



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

255-4

BUENOS AIRES, 23 OCT 1998

VISTO la necesidad de reglamentar la metodología de análisis para determinar la calidad de los bulbos de ajo destinados a semilla, y

CONSIDERANDO:

Que el artículo 6°, inciso ñ) del Decreto N° 2183/91 faculta al Organismo de Aplicación a fijar las normas de funcionamiento de los laboratorios de análisis de semillas.

Que la COMISION NACIONAL DE SEMILLAS en su reunión del día 14 de setiembre de 1998, Acta N° 256, dió su opinión favorable al respecto.

Que el DIRECTORIO DEL INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS en su reunión del día 25 de setiembre de 1998, Acta N° 50, dió su aprobación al proyecto.

Que la suscripta es competente para firmar el presente acto administrativo en virtud de lo dispuesto por el artículo 9°, inciso d) del Decreto N° 2817 del 30 de diciembre de 1991.

Por ello,



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

EL DIRECTORIO DEL INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS

RESUELVE:

ARTICULO 1°. Apruébanse las normas que establecen la metodología de análisis para determinar la calidad de los bulbos de ajo destinado a semilla, que como anexo forman parte de la presente resolución.

ARTICULO 2°. Comuníquese, publíquese, dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese.

RESOLUCION N°: 255

Ing. Agr. ADELAIDA HARRIES
Presidenta del
Instituto Nacional de Semillas (INASE)



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

ANEXO

METODOLOGIA PARA ANALISIS DE SEMILLA DE AJO

1. MUESTRA QUE INGRESA AL LABORATORIO

Para análisis del virus del enanismo amarillo ("Onion Yellow Dwarf Virus, OYDV"), en la **Clase Fiscalizada, categoría Básica, subcategoría Preinicial**, ingresan al laboratorio muestras de una planta por descendencia de cada meristema (cultivo "in vitro") y **para la subcategoría Inicial**, muestras de 100 hojas por lote.

Para los análisis físicos, morfológicos y fisiológicos; la determinación de hongos, nematodos, eriófidos y OYDV, y a partir de la **categoría Básica subcategoría Fundación**, las muestras que ingresan al laboratorio son de 100 bulbos.

Las muestras se deben rotular, acondicionar evitando cualquier alteración del estado inicial de las mismas, ya sea por cambios de temperatura, humedad relativa, desprendimiento de tierra o trozos de tejido (4,5). El código de la muestra se registrará en el Formulario 1 o Libro de entrada, donde constarán los datos que identifican a las muestras.

2. ANALISIS FISICOS, FISIOLOGICOS, MORFOLOGICOS Y PUREZA

VARIETAL



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

Estos análisis se realizan con la muestra de 100 bulbos. Los mismos se colocan sobre una superficie plana y bien iluminada que permita la observación comparativa y se evaluarán según el análisis de que se trate siguiendo los pasos de la Figura 1 y completando el Formulario 2.

2.1. Análisis de daños mecánicos

Los bulbos que muestren signos de daños mecánicos, ya sean causados por herramientas de cosecha como de manipuleo y transporte (independientemente de su magnitud) se recuentan y expresan su valor en porcentaje; luego se mezcla la totalidad de los bulbos y, nuevamente a partir de los 100 bulbos, se procede a la evaluación de la siguiente característica.

2.2. Análisis de daños fisiológicos

Los bulbos que muestren signos de daños fisiológicos como "parálisis cerosa", "decoloraciones", "agrietamiento del disco", "agrietamiento (cracking) de los bulbos", "escaldaduras" (independientemente de su magnitud) se recuentan y expresa su valor en porcentaje; luego se mezcla la totalidad de los bulbos y, nuevamente a partir de los 100 bulbos, se procede a la evaluación de la siguiente característica.

2.3. Análisis de defectos de forma



1998 Año de los Municipios

*Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas*

Los bulbos que manifiesten defectos tales como "ajo de dos pisos", "ajo pera", "ajo macho", "ajo rebrotado", "ajo martillo", "dientes extras", etc. (independientemente de su magnitud) se recuentan y expresa su valor en porcentaje; luego se mezclan nuevamente (5,6).

2.4. Pureza varietal (Bulbos fuera de tipo)

Los bulbos que no respondan al ideotipo de la variedad por presentar desviaciones se recuentan y expresa su valor en porcentaje; luego se mezcla la totalidad de los bulbos y, nuevamente a partir de los 100 bulbos, se procede a la evaluación de la siguiente característica.

2.5. Cálculo del calibre ponderado

Únicamente los bulbos con aptitud comercial como "semilla" (no se incluyen los que presenten defectos, ni anomalías ni desvíos en su pureza varietal) se calibrarán siguiendo los valores consignados en la Tabla 1, utilizando el orificio de la calibradora con el límite superior de cada categoría. La placa calibradora deberá tener un espesor máximo de 8 mm.

Luego del recuento de unidades por calibre, el calibre ponderado se consigue a través de una media ponderada (suma de los productos entre el valor del calibre y el valor de la



*Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas*

frecuencia correspondiente, dividida por el número total de bulbos analizados).

2.6. Cálculo del rendimiento potencial

El valor del calibre ponderado se corresponde a un determinado valor de peso, que surge de los ábacos preparados al efecto (Fig. 2 y 3) y se multiplica por la densidad declarada en campo por el inspector, a la que se le deberá restar el porcentaje correspondiente al total de defectos.

La cantidad de estampillas u obleas de certificación se entregarán de acuerdo al rendimiento potencial calculado por esta vía.



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

TABLA 1. Calibres de bulbo de ajo

CALIBRE	DIAMETRO TRANSVERSAL (mm)	ORIFICIO CALIBRADORA (mm)
3	26 a 35	35
4	36 a 45	45
5	46 a 55	55
6	56 a 65	65
7	66 a 75	75
8	76 a 85	85
9	más de 86	

3. ANALISIS MICOLOGICO

Determinación de *Helminthosporium allii* Campanile (16,21),
Fusarium spp., (2,3,8) y *Penicillium spp.* (2).

La muestra para estos análisis se prepara extrayendo un "diente" de cada uno de los 100 bulbos.

Los 100 "dientes" destinados a estos análisis se preparan en 4 grupos de 25 unidades enteras (sin pelar ni cortar), las que se disponen separadas como mínimo 2 cm entre si, sobre 6 láminas de papel toalla de germinación (47 g/m²), humedecido con agua corriente, por única vez, a razón de 1 cm³/g de papel.

Las capas de papel, que deben mostrarse sin agua libre bajo presión dactilar, se disponen en una caja de tapa plástica transparente y/o bolsa de polietileno cristal de espesor inferior a los 30 micrones ("blotter test") (23).



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

Las cajas se incuban en cámaras climatizadas a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 8 días con iluminación alternada (12 horas luz - 12 horas oscuridad).

La iluminación es provista por tubos de luz cercana al ultravioleta ("luz negra") (365 nm), separados 20 cm entre sí, colocados a 40 cm sobre las cajas. La utilización de luz negra es a los fines de favorecer la esporulación de los hongos aunque también se puede utilizar luz blanca de tubos fluorescentes comunes.

Luego del período de incubación prescripto se procede a la lectura de los diferentes hongos patógenos desarrollados sobre los "dientes". El recuento de éstos se basa en la presencia o ausencia sobre cada unidad, anotando sobre el papel toalla, con lápiz acuarela, una letra que identifique a cada patógeno, y se expresa el resultado como proporción de dientes con presencia de los mismos (23). Los resultados se consignan en el Formulario 3.

4. ANALISIS DE NEMATODOS, ERIOFIDOS Y ACAROS

Están referidos a la presencia de *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev (Nematoda) (11,12,14,17), *Aceria tulipae* Keifer y *Rhizoglyphus spp.* (Acarina).



1998 Año de los Municipios

*Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas*

La muestra para estos análisis se prepara extrayendo un "diente" de cada uno de los 100 bulbos.

La muestra de 100 "dientes" se pesa, luego se pela hasta dejar expuesta la sustancia de reserva.

Las hojas de protección de los "dientes" se disponen sobre tamices de malla gruesa (" 9 mesh": orificio 2 mm, alambre 0,9 mm) y éstos dentro de embudos cuyo diámetro interno es de 160 mm, conectados en la parte inferior por un tubo de goma y una pinza de Mohr (1,7,25).

Los embudos se llenan con agua caliente (50° C), se tapan y se dejan 24 horas. Al cabo de este tiempo se extrae todo el líquido del embudo recogiénolo en un vaso de precipitado.

El líquido se filtra a través de un tamiz de malla 325 (44 micrones) en el que quedan retenidos los nematodos, eriófidos y ácaros.

El contenido del tamiz se lava y se vierte en un frasco. Para eliminar la turbidez de la muestra, se agrega una cucharada (6 g) de caolín, se deja reposar 10 minutos y se centrifuga 5 minutos a 1800 unidades g.

El sobrenadante se desecha y se continua trabajando con el sedimento. Al mismo se le agrega una solución azucarada de densidad 1.18 y se centrifuga 2 minutos a 1700 unidades g. El sobrenadante se vuelca en tamiz de malla 325, se enjuaga con



1998 Año de los Municipios

*Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas*

agua corriente para lavar el azúcar, y se coloca en frascos para luego realizar el recuento de los nematodos y eriófidos.

El análisis se realiza sobre toda la muestra, en cajas de vidrio (de petri) bajo lupa binocular (15 a 45x). Para facilitar el conteo se delimitan 8 sectores circulares, con marcadores indelebles.

Los resultados de la lectura se expresan en número de ejemplares de nematodos, eriófidos y ácaros por peso en 1000 gramos de muestra (Formulario 4).

5. ANALISIS VIROLOGICO

En la muestra de hojas o de "dientes", se realizará el análisis virológico optando por uno de los dos protocolos que se detallan a continuación:

PROTOCOLO 1. Desarrollo de la prueba inmunoenzimática de doble sandwich de anticuerpo (DAS-ELISA) para el diagnóstico de OYDV (Onion Yellow Dwarf Virus) (9,10,15,20,22,24,26).

1. Cobertura de la placa con inmunoglobina (Ig): Diluir la Ig a la dilución óptima (determinada en una placa de calibración) con el tampón de sensibilización (tampón "coating"). Colocar 200 microlitros de esa dilución en cada celdilla.



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

Cubrir la placa con polietileno para evitar deshidrataciones e incubar durante 4 horas a 37 °C.

2. **Lavado de la placa:** Vaciar y lavar la placa, luego llenar las celdillas con tampón de lavado, dejar reposar tres minutos y vaciar la placa. Este procedimiento se repite tres veces.

3. **Preparación y agregado de antígeno.** Identificar las muestras y macerarlas con tampón de extracción en una relación peso/volumen adecuada (generalmente entre 1/2 a 1/10). Conservar a 4 °C hasta su utilización. Luego de lavada la placa llenar las celdillas con 180 microlitros de cada muestra.

Las muestras se disponen en la placa según un modelo determinado previamente para su clara y rápida identificación.

Importante: Es necesario emplear 5 controles sanos diferentes, 2 enfermos y uno de tampón de extracción.

Mantener la placa a 4°C durante 16 a 18 horas (toda la noche).

4. **Lavado de la placa:** Lavar la placa de la manera ya descripta hasta que no se observen restos vegetales (3 o más lavados) y en forma cuidadosa para evitar que el contenido de una celdilla pase a la otra.



*Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas*

5. **Agregado del conjugado enzimático (Ig conjugada con fosfatasa alcalina):** Diluir el conjugado, según la concentración previamente determinada, en tampón de conjugado (tampón enzima). Agregar 180 microlitros de esta dilución por celdilla. Cubrir la placa con polietileno para evitar deshidrataciones e incubar durante cuatro horas a 37°C.

6. **Lavado de la placa:** Lavar la placa como se describió, con la variante que el último lavado de este paso se realiza con tampón de sustrato..

7. **Adición del sustrato.:** . En el tampón de sustrato disolver entre 0,6 a 1 mg/ml de P-nitrofenilfosfato y colocar 200 microlitros en cada celdilla.

CUIDADO! EL P-NITROFENILFOSFATO ES CANCERIGENO. LOS TAMPONES EMPLEADOS TIENEN AZIDA SODICA. NO PONER EN CONTACTO CON LA PIEL.

Dejar la placa en oscuridad y realizar periódicamente lecturas de absorbancia a una longitud de onda de 405 nm (nanometros).

Interpretación de los resultados



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

Se considera muestra enferma toda aquella que da un valor de absorbancia superior al promedio de los testigos sanos unas dos veces el desvío standar.

Los resultados del análisis se informan en el Formulario 5.

TAMPONES PARA DAS-ELISA

PBS (Tampón fosfato salino) (PBS) (g/l)

ClNa	8
KH ₂ PO ₄	0,2
Na ₂ HPO ₄	1,15
KCl	0,2
NaN ₃	0,2
Llevar a pH	6,8

Tampón de lavado (PBS + Tween)

PBS + 0,5 ml de Tween-20 / litro

Tampón de sensibilización ("tampon coating") (g/l)

Na ₂ CO ₃	1,59
NaHCO ₃	2,93
NaN ₃	0,20

Llevar a pH 9,6

Tampón de extracción

PBS + Tween-20g 0,5 ml/l

PVP 20 g/l



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

ovoalbúmina 10 mg/l

Tampón de conjugado (tampon enzima)

PBS + Tween-20 0,5 ml/l

PVP 29 g/l

ovoalbúmina 2 g/l

Tampón de sustrato

Dietanolamina 97 ml

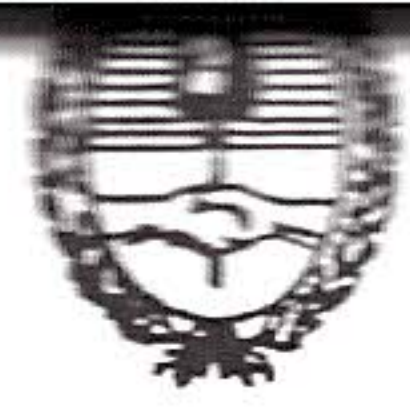
H₂O 800 ml

NaN₃ 0,2 g

Llevar a pH 9,8

PROTOCOLO 2. Desarrollo de la prueba ELISA- indirecto para potyvirus (18, 19)

1. **Preparación de la muestra.** La muestra se prepara extrayendo la savia en solución tampón de extracción en una relación de 1:10 (volumen de savia: volumen de tampón de extracción) o macerando tejido vegetal en tampón de extracción en la misma relación (peso de tejido: volumen de tampón de extracción). Colocar 100 microlitros de la muestra por celdilla. Utilice un marcador indeleble permanente para rotular



*Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas*

cada placa con su número de análisis. Realice un diagrama de la localización de las muestras cuando llene la placa.

2. **Incubación.** Se sugiere incubar las placas en una cámara húmeda. Cuide que las mismas no permanezcan descubiertas durante la incubación.

3. **Lavado.** Las placas se deben lavar 3 a 5 veces con tampón fosfato más Tween, asegurándose que no queden restos vegetales en las celdillas antes del último lavado.

4. **Preparación del anticuerpo.** El anticuerpo concentrado debe diluirse según la recomendación del fabricante en tampón conjugado.

5. **Incubación.** Idem punto 2.

6. **Lavado.** Las placas deben lavarse con tampón fosfato más Tween, 4 a 8 veces.

7. **Preparación del conjugado.** El conjugado se prepara diluyendo el mismo en tampón conjugado a la dilución recomendada por el fabricante.



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

8. **Incubación.** Idem punto 2.

9. **Lavado.** Idem punto 6.

10. **Preparación del sustrato.** PNP (p-nitrofenil fosfato)-sustrato se prepara disolviendo las tabletas de PNP en PNP tampón a temperatura ambiente (ej., agregar una tableta de 5 mg de PNP por cada 5 ml de PNP tampón a temperatura ambiente). Disuelva completamente las tabletas antes de usar la solución. El PNP sustrato debe prepararse inmediatamente antes de usar. La solución sustrato no debe exponerse a la luz directa durante la incubación.

TENGA CUIDADO DE NO TOCAR LAS TABLETAS DE PNP.

11. **Evaluación de los resultados.** Aquellas celdillas donde se desarrolla color indican resultados positivos. Las celdillas con muestras negativas deberán permanecer sin color. Mientras las celdillas con controles negativos permanezcan sin color, debe permitirse que el PNP-sustrato reaccione durante más de 60 minutos para que se desarrolle color en las celdillas controles positivos. El número de testigos sugeridos por placa son los



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

siguientes: Testigo sano: 2 celdillas; testigo enfermo: 2 celdillas y tampón de extracción: 2 celdillas.

Los resultados del análisis se informan en el Formulario 5.

TAMPONES PARA EL ELISA-INDIRECTO

Tampón fosfato salino (PBS)

Agua destilada	1 l
ClNa	8 g
KH_2PO_4	0,2 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	2,9 g
KCl	0,2 g
Llevar a pH	7,4

Tampón PBS - Tween

PBS	1 l
Tween-20	0,5 ml

Tampón de extracción

Agua destilada	1 l
PVP	20 g (2%)
NaCO_3	1,59 g
NaHCO_3	2,93 g

Tampón de conjugado

PBS + Tween	1 l.
-------------	------



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

PVP	20 g
Seroalbúmina bovina	0,2%
Tampón de sustrato	
Dietanolamina	97 ml
H ₂ O	800 ml
CLH (hasta pH 9,8)	

6. EXPRESION DE LOS RESULTADOS

El laboratorio deberá consignar la información de los análisis en el Certificado de Análisis (Formulario 6).

BIBLIOGRAFIA

1. BAERMANN, G. 1917. **Eine einstache methode zur auffindung von Ankylostomum (Nematoden) larven in erdproben.** Geneesk Tidschr. Ned. Indie, 57: 131-137.
2. BARNETT, H. L. & HUNTER, B. B. 1972. **Illustrated genera of imperfect fungi.** Burgers Publishing Company. Third Edition, 241 p.
3. BOOTH, C. 1971. **The genus Fusarium.** Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 240 p.



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

4. BURBA, J. L. y MAKUCH, María. 1989. **Propuesta de técnicas analíticas para ajo "semilla"**. En: Curso/Taller sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo, 1º, La Consulta, Nov. 28-30. La Consulta, Mendoza, EEA La Consulta INTA. Agro de Cuyo, 45-46.
5. BURBA, J. L. 1989. **Cosecha, preparación y almacenamiento de ajo "semilla"**. En: Curso/Taller sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo, 1º, La Consulta, Nov. 28-30. La Consulta, Mendoza, EEA La Consulta INTA. Agro de Cuyo, 25-27.
6. BURBA, J. L., J. ALEMANY, M. V. CID y R. B. A. de AZEVEDO. **Anormalidades morfológicas en la bulbificación de ajo (*Allium sativum* L.)**. Rev. Cs. Agropec., 5: 45-55.
7. CAVENESS, F. E. & JENSEN, H. J. 1955. **Modification of centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue**. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 22: 87-89.
8. CIPOLLA, G. 1955. **Manchas de herrumbre del diente de ajo. (*Fusarium cepae* [Hanz.] em. Lk. et Bail.)**. IDIA 86: 30-32.



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

9. CLARK, M. F. and ADAMS, A. N. 1976. **Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses.** J. Gen. Virol. 34: 475-482.
10. CLARK, M. F. LISTER, R. M. and BAR-JOSEPH, M. 1986. **ELISA Techniques.** *Methods in enzymology* Vol. 118:742-766.
11. DALMASSO, A. 1966. **Méthode simple d'extraction des nématodes du sol.** Rev. Ecol. Biol. Sol., 3: 473-478.
12. DEL TORO, M. S. y S. J. CASTELLANOS. 1992. **Control de ácaros en ajo.** En: Curso/Taller sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo, 2º, La Consulta, Nov. 28-30. La Consulta, Mendoza, EEA La Consulta INTA. Agro de Cuyo, Jornadas, 1. p. 89-92.
13. DEL TORO, M. S. 1989. **Nematodo del tallo, del cuello y de los bulbos, *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev.** Curso/Taller sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo, 2º, La Consulta, Nov. 28-30. La Consulta, Mendoza, EEA La Consulta INTA. Agro de Cuyo, Jornadas, 1. p. 9.



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

14. DOUCET, M. E. 1980. **Técnicas básicas en nematología de suelo.** IDIA, Marzo/Abril: 34-43.
15. ENGVALL, E. and PERLMAN, P. 1971. **Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G.** Immunochemistry 8:871-874.
16. FREZZI, M. J., L. GIORDA y G. J. MARCH. 1974. **Ajo cabeza negra (*Helminthosporium allii*, Campanile) en Córdoba, Argentina.** IDIA 309-312: 1-5.
17. GOODEY, J. B. 1963. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.** Tech. Bull. 2, Min. Agric. Fish. and Food.
18. JORDAN, R. and HAMMOND, J. 1986. **Analysis of antigenic specificity of monoclonal antibodies to several potyviruses.** Phytopathology 76:1091.
19. JORDAN, R. and HAMMOND, J. 1988. **Epitope specificity of strain, virus, subgroup-specific and potyvirus cross reactive monoclonal antibodies.** Phytopathology 78:1600.






Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

20. MATTHEWS, R. E. F. 1991. **Plant Virology**. Academic Press, New York.
21. MESSIAEN, C. M. & LAFON, R. 1968. **Enfermedades de las hortalizas**. España, Oikos-Tau S. A., 361 p.
22. MOWAT, W. P. and DAWSON, S. 1987. **Detection and identification of plant viruses by ELISA using crude sap extracts and unfractionated antisera**. J. Virol. Meth. 15:233-247.
23. NEERGAARD, P. 1977. **Seed pathology**. London, Unwin Brothers, Vol. 1, 839.
24. SANCHEZ_VIZCAINO, J. L. y ALVAREZ, M. C. 1981. **Técnicas inmunoenzimáticas en patología animal y vegetal**. Colección monográfica INIA 29, Madrid.
25. SEINHORST, J. W. 1952. **Eennieuwe methode voor di bepaling van de vatbaarheid van roggeplanten voor aanstinting door stengelaaltjes - Ditylenchus dipsaci (Kuhn) Filipjev**. Tijdschr. Plantensiekten, 58: 103-108.

[Handwritten signature]



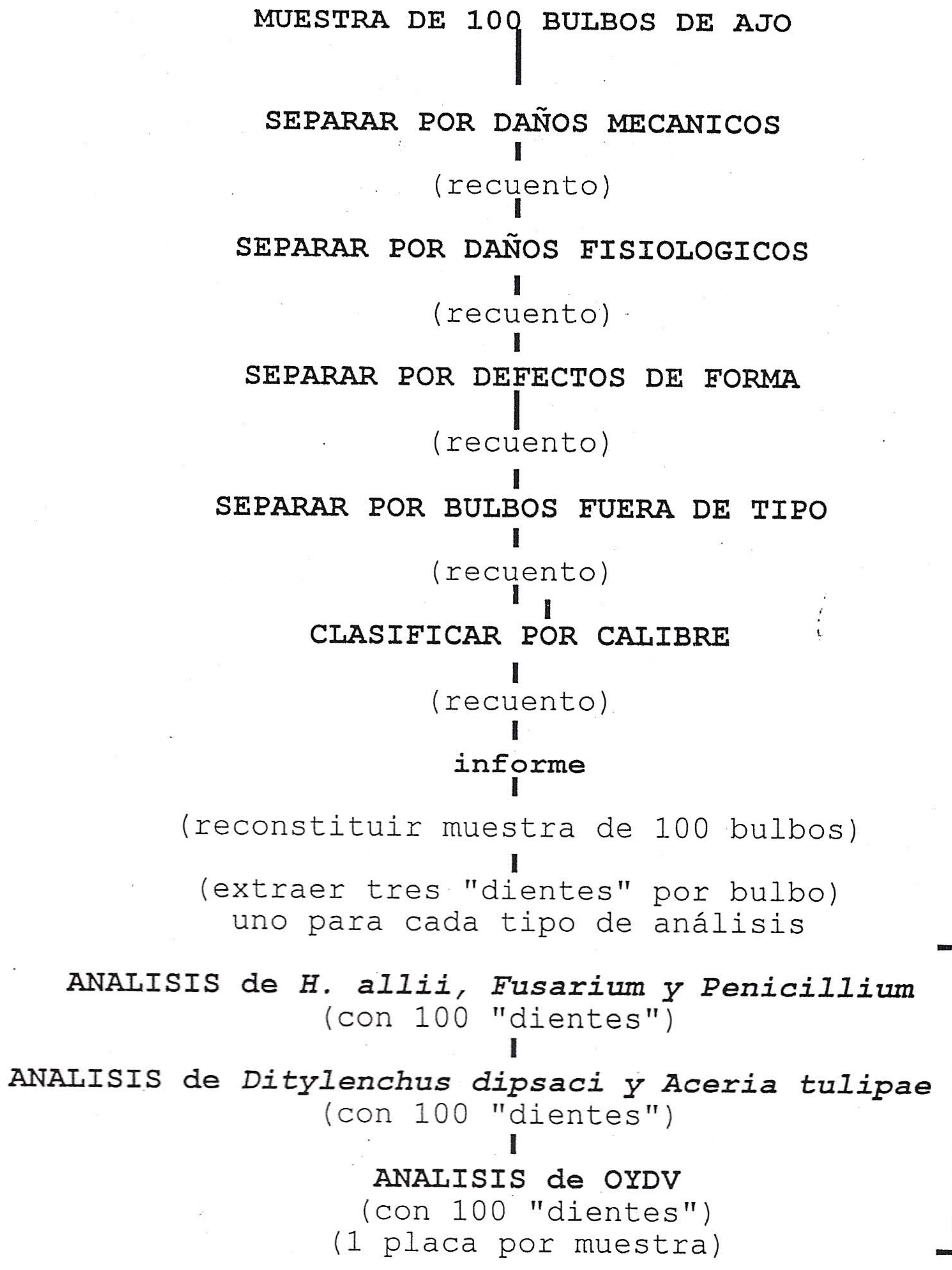
*Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas*

26. VOLLER A.; BARTLETT, A.; BIDWELL, D. E.; CLARK, M. F. and
ADAMS, A. N. 1976. **The detection of viruses by enzyme-**
linked immunosorbent assay (ELISA). J. Gen. Virol.
33:165-167.



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

FIGURA 1. Diagrama del flujo de las muestras de semilla de ajo para análisis (a partir de Básica Fundación)



I
N
F
O
R
M
E
S



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

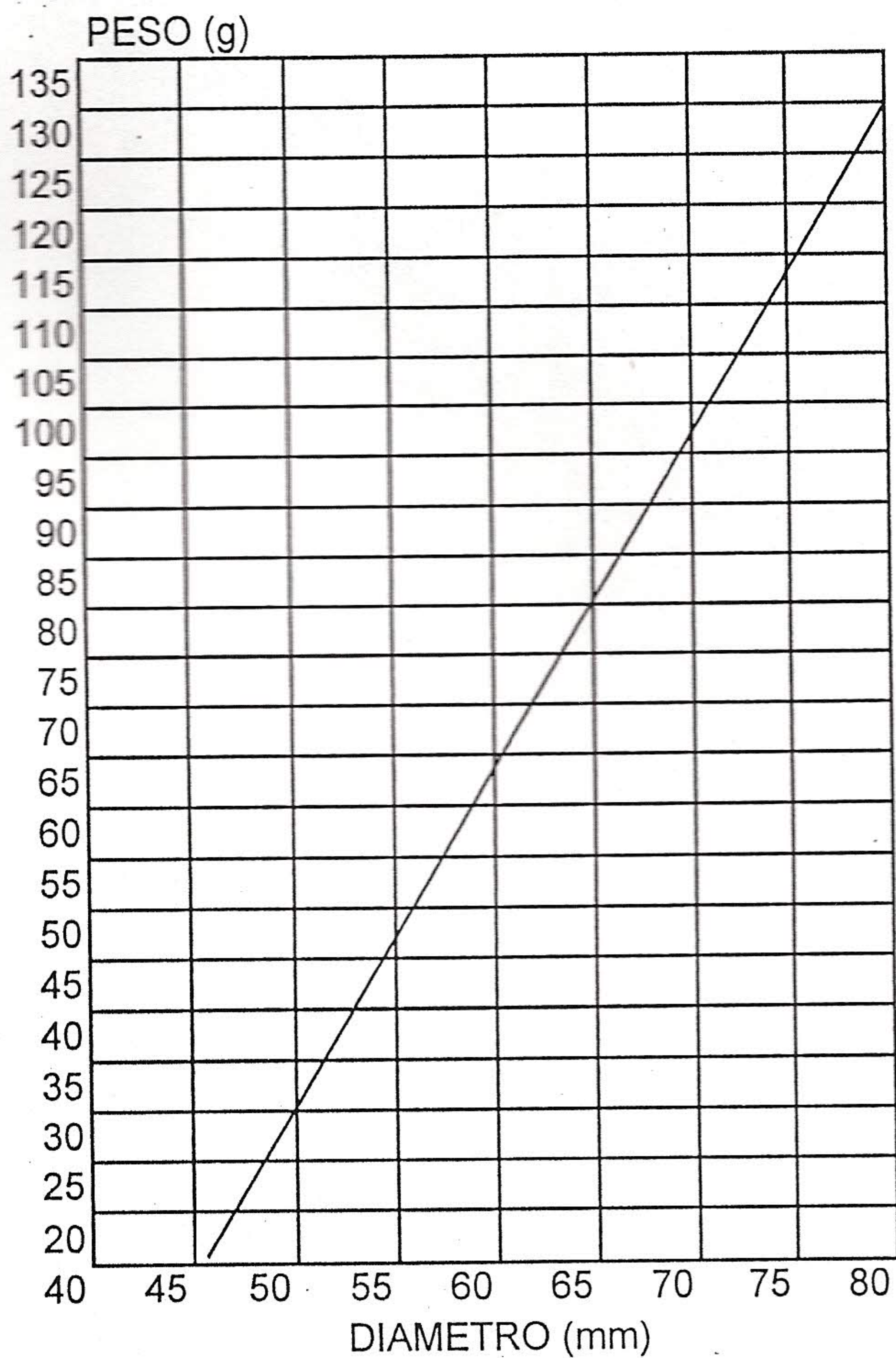


FIG. 2 RELACION PESO/DIAMETRO DE BULBOS DE AJO BLANCO

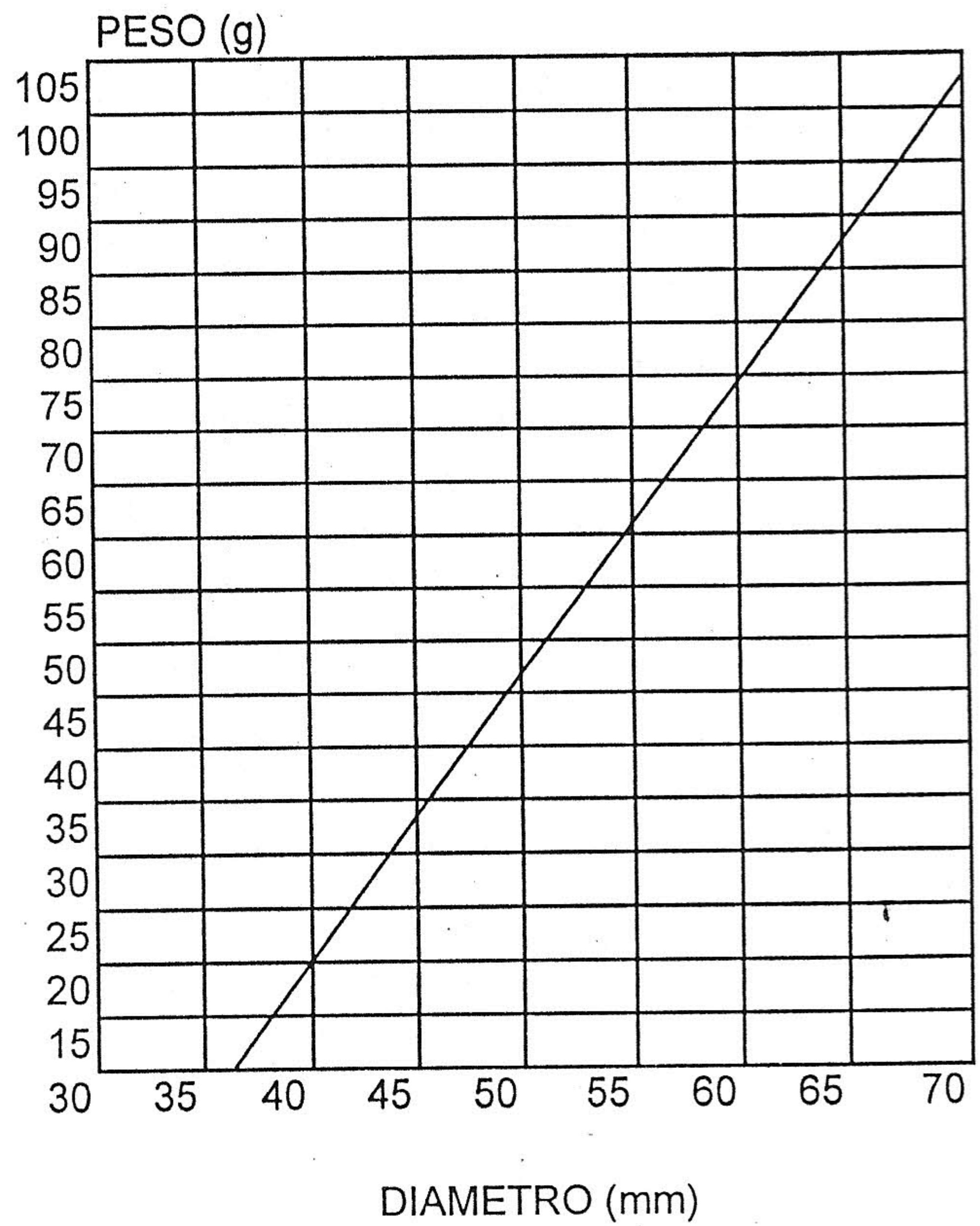


FIG. 3 RELACION PESO/DIAMETRO DE BULBOS DE AJO COLORADO



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

1998. Año de los Municipios

FORMULARIO 01

Registro del Ingreso de Muestras

Muestra nro	Fecha	Productor	Localidad	Tipo/ Cultivar	Lote nro	Categoría	Análisis a efectuar

[Handwritten signature]



Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

1998. Año de los Municipios

FORMULARIO 03

ANALISIS MICOLOGICO

MUESTRA nro:

Fecha: Analista	1	2	3	4	TOTAL	%
Helminthosporium allii						
Fusarium						
Penicillium						
Observaciones						



1998. Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

FORMULARIO 05

ANALISIS DE VIRUS

Fecha

Productor

Localidad

Tipo de ajo

Cultivar

Procedencia

Lote

Número total de hojas o "dientes" de una muestra analizados.

Observaciones

sueros probados	Nro de plantas positivos sobre nro de hojas o "dientes" probados
OYDV	
Otros Antisueros	



1998 Año de los Municipios

Ministerio de Economía
y Obras y Servicios Públicos
Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación
Instituto Nacional de Semillas

FORMULARIO 06

CERTIFICADO DE ANALISIS DE SEMILLA DE AJO

ANALISIS N°			
INFORMACION DEL SOLICITANTE (1)			
NOMBRE DEL SOLICITANTE:			
TIPO	CULTIVAR	CATEGORIA	PESO DEL LOTE

INFORMACION DEL LABORATORIO			
FECHAS			
	MUESTREO	RECEPCION MUESTRA	ANALISIS

RESULTADOS DEL ANALISIS	
Características Físicas	Características Sanitarias
Calibre ponder	mm Carbonilla, cabeza negra (3): %
Daños mecánicos:	% (Helminthosporium allii)
Daños Morfológicos:	% Moho azul, moho verde (3): %
Defectos de forma:	% (Penicillium sp.)
Fuera de tipo:	% Mancha de herrumbre (3): % (Fusarium sp.)
Total Defectos:	% Virus del enanismo amarillo (2) % (Onion Yellow Dwarf Virus, OYDV)
	Nematodo (2): /Kg (Ditylenchus dipsaci)
	Eriofido (2): /Kg (Aceria tulipae)
	Aranuela (2): /Kg (Rhyzoglyphus sp.)

FECHA

FIRMA DEL RESPONSABLE

- (1) EL LABORATORIO NO SE HACE RESPONSABLE DE ESTA INFORMACION
- (2) ANALISIS OBLIGATORIOS
- (3) ANALISIS OPTATIVOS