

# EVALUACIÓN DE DIFERENTES SUSTRATOS EN LA ACLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS Y MICROBULBILLOS DE AJO (*Allium sativum* L.)

H. Izquierdo<sup>✉</sup>, Y. Quiñones, Rosalina Disotuar y Dolores Pedroso

**ABSTRACT.** Garlic is an annual plant, which can only be asexually reproduced; therefore, the application of different biotechnological techniques and its further adaptation to environmental conditions are very important for its cultivation in Cuba. Therefore, this study was carried out at “Liliana Dimitrova” Horticultural Research Institute, with the objective to evaluate garlic vitroplant and microbulblet development in the adaptation phase, to determine the best substrate for microbulblet development in the acclimatization phase and to evaluate genotype effects in this substrate. Then, vitroplants from the third multiplication subculture and *in vitro*-induced microbulblets were taken with 75 g.L<sup>-1</sup> sucrose from clones ‘Criollo-3’, ‘Criollo-6’, ‘Criollo-9’, ‘Martínez’ and ‘Vietnamita’; they were planted in a substrate made up by 50 % filter cake and 50 % soil. After that, microbulblets were planted in different substrates. Percentages of survival and rooting, plant height and leaf number/plant were evaluated in each case. A Randomized block design with four replicates was used and data were processed through a one-way classification variance analysis. Consequently, microbulblets are better adapted than vitroplants to these environmental conditions and reach a higher percentage of survival. The combination of zeolite (25 %) and filter cake (75 %) as substrate enabled microbulblet plants to reach the highest survival and rooting in every garlic genotype studied.

**Key words:** garlic, *Allium sativum*, adaptation, growing media

**RESUMEN.** El ajo es una planta anual, que presenta la limitante que solo se reproduce de forma asexual, por lo que la aplicación de diferentes técnicas biotecnológicas y la posterior adaptación a las condiciones ambientales son de gran importancia para su cultivo en Cuba. Teniendo en cuenta lo antes expuesto, se desarrolló este trabajo en el Instituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimitrova”, con el objetivo de evaluar comparativamente el desarrollo de las vitroplantas y los microbulbillos de ajo en la fase de adaptación, determinar el sustrato más efectivo en el desarrollo de los microbulbillos en la fase de aclimatización y el efecto del genotipo frente a estos. Para el estudio se tomaron vitroplantas provenientes del tercer subcultivo de multiplicación y microbulbillos inducidos *in vitro* con 75 g.L<sup>-1</sup> de sacarosa de los clones ‘Criollo-3’, ‘Criollo-6’, ‘Criollo-9’, ‘Martínez’ y ‘Vietnamita’; se plantaron en un sustrato compuesto por 50 % de cachaza y 50 % de suelo. Posteriormente, se plantaron los microbulbillos en diferentes sustratos y se evaluó en cada caso el porcentaje de supervivencia y enraizamiento, altura y número de hojas/planta. El diseño empleado fue de bloques al azar con cuatro réplicas y los datos se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple. Se obtuvo como resultado que los microbulbillos se adaptan mejor que las vitroplantas a las condiciones ambientales y alcanzan un porcentaje de supervivencia superior, y la combinación de zeolita (25 %) y cachaza (75 %) como sustrato fue donde las plantas provenientes de los microbulbillos obtuvieron mayor supervivencia y enraizamiento en los cinco genotipos de ajo.

**Palabras clave:** ajo, *Allium sativum*, adaptación, sustratos de cultivo

## INTRODUCCIÓN

El ajo (*Allium sativum* L.) figura entre las especies que más antiguamente las consume el hombre con fines culinarios o medicinales. Esta especie es de gran importancia económica para nuestro país, ya que su demanda por la población crece cada día más; sin embargo, debi-

do a que es una especie de reproducción asexual y la afectan diferentes plagas y enfermedades, se dificulta su mejoramiento por métodos tradicionales y hay que acudir a las técnicas biotecnológicas para su saneamiento y posterior propagación (1, 2).

El mayor obstáculo para el establecimiento de las plántulas que se obtienen por métodos *in vitro* es usualmente la transición del cultivo aséptico a casa de cristal no estéril, que se conoce como fase de adaptación o aclimatización (2, 3), así como el trasplante definitivo a condiciones de campo (4). Es preciso un cuidadoso tratamiento, porque las plántulas provienen de un medio ambiente con 100 % de humedad relativa, tienen muy poca presencia de cutícula y escasa funcionalidad estomatal (5).

Ms.C. H. Izquierdo, Investigador Agregado del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal; Y. Quiñones, Investigador Agregado del Departamento de Genética y Mejoramiento, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas; Rosalina Disotuar y Dolores Pedroso, Especialistas de la División de Tecnología de los Cultivos, Instituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimitrova”, carretera Bejucal-Quivicán km 33½, Quivicán, La Habana, Cuba.

✉ hioviado@inca.edu.cu

Para lograr un alto índice de supervivencia en esta fase de aclimatización, es necesario que las plántulas tengan un sistema radical bien desarrollado y una alta humedad necesaria para su protección, lo que evita su desecación en los días posteriores al trasplante al suelo, así como un sustrato adecuado en el que estas se desarrollen (4, 6).

Teniendo en cuenta todo lo anterior se desarrolló el siguiente trabajo, que tiene como objetivos:

- ↪ evaluar comparativamente el desarrollo de las vitroplantas y los microbulbillos de ajo en la fase de adaptación
- ↪ determinar el sustrato más efectivo en el desarrollo de los microbulbillos en la fase de aclimatización, así como el efecto de los genotipos frente a estos.

## MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó en el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", ubicado en el municipio Quivicán, al sur de la provincia La Habana, perteneciente al Ministerio de la Agricultura de la República de Cuba.

Los genotipos que se estudiaron fueron 'Criollo-3', 'Criollo-6', 'Criollo-9', 'Martínez' y 'Vietnamita', previamente saneados de virus y diagnosticados por  $\mu$ MELISA (6).

La aclimatización del material proveniente del laboratorio se realizó en bandejas plásticas tronco piramidal (cepellones) de 72 orificios con una capacidad de 47.61 cm<sup>3</sup>. Todos los requerimientos técnicos se realizaron según lo recomendado por diferentes autores (7, 8).

*Estudio comparativo de las vitroplantas y los microbulbillos.* Se seleccionaron vitroplantas de 90 días procedentes del tercer subcultivo de la fase de multiplicación, a las cuales se les eliminaron los restos de agar y microbulbillos inducidos *in vitro* con 75 g.L<sup>-1</sup> de sacarosa, que fueron curados y conservados en cápsulas de Petri a temperatura ambiente y 15 días antes de la plantación se colocaron a 4°C (5).

Las vitroplantas y microbulbillos de los cinco clones de ajo se plantaron en la fecha óptima para su cultivo (octubre) (9) durante dos campañas consecutivas, en un sustrato compuesto por 50 % de cachaza, que se utilizó como materia orgánica (MO) y 50 % de suelo del tipo Ferralítico Rojo compactado (10). Esta mezcla de sustratos fue informada con anterioridad como la más efectiva para la adaptación de vitroplantas de ajo a las condiciones ambientales (6). La composición de la cachaza y del suelo se refleja en las Tablas I y II.

**Tabla I. Composición de la cachaza empleada**

pH	MO (%)	N total (%)	P (%)	K (%)	Granulometría (mm)
6.2	20.15	0.88	0.50	0.06	1- 4

\*Según resultados del Laboratorio de Bromatología del Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" y de la Estación de Nutrición Vegetal "La Renée" del Instituto de Suelos

**Tabla II. Composición agroquímica del suelo**

PH	MO (%)	P (ppm)	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup> (Cmol.kg <sup>-1</sup> )	Mg <sup>+2</sup>
7.24	2.10	3.38	0.79	15.51	2.57

Las variables que se evaluaron fueron el porcentaje de supervivencia y enraizamiento a los 25 días (6), según la siguiente fórmula:

$$\text{Supervivencia (\%)} = \frac{\text{No. de plantas obtenidas} \times 100}{\text{No. total de microbulbillos plantados}}$$

$$\text{Enraizamiento (\%)} = \frac{\text{No. de plantas enraizadas} \times 100}{\text{No. total de microbulbillos plantados}}$$

También se evaluó la dinámica de crecimiento y el vigor de las plantas; esta última variable se evaluó por apreciación visual, según la escala siguiente:

1.- Poco Vigorosas 2.- Vigorosas 3.- Muy Vigorosas

Se emplearon dos tratamientos (vitroplantas y microbulbillos) que contaron con 72 plantas, cada uno en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas.

Los datos originales (%) se transformaron mediante la fórmula  $\arcsen \sqrt{\%}$  y los datos con valor *ceros* a través de la fórmula  $\sqrt{x+1}$  para el análisis estadístico e informando su valor real. El procesamiento estadístico se realizó de forma individual para cada genotipo mediante un análisis de varianza de clasificación simple y en caso de existir diferencias entre las medias, se determinaron por la prueba de Rangos Múltiples de Duncan al 5 %.

*Efectividad de diferentes sustratos en el desarrollo de los microbulbillos de ajo.* En la Tabla III se observan las diferentes combinaciones de sustratos que se emplearon para la aclimatización de los microbulbillos.

**Tabla 3. Tratamientos empleados para la aclimatización de los microbulbillos de ajo**

N <sup>0</sup>	Sustratos (%)		
	Zeolita <sup>I</sup>	Materia orgánica <sup>II</sup>	Suelo <sup>III</sup>
1	100	-	-
2	25	75	-
3	50	50	-
4	-	50	50
5	-	75	25
6	25	50	25

<sup>I</sup> Cargada (Litonita) <sup>II</sup> Cachaza <sup>III</sup> Ferralítico Rojo compactado (10)

La composición de la zeolita cargada (Litonita) se refleja en la Tabla IV.

**Tabla IV. Composición de la zeolita cargada (Litonita)**

Contenido mínimo de nutrientes garantizado (kg.t <sup>-1</sup> )	Características	Oligoelementos
N total-1.5	Densidad-0.9 g/cm <sup>3</sup>	Boro
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -0.9	Retención de H <sub>2</sub> O-50 %	Cobre
K <sub>2</sub> O-8.3	pH-7.6	Hierro
	Granulometría.-1-2 mm	Magnesio
		Molibdeno
		Zinc

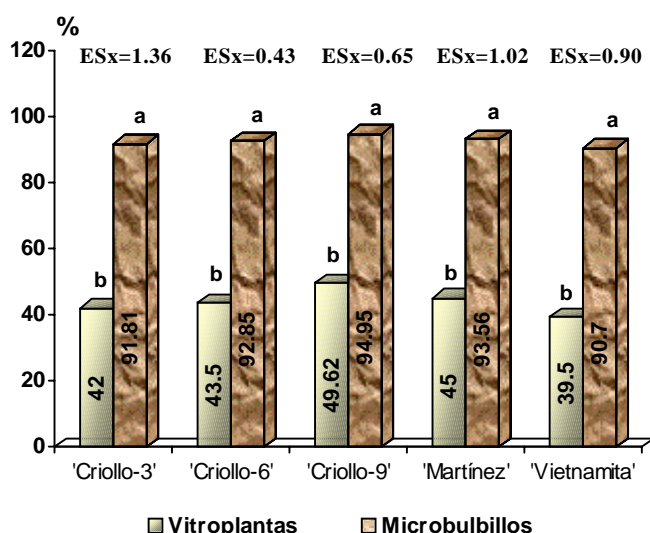
\*Según información del fabricante

Las variables que se analizaron a los 35 días fueron: porcentaje de supervivencia y enraizamiento, así como altura (cm), número de hojas/planta, longitud de las raíces (cm) y el vigor de las plantas. Las evaluaciones se realizaron de forma similar a las anteriores.

El experimento se realizó mediante un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas y se evaluaron 72 plantas por tratamiento. El procesamiento de los datos y el análisis estadístico utilizados fueron similares al anterior.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Estudio comparativo de las vitroplantas y microbulbillos.* En la Figura 1 se refleja el comportamiento de las vitroplantas y los microbulbillos con respecto al porcentaje de supervivencia en la fase de aclimatización. Existen diferencias significativas entre las vitroplantas y los microbulbillos a favor de éstos últimos. En el caso de las vitroplantas, la supervivencia osciló entre 39.50-49.62 % y para los microbulbillos entre 90.70-94.95 %. Los mejores resultados los obtuvieron 'Criollo-9' y 'Martínez' con 94.95 y 93.56 %, respectivamente; se ubicaron a continuación 'Criollo-6' con 92.85 %, 'Criollo-3' con 91.81 % y 'Vietnamita' con 90.70 %.



**Figura 1. Supervivencia de las vitroplantas y microbulbillos de ajo en la fase de aclimatización**

Estos resultados son similares a los informados por otros autores (5, 6), en relación con la supervivencia de las vitroplantas de ajo, que es inferior al 50 %. La respuesta más efectiva en todos los genotipos se obtuvo a partir de los microbulbillos inducidos *in vitro* con 75 g.L<sup>-1</sup> de sacarosa, ya que las plantas alcanzaron un mayor porcentaje de supervivencia; resultados similares han informado otros autores (9, 11).

En cuanto al porcentaje de enraizamiento y vigor de las plantas, los resultados se muestran en la Tabla V; en esta ocasión, el enraizamiento de las plantas obtenidas a partir de los microbulbillos, en todos los clones de ajo,

fue superior al de las vitroplantas y se diferenció estadísticamente, el cual osciló entre 90.62-92.35 % para los microbulbillos y entre 50.34-55.20 % para las vitroplantas. Las plantas del clon 'Vietnamita' fueron muy vigorosas y las del resto de los genotipos fueron vigorosas; sin embargo, las vitroplantas tuvieron muy poco vigor en todos los casos.

**Tabla V. Enraizamiento y vigor de las plantas que se obtuvieron a partir de las vitroplantas y microbulbillos de ajo**

Genotipos	Tratamientos	Enraizamiento (%)	Vigor de las plantas
'Criollo-3'	1.- Vitroplantas	51.03 b	1
	2.- Microbulbillos	90.97 a	2
	ESx	2.95	
'Criollo-6'	1.- Vitroplantas	53.13 b	1
	2.- Microbulbillos	92.01 a	2
	ESx	2.47	
'Criollo-9'	1.- Vitroplantas	55.20 b	1
	2.- Microbulbillos	92.35 a	2
	ESx	2.01	
'Martínez'	1.- Vitroplantas	52.08 b	1
	2.- Microbulbillos	93.74 a	2
	ESx	1.59	
'Vietnamita'	1.- Vitroplantas	50.34 b	1
	2.- Microbulbillos	90.62 a	3
	ESx	2.04	

1.- Poco Vigorosas 2.- Vigorosas 3.- Muy Vigorosas

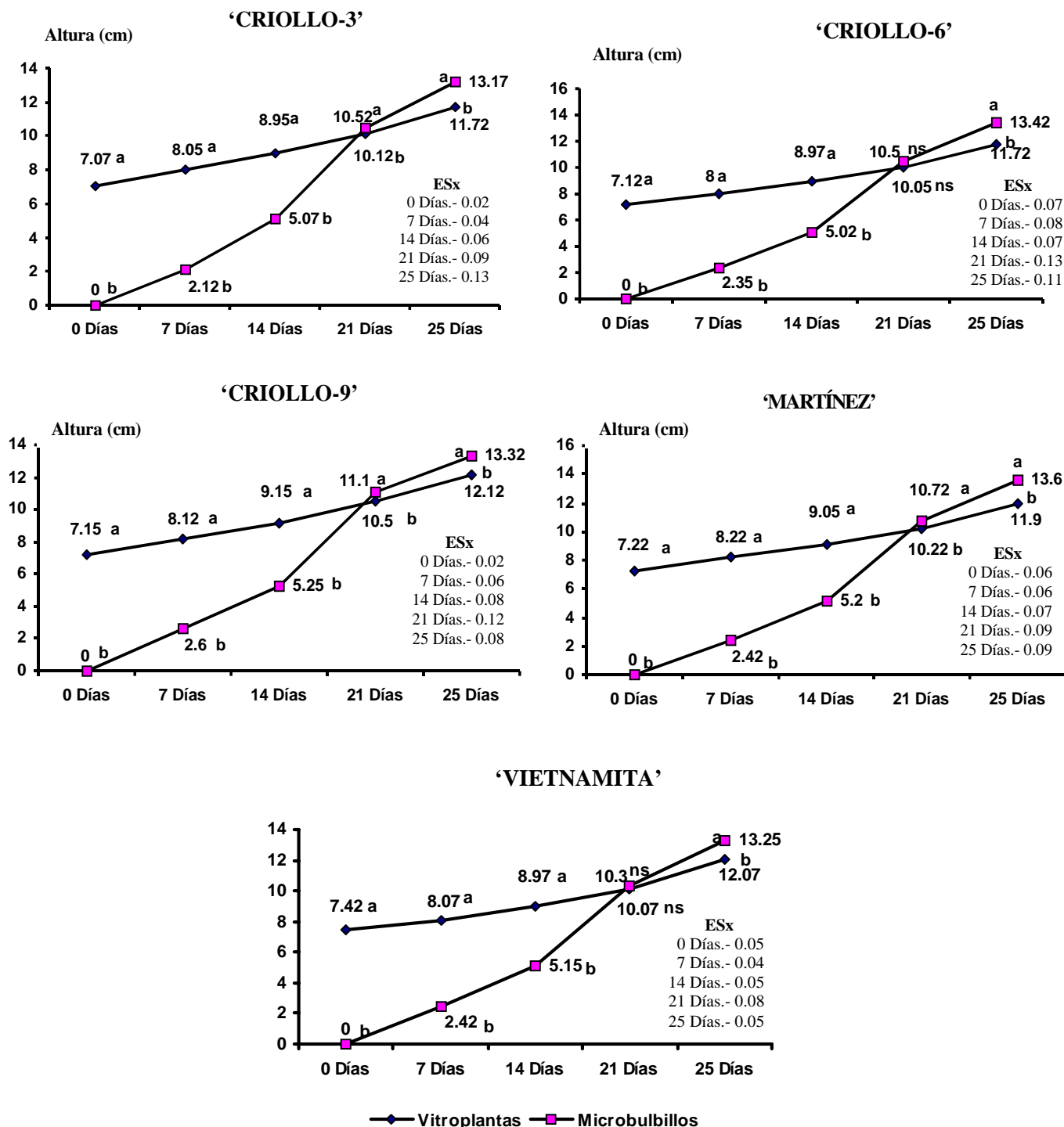
Las medias con letras diferentes presentan significación estadística, según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ )

Al parecer, estos resultados se deben a que la emisión de raíces en las plantas superiores es un proceso muy estable, pero puede inhibirse fácilmente (12), sobre todo cuando están sometidas a estrés, por lo que cesa la actividad meristemática en la raíz principal, así como la formación de raíces laterales (13). También en *Arabidopsis thaliana*, en condiciones de estrés se producen raíces cortas y con una limitada actividad meristemática (14, 15). Por lo que en nuestro caso, las vitroplantas presentaron un menor enraizamiento y vigor de las plantas, ya que ellas provenían de un medio ambiente *in vitro*, en el que algunos factores como los desórdenes fisiológicos y morfológicos, la formación de pocas raíces secundarias, la disminución o alteración del contenido de ceras epicuticulares (16) pudieron haber contribuido al desarrollo de plantas incapaces de sobrevivir en la fase de aclimatización, mientras que los microbulbillos (semilla prebásica del cultivo) son estructuras más resistentes y las plantas que se obtuvieron a partir de ellos se adaptaron mejor a las condiciones ambientales, por lo que estos resultados son similares a los informados en la literatura (11).

Además, la baja permeabilidad y escasa aireación de los sustratos orgánicos para el crecimiento del sistema radical son características indeseables, que contribuyen a incrementar el porcentaje de mortalidad (17), y esto fue lo que probablemente le sucedió a las vitroplantas.

También se evaluó la dinámica de crecimiento de las vitroplantas y microbulbillos (Figura 2). De forma general, en todos los genotipos se observa que hasta los 14 días el crecimiento de las vitroplantas fue superior al de los microbulbillos, existiendo diferencias significativas, pero a partir de los 21 días se revierte esta situación y las plantas que se obtuvieron a partir de los microbulbillos superaron en

altura a las vitroplantas en todos los casos, existiendo diferencias significativas en los clones 'Criollo-3', 'Criollo-9' y 'Martínez', no así en 'Criollo-6' y 'Vietnamita'. A los 25 días, se mantiene una situación similar a la anterior; pero en esta oportunidad, sí hay diferencias significativas, evidenciándose la respuesta diferencial entre los genotipos.



Las medias con letras diferentes presentan significación estadística, según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ )

Figura 2. Dinámica de crecimiento de las vitroplantas y microbulbillos en los cinco genotipos de ajo

En la Figura 2 también se puede observar que las vitroplantas crecen lentamente en todos los genotipos; esto pudiera estar asociado con la baja formación de raíces, ya que estas realizan sus funciones a expensas de las reservas que adquirieron en la fase de cultivo *in vitro*. En el caso de las plantas que se obtuvieron a partir de los microbulbillos, se observa un crecimiento lento hasta los siete días; a partir de ese momento, en todos los clones de ajo se observa un crecimiento mucho más rápido de las plantas, sobre todo entre los 14 y 21 días, lo que al parecer, está asociado a una nueva emisión de raíces. Similares resultados se obtuvieron en caña de azúcar, *Gerbera jasmenioni* y *Spathiphyllum*; en las dos últimas hubo un incremento en los niveles de almidón, fructosa y glucosa, así como en la actividad enzimática de las invertasas ácidas en los primeros seis días de permanencia de las plántulas en la fase de aclimatación (18).

Debemos plantear que las afectaciones por enfermedades en las vitroplantas fueron mínimas en los genotipos 'Criollo-3' y 'Vietnamita', pero esto no se observó en el resto de los clones ni en las plantas provenientes de los microbulbillos. Además, estas últimas tenían un color verde intenso, no se observaron plantas con malformaciones ni con síntomas visibles de enfermedades fungosas, bacterianas y/o virales. Algunos autores también le confieren gran importancia al patrón de coloración del follaje y a la homogeneidad del genotipo en esta fase (19, 20).

Finalmente debemos decir que cuando se plantan las vitroplantas, se mantienen en un sustrato compuesto por cachaza (50 %) y suelo Ferralítico Rojo compactado (50 %) sólo 25 días como se recomienda (6), lo que no fue suficiente para obtener una elevada supervivencia y desarrollo de su sistema radical, por lo que son los microbulbillos los que deben utilizarse para disminuir las pérdidas de este valioso material, que se encuentra libre de virus y otros patógenos. Las pérdidas en esta fase disminuyen cuando se utilizan bandejas (cepellones) con un volumen de alvéolo superior a los 44 cm<sup>3</sup>, ya que con éstas se han obtenido plántulas de mayor calidad en cultivos como el tomate (21, 22).

**Efectividad de diferentes sustratos en el desarrollo de los microbulbillos de ajo.** Como se observa en la Tabla VI, hubo diferencias significativas en cuanto al tipo de sustrato empleado con respecto al porcentaje de supervivencia, altura y número de hojas/plantas. Por lo general, las plantas que se obtuvieron a partir de los microbulbillos alcanzaron el mayor porcentaje de supervivencia (95.35-99.40 %) cuando estos se plantaron en un sustrato compuesto por litonita (25 %) y cachaza (75 %), para los genotipos 'Criollo-9' (99.40 %), 'Criollo-6' (95.71 %) y 'Criollo-3' (95.58 %); mientras que ese tratamiento no se diferenció estadísticamente del 1 (zeolita-100 %) para el caso de los clones 'Martínez' y 'Vietnamita'.

Con respecto a la altura de las plantas, esta osciló entre 15.00-16.64 cm y la combinación de litonita (50 %) y cachaza (50 %) fue en la que todos los genotipos al-

canzaron los mejores resultados, excepto el clon 'Vietnamita', que no se diferenció estadísticamente del tratamiento 2. El número de hojas/planta osciló entre 2.03-3.55, alcanzándose los mejores resultados con las variantes 2, 3 y 5 para los clones 'Criollo-3', 'Criollo-6' y 'Martínez', mientras que los tratamientos 3 y 5 fueron los mejores en el caso del 'Vietnamita' y no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos en el genotipo 'Criollo-9' (Tabla VI).

En relación con el porcentaje de enraizamiento (Tabla VI), no hubo diferencias significativas entre las variantes de sustrato que se evaluaron, oscilando los valores de esta variable entre 98.50 y 100 %. Hubo una relación directamente proporcional entre el enraizamiento y la longitud de las raíces en el tratamiento 2 [litonita (50 %) y cachaza (50 %)], ya que en todos los genotipos ambas variables alcanzan los valores más elevados y en el caso de la longitud de las raíces se diferencia estadísticamente del resto de los tratamientos.

En dicha tabla se aprecia, además, que las plantas que se obtuvieron en un sustrato compuesto por litonita (25 %) y cachaza (75 %) fueron muy vigorosas en todos los clones de ajo. En el caso del 'Vietnamita', las plantas que se obtuvieron con la combinación de cachaza y suelo en una proporción 1:1 también fueron muy vigorosas; el resto de las plantas se comportaron como vigorosas con excepción de las del tratamiento 5 ('Criollo-3', 'Criollo-6', 'Martínez' y 'Vietnamita') y 6 ('Criollo-6' y 'Vietnamita'), que presentaron un vigor muy bajo.

Es preciso destacar que los porcentajes de supervivencia y enraizamiento son dos de las variables más importantes en esta fase, ya que garantizan un buen comportamiento posterior de las plantas cuando se trasplantan a campo. A lo anterior se debe agregar que algunos autores consideran que la aclimatación es muy buena a partir del 95 % de supervivencia de las plantas y que el sustrato idóneo es el que les proporciona una elevada supervivencia durante su adaptación a las condiciones ambientales (8).

Asociado a lo anterior, los resultados que se obtuvieron pusieron de manifiesto que la utilización de la zeolita mezclada con materia orgánica favoreció la supervivencia de las plantas a partir de los microbulbillos, lo que al parecer está íntimamente ligado con las propiedades químicas y físicas de este mineral. Aquí también se evidencia la superioridad de las mezclas sobre los sustratos orgánicos, por lo que no coincidimos con algunos autores (6), pero sí con otros, que utilizan las mezclas y han obtenido buenos resultados en cultivos como la caña de azúcar y *Dieffenbachia picta* (17, 18, 20).

En general, se observó una mejoría en el vigor y desarrollo de las plantas por el uso de la mezcla litonita (25 %) y cachaza (75 %), que pudiera estar asociada a la retención por la zeolita de los nutrientes que se liberan en el proceso de mineralización de la cachaza, evitando así su pérdida y, por consiguiente, aumentando su disponibilidad para las plantas.

**Tabla VI. Influencia del sustrato con respecto al porcentaje de supervivencia, altura, número de hojas y enraizamiento de las plantas obtenidas a partir de los microbulbillos**

Tratamientos	Sustratos (%)			Supervivencia (%)	Altura de las plantas (cm)	Número de hojas/planta	Enraizamiento (%)	Longitud de las raíces (cm)	Vigor
	Zeolita <sup>I</sup>	Materia orgánica <sup>II</sup>	Suelo <sup>III</sup>						
<b>‘Criollo-3’</b>									
1	100			93.08 b	15.03 d	2.10 d	98.60	4.92 b	2
2	25	75		95.58 a	15.73 b	3.40 a	100.00	5.50 a	3
3	50	50		92.37 b	16.13 a	3.50 a	98.95	4.77 b	2
4		50	50	91.77 b	15.00 d	2.36 c	98.95	4.42 c	2
5		75	25	84.64 d	15.59 bc	3.44 a	99.30	4.07 d	1
6	25	50	25	88.57 c	15.26 cd	3.09 b	98.61	4.00 d	2
<b>‘Criollo-6’</b>									
ESx				0.62	0.12	0.03	1.05 n.s	0.08	
1	100			93.20 b	15.23 c	2.25 c	98.95	4.87 b	2
2	25	75		95.71 a	15.84 b	3.37 a	100.00	5.45 a	3
3	50	50		92.61 b	16.24 a	3.43 a	100.00	4.80 b	2
4		50	50	91.89 bc	15.20 c	2.45 c	98.95	4.50 c	2
5		75	25	85.75 d	15.66 b	3.40 a	98.61	3.97 d	1
6	25	50	25	89.99 c	15.24 c	3.11 b	98.64	4.02 d	1
ESx				0.73	0.08	0.07	1.08 n.s	0.07	
<b>‘Criollo-9’</b>									
1	100			96.42 b	15.11 d	2.50	99.65	5.05 b	2
2	25	75		99.40 a	16.03 b	3.38	100.00	5.97 a	3
3	50	50		95.23 b	16.64 a	3.41	100.00	5.07 b	2
4		50	50	93.20 c	15.08 d	2.87	98.95	4.65 c	2
5		75	25	92.97 c	15.50 c	3.39	99.30	4.50 c	2
6	25	50	25	93.08 c	15.24 d	3.21	99.30	4.02 d	2
ESx				0.55	0.03	0.30 n.s	1.01 n.s	0.09	
<b>‘Martínez’</b>									
1	100			94.28 ab	15.16 d	2.33 d	98.58	4.95 b	2
2	25	75		96.90 a	15.09 b	3.34 ab	100.00	5.57 a	3
3	50	50		93.08 bc	15.86 a	3.42 a	99.65	4.57 c	2
4		50	50	92.73 bc	15.32 d	2.59 c	98.95	4.62 c	2
5		75	25	87.14 d	15.00 c	3.40 a	99.60	4.20 d	1
6	25	50	25	90.71 c	15.55 d	3.17 b	98.95	4.22 d	2
ESx				0.81	0.05	0.06	1.12 n.s	0.08	
<b>‘Vietnamita’</b>									
1	100			93.68 ab	15.18 d	2.03 e	98.95	4.85 b	2
2	25	75		95.35 a	16.60 a	3.44 b	100.00	5.47 a	3
3	50	50		92.60 b	16.64 a	3.55 a	99.30	4.70 c	2
4		50	50	92.37 b	15.08 d	2.27 d	98.95	4.22 d	3
5		75	25	80.37 d	15.50 b	3.50 ab	98.50	4.00 e	1
6	25	50	25	87.85 c	15.24 c	3.07 c	98.95	3.95 e	1
ESx				0.59	0.08	0.02	1.07 ns	0.05	

<sup>I</sup> Cargada (Litonita)    <sup>II</sup> Cachaza    <sup>III</sup> Ferralítico Rojo compactado (7)    ns- No significativo  
 1.- Poco vigorosas    2.- Vigorosas    3.- Muy vigorosas

Las medias con letras diferentes presentan significación estadística, según la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ).

Otro aspecto muy importante que se debe destacar es que las plántulas se mantuvieron en esta fase de aclimatización durante 35 días y están listas para su trasplante definitivo a campo a partir de los 32 días en cultivos como el tomate, la col y el pimiento (21, 22), que si el trasplante se realiza con antelación a esta fecha, provocaría un efecto negativo en la supervivencia de las plantas, por lo que nosotros coincidimos con los autores antes citados.

También se han informado buenos resultados en esta fase de aclimatización en diferentes cultivos mediante el empleo de brasinoesteroides y cepas de hongos formadores de micorrizas arbusculares combinadas con un sustrato adecuado (23, 24), ya que favorecen la supervivencia, el enraizamiento y vigor de las plantas.

Teniendo en cuenta los resultados que se obtuvieron en el trabajo, se puede plantear que la adaptación a campo de los microbulbillos debe realizarse en bandejas plásticas tronco piramidales (cepellones), que contengan como sustrato una mezcla de litonita (25 %) y cachaza (75 %); las plantas se consideran aptas para su trasplante definitivo a campo a los 35 días, que tienen más de dos hojas fotosintéticamente activas, 15 cm de altura, 100 % de enraizamiento, una longitud de las raíces superior a 5 cm y plantas muy vigorosas, lo que posteriormente se revierte en un 100 % de supervivencia de las plantas en condiciones de campo.

Este trabajo constituye el primer informe en el que se emplea la tecnología de producción de plántulas en cepellones en el cultivo del ajo en Cuba.

## AGRADECIMIENTOS

Le agradecemos a la Dra. María C. González Cepero del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas y al Dr. Sergio González Suárez de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana, por la revisión del trabajo y las sugerencias realizadas para mejorar su calidad; así como a la Dra. Xonia Xiqués de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana, por la revisión de la estadística.

## REFERENCIAS

- Engeland, R. Growing great garlic. 7 ed. Okanogan, Washington : Filaree Productions, 1996, 213 p.
- Orellana, P. Propagación vía organogénesis. En: Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología. Santa Clara : IBP, 1998b. p. 180-203.
- Agramonte, D.; Jiménez, F. y Dita, M. A. 1998. Aclimatación. En: Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología. Santa Clara : IBP, 1998, p. 193-206.
- Orellana, P. Introducción a la propagación masiva. p. 151-178. En: Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología. Santa Clara : IBP, 1998a. 390 p.
- FAO. Intercambio y propagación de germoplasma de ajo a través de microbulbillos. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1991. 45 p.
- Gómez, O.; Depestre, T.; Izquierdo, H.; Disotuar, R.; Vázquez, C.; Ramírez, S.; Bejerano, M. J.; Peralta, E. L. y Dalmau, E. Obtención de clones de ajo libres de virus por cultivo de meristemas. En: Fórum de Ciencia y Técnica (8:1993:La Habana), 1993. 10 h.
- Casanova, A. Guía técnica para la producción de plántulas de hortalizas en cepellones. La Habana: MINAG : IIHLD. 1999. 7 p.
- González, J. Sustratos más empleados en la aclimatación de vitroplantas. En: Adiestramiento en aclimatación de plántulas *in vitro* e *in vivo*. Conferencia. Ciego de Avila : Centro de Bioplasmas, 1998. 4 h.
- Izquierdo, H.. Propagación *in vitro* de genotipos cubanos de ajo (*Allium sativum* L.). [Tesis de Maestría]; Universidad de La Habana, 2000. 92 p.
- Cuba. MINAGRI. Instituto de Suelos. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. La Habana : MINAG, 1999, 26 p.
- Izquierdo, H.; Quiñónez, Y.; Ramírez, S.; Vázquez, C.; Bejerano, M. J.; Disotuar, R.; Peralta, E. L.; Betancourt, J. y Dalmau, E. Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa para la obtención de microbulbillos de *Allium sativum* L. *in vitro* y su posterior establecimiento. En: Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. Sección Bioproductos. (3:1998:La Habana), 1998.
- Ivanov, V. B.; Bystrova, E. I.; Dubrovsky, J. G. y Ploshinskaya, M. E. Duration of lateral root formation in maize seedlings as affected by diverse factors. En: Root demographics and their efficiencies in sustainable agriculture. Grassland and forest ecosystems. The Netherlands : Kluwer Academic Publishing, 1998. p. 777-787.
- Dubrovsky, J. G. Determinate primary root growth in seedlings of *Sonora Desert (Cactaceae)*. Its organization, cellular basis, and ecological significance. *Planta*, 1997, vol. 203, p. 85-92.
- Bowman, J. L. y Eshed, Y. Formation and maintenance of the shoot apical meristem. *Trends Plant Sci.*, 2000, vol. 5, p. 110-115.
- Dubrovsky, J. G. Determinate primary root growth in *Stenocereus gummosus (Cactaceae)*. Its organization and role in lateral root development. En: Biology of root formation and development. New York, London : Plenum Press, 1997b, p. 13-20.
- Cañal, M. J.; Rodríguez, R.; Fernández, B.; Sánchez-Tames, R. y Majada, J. P. Fisiología del cultivo *in vitro*. *Biotecnología Vegetal*, 2001, vol. 1, no. 1, p. 3-9.
- Ortiz, R.; Fe, C. de la y Lara, D. Aportes a la tecnología de micropropagación de la caña de azúcar aplicada en Cuba. I. Sustratos más eficientes para la adaptación de vitroplantas. *Cultivos Tropicales*, 1998, vol. 19, no. 2, p. 45-50.
- Rodríguez, R.; Escalona, M.; Rodríguez, Y.; Cid, M. y González-Olmedo, J. L. Aclimatación de plántulas de caña de azúcar (*Saccharum* sp. híbrido) provenientes de sistemas de inmersión temporal. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 3, p. 51-56.
- Conover, C. A. Foliage plants. p. 273-294. En: Ball Redbook. Ball Publishing, 1998.
- Miguéles, Y.; Trujillo, R.; Daquinta, M.; Concepción, O. y Nápoles, L.. *Biotecnología Vegetal*, 2001, vol. 1, no. 1, p. 49-55.
- Casanova, A.; Gómez, O.; Depestre, T.; Ferro, J. L.; Bravo, E.; González, F. M.; Jiménez, R.; Cuartero, J.; Stefanova, M. y Sandoval, I. Tecnología de producción de posturas de hortalizas en cepellones. *Producción de Cultivos en Condiciones Tropicales*. La Habana, 1998. 44 p.
- Ferro, J. L.; Casanova, A.; González, F. M. y Bravo, E. Influencia de diferentes bandejas-semillas sobre la calidad de las plántulas y el rendimiento del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo cultivo tradicional. *Producción de Cultivos en Condiciones Tropicales*. La Habana, 1998. p. 10-13.
- Fe, C. de la; Ortiz, R. y Jiménez, M. Aportes a la tecnología de micropropagación de la caña de azúcar aplicada en Cuba. II. Efecto de análogos de brasinoesteroides en la multiplicación, el enraizamiento y la adaptación de las vitroplantas. *Cultivos Tropicales*, 1998, vol. 19, no. 3, p. 45-48.
- Noval, B. de la; Hernández, M. I. y Hernández, J. C. Utilización de las micorrizas arbusculares en la adaptación de vitroplantas de banano (*Musa* sp.): Dosis y cepas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y combinaciones de sustratos. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, no. 3, p. 5-9.

Recibido: 11 de diciembre del 2001

Aceptado: 2 de abril del 2002