

# Establecimiento de un protocolo in vitro para el cultivo del ajo (*Allium sativum*) en Costa Rica

Establishment of an in vitro cultivation of garlic (*Allium sativum*) protocol in Costa Rica

Jaime Brenes-Madríz<sup>1</sup>  
Anny Guillén-Watson<sup>2</sup>

Fecha de recepción: 07 de febrero del 2014  
Fecha de aprobación: 02 de junio del 2014

Brenes-Madríz, J; Guillén-Watson, A. Establecimiento de un protocolo in vitro para el cultivo del ajo (*Allium sativum*) en Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. Vol. 27, N° 4, Octubre-Diciembre. Pág 49-57.

- 1 Ing. Agrónomo. Profesor investigador. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: jabrenes@itcr.ac.cr
- 2 Lic. en Ingeniería en Biotecnología. Investigadora en Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio). Heredia, Costa Rica.

## Palabras clave

Ajo; micropropagación; cultivo in vitro.

## Resumen

El cultivo del ajo en Costa Rica tiende a desaparecer, debido a la importación de esta hortaliza desde China y Taiwán y a la pérdida de calidad y vigor de la semilla, lo que ha provocado una reducción del área de siembra en el país. Para la investigación que se presenta en este artículo se utilizaron ajos cultivados en la zona de Llano Grande, Cartago, que pertenecen a pequeños agricultores que siembran con semilla heredada de generación en generación. Se evaluaron cuatro desinfecciones con hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones y tiempos de exposición, además de cuatro medios de cultivo M&S (1962), con diferentes reguladores de crecimiento. La mayor sobrevivencia para el establecimiento in vitro se obtuvo lavando los bulbillos con agua y jabón y pasándolos después a una solución de Zetaran® y Agri-mycim® 5 g/l de cada uno por 45 minutos. Luego se realizó una segunda desinfección con hipoclorito de sodio al 3,5% p/v por 20 minutos en una cámara de flujo laminar y se realizaron tres lavados con agua bidestilada estéril. El medio de cultivo que presentó los mejores resultados fue el Murashige y Skoog (1962), complementado con 1 mg/L de 2-isopenteniladenina (2iP) y 2,5 mg/L de ácido indolacético (AIA). La tasa de sobrevivencia de los explantes oscila alrededor del 28,7% y se obtuvo un promedio de 1,6 brotes por explante, lo que se considera una tasa de brotación muy baja.

## Key words

Garlic; micropropagation; in vitro culture.

## Abstract

The cultivation of garlic in Costa Rica tends to disappear, because this vegetable imports from China and Taiwan and loss of quality and seed vigor, which caused a reduction of planting area in the country. For the research presented in this article garlic grown in the area of Llano Grande, Carthage, belonging to small farmers who sow seed inherited from generation to generation were used. Four disinfection with sodium hypochlorite at different concentrations and exposure times were evaluated, plus four culture media M & S (1962), with different growth regulators. Most survival for establishing in vitro was obtained by washing the cloves with soap and water and then passing them to a solution of Zetaran® and Agri-mycim® 5 g / l each for 45 minutes. A second disinfection with sodium hypochlorite was then performed at 3.5% w / v for 20 minutes in a laminar flow chamber and three washes with sterile double distilled water were conducted. The culture medium provided the best results was Murashige and Skoog (1962) supplemented with 1 mg / L 2-isopentenyladenine (2iP) and 2.5 mg / L indoleacetic acid (IAA). The survival rate of explants hovers around 28.7% and an average of 1.6 shoots per explant was obtained, which is considered a very low rate of sprouting. Título: Establishment of an in vitro cultivation of garlic (*Allium sativum*) protocol in Costa Rica.

---

## Introducción

El ajo pertenece a la familia Amaryllidaceae y es una hortaliza que han utilizado diversas culturas como condimento y planta medicinal, con gran demanda y producción. El ajo se consume habitualmente fresco y deshidratado. También existen preparados de ajo (en polvo, tabletas, agua, aceite o formulaciones a base de etanol) que se comercializan como fuente importante de compuestos organosulfurados, entre ellos la alicina. En Costa Rica, este cultivo tiene una gran demanda debido a su uso culinario, en

agricultura orgánica como repelente y últimamente ha tomado mucha importancia en el campo médico por su relación con la prevención de enfermedades cardiovasculares, pulmonares y cáncer e incluso por su efecto antibiótico (Portela, 2007).

Los cultivares de ajo generalmente se clasifican por el color del bulbo, el tamaño, la forma, el porte vegetativo y el número, forma y color de los dientes (Heredia y Delgadillo, 2000). El Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Argentina (2002) también ha incorporado en la descripción

de sus variedades el nivel de pungencia (picor) y las características organolépticas, nutraceuticas e industriales.

Según datos de Eguillor (2010), China es el mayor productor de ajo, seguido de India y la República de Corea. Se considera que el continente asiático produce alrededor del 80,7%, con un rendimiento de 18,1 toneladas por hectárea (ha); mientras que España, Francia e Italia obtienen un 11,1% de la superficie cosechada y un 6,4% de la producción mundial, con el rendimiento más bajo, 6,2 toneladas por ha.

En Latinoamérica, Argentina presenta la mayor área de siembra, con 15600 ha y un rendimiento de 9 toneladas por ha, seguido por Brasil, con 10214 ha y un rendimiento de 9 toneladas por ha. No obstante, México y Estados Unidos alcanzan los mayores rendimientos (16,5 tn/ha) al aportar 2,5% de la producción mundial con solo el 1,6% de la superficie cosechada (Eguillor, 2010).

A nivel nacional, el ajo se cultiva mayormente en la zona de Llano Grande de Cartago, a una altura de 2100 metros sobre el nivel del mar (msnm), cuya área de siembra se sitúa en alrededor de 3 ha anuales, con una producción estimada de 15 toneladas por ha (Zúñiga y Brenes, 2013). Además, este cultivo se caracteriza por realizarse en pequeñas áreas y siempre asociado a la siembra de otras hortalizas como cebolla, papa y zanahoria, entre otras.

En Costa Rica, se considera que el ajo es promisorio por su alta demanda y su precio de venta; de ahí la importancia de poder desarrollar programas de mejoramiento tanto de la semilla como del manejo agronómico del cultivo.

El Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), con el apoyo del Fondo Especial para la Educación Superior (FEES), ha desarrollado diversas investigaciones referentes a este cultivo, alcanzando temas como la identificación de agricultores, zonas de cultivo, identificación de virus, análisis moleculares y el establecimiento de un protocolo in vitro para la multiplicación masiva. Este último tópico es relevante debido a la importancia de los agricultores en la obtención de semilla de alta calidad y en las cantidades necesarias para los diferentes sectores hortícolas del país.

Sin embargo, para desarrollar procesos de propagación in vitro del ajo, cada país emplea materiales autóctonos y en cada caso los materiales vegetales

responden de manera diferente a las desinfecciones y a los medios de cultivo, ya que la obtención del número de plantas depende de la especie utilizada y/o las condiciones del medio de cultivo. Es por ello que resulta necesario considerar todos los factores que afectan el crecimiento para alcanzar incrementos exponenciales, como son la evaluación, el ajuste y la optimización de los protocolos con respecto a la zona en la que se esté trabajando (Castillo, 2004).

Una buena selección y el crecimiento de la planta madre en condiciones asépticas controladas de invernadero son factores a considerar para reducir notablemente la contaminación del ajo por microorganismos. Los microorganismos contaminantes compiten por los nutrientes del medio y provocan daños directos e indirectos a los cultivares al colonizar sus tejidos o expulsar metabolitos tóxicos en el medio de cultivo (Alvarado 2000).

A las plantas madre que proceden del campo y se encuentran en el invernadero se les deben aplicar productos agroquímicos (fungistáticos y bacteriostáticos), con el propósito de disminuir la incidencia de hongos y bacterias que se encuentran en el material vegetal.

Conci y colaboradores (2007) han podido detectar que la multiplicación no es homogénea para todos los clones, ya que algunos lo hacen en mayor cantidad que otros. Por otra parte, también se ha comprobado que la tasa de multiplicación varía con el número de repiques en el medio de multiplicación (siendo baja en los primeros y aumentando a partir del segundo o tercer repique a medio fresco) y dependiendo de los cultivares y del tiempo de permanencia en las condiciones in vitro.

El objetivo de esta investigación es implementar un protocolo de cultivo in vitro del ajo criollo en Costa Rica con material procedente de Llano Grande, Cartago, para la obtención de semilla de alta calidad y disponible para los agricultores.

## Materiales y metodología

### Recolección del material vegetal

La recolección de los materiales se llevó a cabo en Llano Grande de Cartago, situado a una altura de 2100 msnm, con una precipitación promedio de 215 mm mensuales de mayo a junio y una temperatura promedio máxima de 18 °C y mínima de 12 °C. Se

visitaron seis agricultores, todos ellos con áreas que oscilaban entre los 700 m<sup>2</sup> y 2000 m<sup>2</sup>. Se procedió a recolectar 20 cabezas de ajos por agricultor, las cuales fueron seleccionadas por el tamaño, vigorosidad y número de dientes, para ser introducidas en el Laboratorio del Centro de Investigaciones en Biotecnología (CIB) del ITCR.

### Desinfección del explante

Las cabezas de ajo se separaron en dientes para su desinfección. Seguidamente, a los dientes de ajo se les eliminó la envoltura protectora externa (figura 1A), y se colocaron en una solución de Agrymicin® (bactericida) y Zetarán® (fungicida) con 5 g/l de cada compuesto durante 45 minutos (figura 1B). Transcurrido ese tiempo y dentro de una cámara de flujo laminar se les realizaron tres lavados con agua bidestilada estéril. Después se colocaron en una solución de NaOCl por 20 minutos a diferentes concentraciones según el tratamiento (15, 30 o 45%

de producto comercial con 3,5% de ingrediente activo) (figura 1C).

Posteriormente, los dientes de ajo se lavaron tres veces con agua bidestilada estéril. El primer lavado se efectuó rápidamente para eliminar restos del desinfectante y así evitar daños en los tejidos. Para el segundo y tercer lavado, los explantes permanecieron por tres minutos en el *beaker* con el agua bidestilada estéril. Luego, se procedió a extraer los ápices caulinares de los dientes de ajo con un diámetro de 0,2 cm y un largo de 0,5 cm aproximadamente (figura 1D), los cuales se cultivaron en tubos de ensayo de 150 mm por 25 mm, conteniendo el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962), conocido como M&S, complementado con diferentes reguladores de crecimiento (6-bencilaminopurina, 2-isopenteniladenina y Kinetina).

Finalmente, los ápices cultivados se incubaron en un cuarto de crecimiento a 24 °C, con un fotoperiodo de 16 horas luz y una intensidad lumínica de 2000 lux.

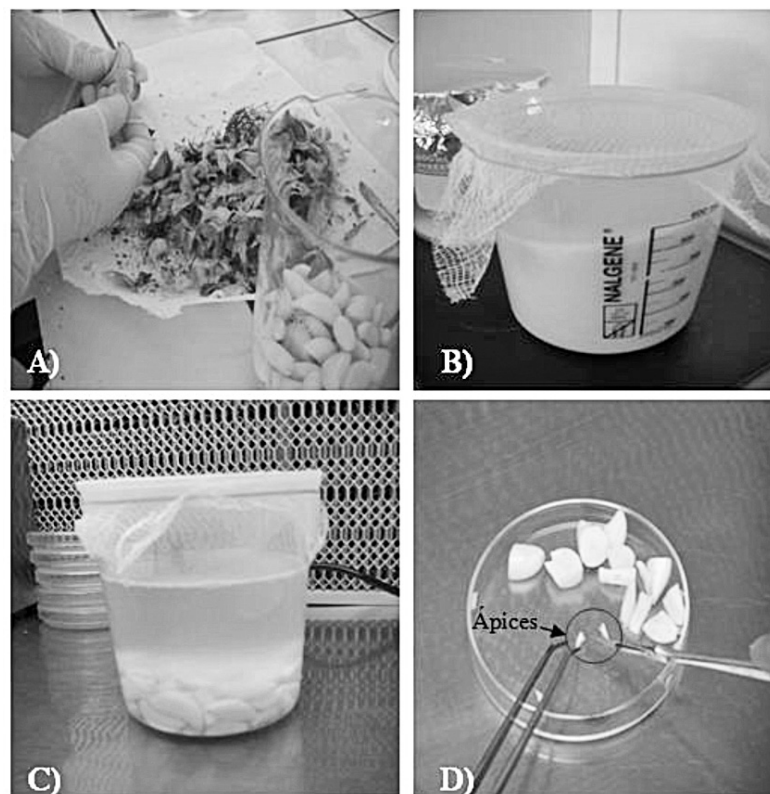


Figura 1. Proceso de desinfección: A) Eliminación de la túnica del diente de ajo, B) Desinfección con la solución bactericida y fungicida, C) Desinfección con NaOCl y D) Extracción del ápice del diente de ajo.

### Medios de cultivo

El medio de cultivo M&S (1962) se complementó con 2,5 mg/L de ácido indolacético (AIA). Adicionalmente, se le agregó uno de los siguientes reguladores de crecimiento especificados en el cuadro 1, de acuerdo con el tratamiento que se evaluó.

Para evaluar los medios de cultivo con los diferentes desinfectantes se hizo una combinación de cada uno de ellos con los diferentes desinfectantes.

En el cuadro 2 se especifican las distintas combinaciones de medios de cultivo y desinfecciones utilizadas en la introducción de ápices de ajo.

### Diseño del experimento y análisis estadístico

En la etapa de introducción y multiplicación del material se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar, con 10 explantes cultivados en 10 tubos de ensayo por tratamiento, con tres repeticiones.

Para analizar los resultados obtenidos se aplicó el análisis de varianza (Andeva) y la prueba de comparación de medias Fisher. Esto se realizó con la ayuda del programa estadístico Meet Minitab 16 de 2010.

Se introdujo un total de 480 ápices de ajo, se realizaron 16 tratamientos con tres repeticiones de 10 unidades; cada tratamiento constó de 10 ápices. Las letras A,B,C y D corresponden a los medios de cultivo empleados y los números 1, 2, 3 y 4 corresponden a las desinfecciones.

Cuadro 1. Reguladores de crecimiento valorados según tratamiento. CIB, ITCR.

ID de tratamiento	Regulador de crecimiento
Tratamiento A	4mg/L de 6-bencilaminopurina (BAP)
Tratamiento B	4mg/L de Kinetina
Tratamiento C	1 mg/L de 2-isopenteniladenina (2 ip)
Tratamiento D	2mg/L de 2-isopenteniladenina (2 ip)

Cuadro 2. Medios de cultivo versus tratamientos de desinfección utilizados. CIB, ITCR.

Medio de cultivo M&S (1962) + 2,5ml/L de AIA	Tratamiento de desinfección (3,5% i.a)
A. 4mg/L de BAP	1. NaOCl al 15% p.c
	2. NaOCl al 30% p.c
	3. NaOCl al 45% p.c
	4. NaOCl al 45% p.c
B. 4mg/L de Kinetina	1. NaOCl al 15% p.c
	2. NaOCl al 30% p.c
	3. NaOCl al 45% p.c
	4. NaOCl al 45% p.c
C. 1mg/L de 2ip	1. NaOCl al 15% p.c
	2. NaOCl al 30% p.c
	3. NaOCl al 45% p.c
	4. NaOCl al 45% p.c
D. 2mg/L de 2ip	1. NaOCl al 15% p.c
	2. NaOCl al 30% p.c
	3. NaOCl al 45% p.c
	4. NaOCl al 45% p.c

## Resultados

### Desinfección de los ápices de ajo

Para disminuir los porcentajes de contaminación de los explantes que se introdujeron, se utilizaron bactericidas, funguicidas y otros productos con acción desinfectante sobre los tejidos vegetales, además de técnicas asépticas en cámara de flujo laminar para obtener la mayor sobrevivencia de los explantes.

En los cuadros 2, 3, 4 y 5 se observa el total de explantes introducidos, los porcentajes de contaminación (hongo y bacteria), explantes sin contaminación, explantes muertos y número de brotes por explante. Como se aprecia, la mayor sobrevivencia de los explantes se logra con las desinfecciones de NaOCl al 45% y 60% p.c. (3,5i.a.). Con respecto a la brotación, esta fue muy variable, con un número bajo de brotes por explantes.

En el cuadro 3 se observa que el medio de cultivo A con la desinfección 3 presentó la mayor cantidad

de explantes sobrevivientes y la mayor brotación por explante.

En el cuadro 4 se observa que el medio de cultivo B con la desinfección 2 presentó la mayor cantidad de explantes sobrevivientes y las desinfecciones 1 y 3 presentaron igual brotación por explante.

En el cuadro 5, el medio de cultivo C con la desinfección 4 presenta la mayor cantidad de explantes sobrevivientes y el medio de cultivo C con la desinfección 3 muestra la mayor brotación por explante.

En el cuadro 6 se observa que el medio de cultivo D, con la desinfección 3, presenta la mayor cantidad de explantes sobrevivientes y que la brotación es muy parecida entre los medios de cultivo.

Al analizar estadísticamente los resultados utilizando el método de Fisher, y al realizar una comparación entre los distintos tratamientos de desinfección, se obtiene que no existen diferencias significativas entre los tratamientos 3 y 4, mientras que los tratamientos 1 y 2 son significativamente diferentes entre ellos y los demás tratamientos evaluados.

Cuadro 3. Porcentaje de explantes de ajo contaminados en las desinfecciones con el medio de cultivo A.

Medios de cultivo y desinfección	No. de explantes	Explantes con hongo (%)	Explantes con bacteria (%)	Explantes sin contaminación (%)	Explantes muertos (%)	No. de brotes / explante
A1	30	67	10	23	0	1
A2	30	67	0	33	0	1
A3	30	47	7	40	6	3
A4	30	40	10	37	13	1

Cuadro 4. Porcentaje de explantes contaminados de ajo en las desinfecciones con el medio de cultivo B.

Medios de cultivo y desinfección	No. de explantes	Explantes con hongo (%)	Explantes con bacteria (%)	Explantes sin contaminación (%)	Explantes muertos (%)	No. de brotes / explante
B1	30	60	17	23	0	2
B2	30	53	7	40	0	1
B3	30	40	10	33	17	2
B4	30	47	6	33	14	1

Cuadro 5. Porcentaje de explantes contaminados de ajo en las desinfecciones con el medio de cultivo C.

Medios de cultivo y desinfección	No. de explantes	Explantes con hongo (%)	Explantes con bacteria (%)	Explantes sin contaminación (%)	Explantes muertos (%)	No. de brotes / explante
C1	30	84	16	0	0	1
C2	30	67	13	20	0	2
C3	30	37	13	43	7	3
C4	30	33	7	47	13	1

Cuadro 6. Porcentaje de explantes de ajo contaminados en las desinfecciones con el medio de cultivo D.

Medios de cultivo y desinfección	No. de explantes	Explantes con hongo (%)	Explantes con bacteria (%)	Explantes sin contaminación (%)	Explantes muertos (%)	No. de brotes / explante
D1	30	63	16	21	0	2
D2	30	60	10	23	7	2
D3	30	37	16	43	4	2
D4	30	33	13	41	13	1

### Intervalos de confianza individuales de Fisher del 95%.

En la figura 2 se observan los porcentajes de explantes contaminado por hongos, bacterias, muertos y sin contaminación. El medio de cultivo C y las desinfecciones 3 y 4 fueron los que presentaron los porcentajes más bajos de contaminación, aunque estadísticamente no existe diferencia con el medio de cultivo D.

### Discusión

#### Desinfección de los ápices de ajo

En la contaminación de los explantes in vitro intervienen diversos factores, desde la edad del material vegetal hasta la procedencia, las soluciones desinfectantes, la forma de trabajar en la cámara de flujo laminar por parte del operario y la asepsia del cuarto de crecimiento.

Por la ubicación geográfica de Costa Rica en el trópico, se presentan condiciones de altas temperaturas, alta humedad relativa, fuertes precipitaciones y cambios climáticos bruscos, ocasionando microclimas que inciden en la multiplicación y diseminación

de hongos, bacterias y levaduras, agentes contaminantes de los medios de cultivo y de los explantes. Estos contaminantes compiten por espacio y por los nutrientes que se encuentran en el medio, además de la liberación de sustancias tóxicas por parte de algunos de ellos, que pueden provocar la muerte del material vegetal (Alvarado, 2000).

Para disminuir estas fuentes de inóculo se debe preparar el material vegetal antes de ser llevado al laboratorio, en una fase de invernadero o fase 0. Esto comprende llevar las plantas a un invernadero, donde por un periodo de tiempo se les aplican agroquímicos para disminuir las fuentes potenciales de contaminación, que pueden ser hongos o bacterias.

Entre las sustancias utilizadas para disminuir la contaminación se encuentra el hipoclorito de sodio, el hipoclorito de calcio, el cloruro de mercurio, el alcohol al 70% y el peróxido de hidrógeno. Su utilización o escogencia dependerá del tipo de tejido vegetal (herbáceo o leñoso) o de la cantidad de inóculo contaminante que presente el explante.

Vargas y García (1997), citados por López y colaboradores (2011), mencionan que el NaClO

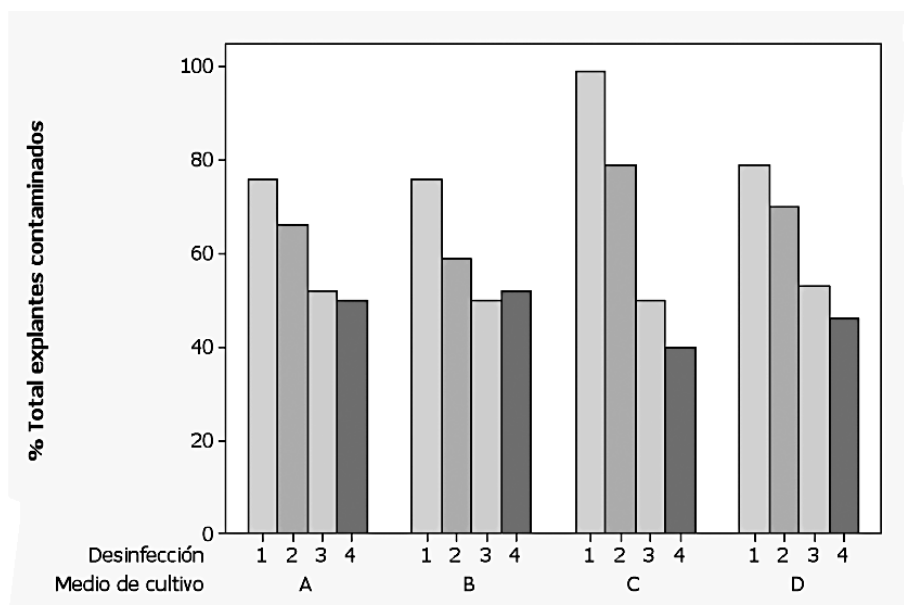


Figura 2. Porcentaje de explantes contaminados y muertos en las cuatro desinfecciones utilizadas.

Nota: Desinfección N Media Agrupación:

- 1 4 82,500 A
- 2 4 68,500 B
- 3 4 51,250 C
- 4 4 47,000 C

puede ser fitotóxico en altas concentraciones e incluso recomiendan el uso de este desinfectante en cultivos de tejidos vegetales a concentraciones de 0,01 a 3%, lo cual indica una variabilidad de respuesta dependiendo del tejido. Hasegawa y colaboradores (2000), citados por López y colaboradores (2011), indican que la susceptibilidad de los explantes al hipoclorito de sodio está asociada al catión Na<sup>+</sup>, el cual corresponde a un ion no esencial en la mayor parte de los tejidos vegetales que es altamente tóxico en una gran variedad de plantas.

El tratamiento C3 fue el que presentó los mejores resultados de sobrevivencia, menos explantes contaminados y muertos. Esto puede deberse a que en este tratamiento la dosis ejerció un mejor control sobre algunos patógenos, pero no lo suficiente para obtener un porcentaje más elevado de explantes sobrevivientes. Otro factor a considerar es el origen de la semilla o material madre, el cual procedía de campos que contenían altos porcentajes de inóculo de hongos como *Sclerotium cepivorum* y *Fusarium oxysporium* y bacterias como *Erwinia* sp. y *Pseudomonas marginales* pv *marginales*; todos estos

patógenos influyen directamente en los resultados obtenidos en las desinfecciones (Brenes et al., 2012).

A concentraciones bajas del desinfectante, los agentes contaminantes logran sobrevivir entre las capas de tejido vegetal y contaminar el explante. Se puede apreciar en este caso que al incrementarse la concentración del hipoclorito de sodio, este no actúa de forma eficiente sobre los patógenos presentes. Sin embargo, tal y como reportan algunos autores, a concentraciones altas del desinfectante se inhiben los agentes contaminantes pero se incrementa el porcentaje de explantes muertos, debido al daño ocasionado por el hipoclorito de sodio sobre las células. En las desinfecciones C3 y C4 no hay diferencias significativas, por lo que se recomienda utilizar la desinfección con hipoclorito de sodio al 45%, que presenta un costo menor en la desinfección.

#### Multiplicación de explantes

Haque y colaboradores (1998), citados por Heredia y Delgadillo (2000), comentan que en el pasado solo era posible obtener un explante por diente, y ahora se pueden lograr hasta 40 explantes al inicio.



En 10 meses, al completar tres ciclos de propagación, es posible obtener 5838 nuevos individuos de un solo diente.

En cuanto a la multiplicación del material vegetal introducido, los datos obtenidos no son los deseados para una multiplicación masiva, ya que en algunos casos los explantes solo crecieron pero no se obtuvo brotación. La multiplicación es considerada la etapa más importante del proceso, en la cual se debe garantizar la propagación de los brotes y la estabilidad genética de las plantas producidas, por lo que se deben buscar otras opciones de multiplicación de los ápices, como la embriogénesis somática.

Los materiales in vitro subcultivados en distintos reguladores no ofrecieron respuesta positiva en la producción de brotes; estos materiales se subcultivaron en cuatro ocasiones. Esto puede deberse, tal y como mencionan Conci y colaboradores (2007), a que no todos los materiales responden a los reguladores de crecimiento, por lo que para solventar este problema actualmente se están realizando ensayos en embriogénesis somática.

## Bibliografía

Alvarado, Y. (2000). *Curso Internacional de Propagación Masiva in vitro de especies vegetales*. Control y prevención de la contaminación microbiana en la micropropagación de plantas. Santa Clara, Cuba.

Brenes, J., Rivera, W. y Zúñiga, V. (2012). Cultivo del ajo. Combate de la enfermedad del torbó (*Sclerotium cepivorum*). Material didáctico para agricultores.

Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Las Brujas, Uruguay: AR-VITRO, INIA. Obtenido de

[http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/ad/2004/ad\\_382.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/ad/2004/ad_382.pdf)

Conci, V., Cafrune, E., Lunello, P., Canvelli, A., Nome, S., Bracamonte, R., Alochis, P. y Perotto, M. (2007). *Incidencia de los virus en la producción de ajo y su control*. Buenos Aires, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). AR, 4, 55-60.

Hasegawa, P. M., Bressan, R., Zhu, J. K. y Kohnert, J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Mol. Biol.* 51, 463-499.

Heredia, E. y Delgadillo, F. (Comps). (2000). *El ajo en México: origen, mejoramiento genético y tecnología de producción*. Libro Técnico 3. INIFAP. ISBN: 968-800-486-3 SAGAR, INIFAP, Campo Experimental Bajío. Celaya, Gto. México.

INTA (2002). *Ajo argentino*. Los varietales del INTA. Estación experimental Agropecuaria La Consulta. Documentos institucionales 081. Ed. Instituto Nacional de Tecnología Aplicada.

Pérez, P. (1998). *Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología*. Santa Clara, Cuba: Instituto Biotecnológico de Plantas.

Portela, A. (2007). *Ajo argentino*. Pautas de cultivos para la Región Andina Central argentina. Estación experimental Agropecuaria La Consulta. INTA.

Producción mundial de ajo. Obtenido de <http://www.made-in-argentina.com>. producción mundial de ajo.

Vargas, T. y García, E. (1997). Propagación in vitro de *Cala Blanca Spathiphyllum* sp. *Agronomía Tropical*, 47, 171-183.