico. También muestra la cantidad de semilla agámica (dientes con más de 0.5 g de peso y 0.5 cm de diámetro) recuperada por cada bulbo cosechado en campo (CA) y por bulbillo plantado en el organopónico. El término bulbillo plantado expresa el total de bulbillos que se sembraron en el organopónico, incluyendo los que murieron después de ser plantados en el cantero; es decir, que no sobrevivieron a la aclimatación.

Se encontró que por cada bulbillo (B) plantado en el organopónico se obtuvieron de 3 a 5 cabezas en campo (CA) como promedio (Tabla 3). El número de cabezas grandes y medianas, obtenidas en campo (CA) por bulbillo (B) plantado en el organopónico, tuvo un valor un promedio de 1.6 y 2.9 respectivamente. Estas cabezas produjeron entre 10 y 17 ajos (dientes) apropiados para la siembra (peso ≥ 0.5 g, diámetro ≥ 0.5 cm) (Tabla 3), lo que significa un aproximado de 20 a 30 semillas por cada bulbillo plantado en el organopónico. En relación con el peso de los dientes, además del efecto del tamaño de la cabeza se encontró que las diferencias entre los clones también llegó a ser significativa (Tabla 4), aspecto que ratifica lo planteado por Izquierdo y Quiñónez (2001). El valor promedio indica que la mayor parte de los bulbos obtenidos, principalmente de las cabezas grandes y

medianas, son apropiados para siembras sucesivas, lo que garantiza la utilización de este germoplasma.

Tabla 3. Cantidad de bulbos (cabezas) obtenidos en campo (CA) por bulbillo (B) plantado en el organopónico. Cantidad de ajo semilla^{1, 2} por cada bulbos (cabeza) obtenido de campo (CA) y por cada bulbillo (B) plantado en el organopónico.

Clon	Cantidad de bulbos (CA) x bulbillo (B) plantado	Cantidad de ajo semilla x bulbos (CA)	Cantidad de ajos semilla x bulbillos (B)
Quivicán	3.6	17.2	31.0
Güira	5.2	10.2	29.0
Quivicán	3.5	15.0	24.0

¹ Ajos semilla: Dientes de ajo con más de 0.5 g de peso y 0.5 cm de diámetro.

Se encontró que por cada bulbillo (B) plantado en el organopónico se obtuvieron de 3 a 5 cabezas en campo (CA) como promedio (Tabla 3). El número de cabezas grandes y medianas, obtenidas en campo (CA) por bulbillo (B) plantado en el organopónico, tuvo un valor un promedio de 1.6 y 2.9 respectivamente, en dependencia del clon. Estas cabezas produjeron entre 10 y 17 ajos (dientes) apropiados para la siembra (peso $\geq$ 0.5 g, diámetro $\geq$ 0.5 cm) (Tabla 3), lo que significa un aproximado de 20 a 30 semillas por cada bulbillo plantado en el organopónico. En relación con el peso de los dientes, además del efecto del tamaño de la cabeza se encontró que las diferencias entre los clones también llegó a ser significativa (Tabla 4), aspecto que ratifica lo planteado por Izquierdo y Quiñónez (2001). El valor promedio indica que la mayor parte de los bulbos obtenidos, principalmente de las cabezas grandes y medianas, son apropiados para siembras sucesivas, lo que garantiza la utilización de este germoplasma.

Tabla 4. Peso de los dientes de ajo en correspondencia con los genotipos evaluados y los tres tamaños de cabezas diferenciados visualmente (g).

Clones	Tamaño de las cabezas		
	Grandes P>20.0 g D>3.6 cm	Medianas P: 11-20 g D: 3.0-3.6 cm	Pequeñas P<11.0 g D<3.0cm
Quivicán	1.19 bc	1.04 c	0.75 cd
Güira	1.55 ab	1.52 ab	0.69 d
Alquízar	1.65 a	1.53 ab	1.37 b
S _x = 0.07 CV=13.3%			

CONCLUSIONES

La disminución de la temperatura de conservación hasta 5-6°C redujo notablemente la tasa de crecimiento de las plantas, lo que se manifestó tanto en el desarrollo foliar como en la bulbificación.

Los clones que se introdujeron en la baja temperatura (5-6°C) sin precultivo previo requirieron de mayor tiempo para que las plantas bulbificaran, en relación con los que recibieron el precultivo a 24±2°C. También se observó la tendencia a que desarrollaran mayor talla de los microbulbillos respecto a los conservados directamente a 5-6°C.

Los bulbillos plantados en el organopónico desarrollaron bulbos compuestos (cabezas) que mantuvieron las características morfológicas propias del cultivo y produjeron semilla (agámica) viable adecuada para siembras de campo.

Después de dos ciclos de cultivo en suelo las plantas derivadas de la conservación por reducción de la tasa de crecimiento recuperaron sus características fenotípicas y sus dimensiones (de los bulbos y dientes).

La cantidad de ajo semilla obtenida por bulbillito que sobrevivió la aclimatación contribuyó a recuperar las pérdidas que se produjeron durante este proceso, con un coeficiente de multiplicación de 20 a 30 bulbos (dientes) apropiados para la siembra (peso ≥ 0.5 g, diámetro ≥ 0.5 cm) por bulbillito.

Los resultados recogidos en este trabajo, aún cuando pueden ser optimizados, constituyen una contribución al conocimiento sobre las posibilidades de aplicación de la conservación por reducción de la tasa de crecimiento en el Banco de Germoplasma del INIFAT.

REFERENCIAS

- Boriss, H.; V. Koundinya. 2009. Garlic profile. Arizona State University. http://www.agmrc.org/commodities_products/vegetables/garlic_profile.cfm: 21 de septiembre del 2009.
- Burba J. L. 2008. Los grupos varietales del ajo (*Allium sativum* L.). Contribución para su entendimiento. Horticultura Argentina: 27(62) 20-27.
- Dustan, D. I. y K. C. Short. 1977. Improved growth of tissue cultures of the onion, *Allium cepa*. Physiol. Plant. 41: 70-72.
- ECP/GR Working group on *Allium*. 2006. Progress report for the period 2003-2006. http://www.ecpgr.cgiar.org/SteeringCommittee/SC10/StandRep/Allium_standrep.pdf: 21 de septiembre del 2009.
- Hannan, R. M. y E. J. Sorensen 2001. Crop profile for Garlic in Washington http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?seq_no_115=153129 : 17 de marzo 2008.
- Hassan, N. A.; A. A. El-Halwagi; A. Gaber; M. Al-Awady y A. Khalaf. 2007. Slow growth *in vitro* conservation of garlic cultivars grow in Egypt: chemical characterization and molecular evaluation. 2007. Global Journal of Molecular Sciences. 2 (2): 67-75.
- Hunter, J. 2006. The medicinal Properties of Garlic . EzineArticles.com. <http://ezinearticles.com/?The-Medicinal-Properties-Of-Garlic&id=375057>: 21 de septiembre del 2009.
- Iannazzo, Ch. 2009. A healing herb-garlic (*Allium sativum*) a scientific-proven medicinal treasure trove. Herbal Medicine. Suite101.net.: 21 de septiembre del 2009.
- INIFAT-MINAG, 2000. Manual Técnico de Organopónicos y Huertos Intensivos. Grupo Nacional de Agricultura Urbana. 145 p.
- Izquierdo, H. y Y. Quiñones. 2001. Obtención de semilla de ajo mejorada mediante el empleo de técnicas biotecnológicas. TEMAS /septiembre –diciembre. <http://www.utm.mx/temas-docs/notas15R2.pdf>. 17 de marzo 2008.

- Keller, J. y D.E. Lesemann. 1997. Application of *in vitro* culture to onion and garlic for the management and use of genetic resources at Gatersleben. Proc.I Symp. Edible Alliaceae SecII: Burba and C.R. Galmarini Acta Hort. 433.ISHS 1997.
- Lerch G. 1977. La Experimentación en las Ciencias Biológicas y Agrícolas. Editorial Científico Técnica, La Habana, 452 p.
- López, R. M.; S. Pérez; L. Jiménez y R. Ronda. 2005. Influencia de la cobertura con restos de arroz en el cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) sobre surcos y canteros. Memorias VI Taller Internacional FITOGEN' 2005, 167-168.
- Materias Primas. 2009. Precios del Ajo. En Hortalizas y Verduras. Materias Primas. <http://lasmateriasprimas.com/precios-del-ajo.html> : 4 de mayo del 2010.
- Moreno, M. A. 2009. Olvídese del oro y el petróleo, invierta en ajo. Elblogsalmon. <http://www.elblogsalmon.com/economia/olvidese-del-oro-y-el-petroleo-invierta-en-ajo> : 4 de mayo del 2010.
- Murashige, T.; F. Skoog,. 1962. A revised meduim for rapid growth and bioessays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Portela,J. A.; Cavagnaro J. B. 2005. escala ecofisiológica para ajos blancos y violetas: Una herramienta fundamental para la toma de decisiones en el cultivo.. Estación Experimental Agropecuaria La Consulta. Informe anual de progresos 2005. 4 pp.
- Rabinowitch, H. y R. Kamenetsky. 2004. Mystery of sterility of the garlic plant solved by Hebrew University researches. Science Daily. www.sciencedaily.com/releases/2004/09/040903093636.htm: 26 de abril del 2007.
- Rahman, K. 2007. Effects of garlic on platelet biochemistry and physiology. *Molecular Nutrition & Food Research.* 51(11) : 1335-44.
- Serre M. 1996-2009. All about garlic-medicinal properties. The Worldwide Gourmet. <http://www.theworldwidegourmet.com/products/articles/garlic-medicinal-properties>: 25 de febrero del 2010.
- Shemesh, E; O. Scholten, H. D. Rabinowitch y R. Kamenetsky. 2008. Unlocking variability: inherent variation and developmental traits of garlic plants originated from sexual reproduction. *Planta.*227(5):1013-1024.
- Stavělíková, H. 2008. Morphologycal characteristics of garlic (*Allium sativum* L.)genetic resources collection-Information. *Hort. Sci. (Prague)* 35 (3): 130-135.
- Torres, M. A. 2007. Conservación alternativa de semilla de ajo por métodos biotecnológicos. Informe Final del Proyecto 1806 del Programa Ramal Producción Nacional de Semillas. 52p.
- Torres, M. A; J. Alonso; A. Font y V. Moreno. 2003 Conservación de yemas de ajo a baja temperatura. En: Caracterización, Conservación y ampliación de la variabilidad genética del germoplasma de ajo en Cuba. Informe Final del Proyecto CITMA 003181 del Programa de Biotecnología Agrícola, 30p.