

Divergência genética em germoplasma de alho

Genetic diversity in garlic germplasm

João Paulo Gomes Viana^I Caroline de Jesús Pires^I José Baldin Pinheiro^{II}
Sérgio Emílio dos Santos Valente^{III} Ângela Célis de Almeida Lopes^{III}
Regina Lucia Ferreira Gomes^{IV}

RESUMO

O alho é uma das hortaliças mais importantes no mercado brasileiro e mundial. No Piauí, mais especificamente na microrregião de Picos, o alho semi-nobre foi cultivado em larga escala e supria a demanda de vários municípios do estado. Devido à entrada do alho nobre no mercado brasileiro, houve redução na produção de alho semi-nobre que pode ter levado à perda de diversidade genética. O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade genética em doze variedades de alho, sendo quatro de origem piauiense e oito da Coleção de Germoplasma de Alho da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). Para isso, caracterizou-se o germoplasma com base nos descritores propostos pelo International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), atualmente Bioversity International, e realizou-se a genotipagem das variedades a partir de oito locos SSR. Os resultados obtidos com a análise morfológica corroboraram as análises moleculares, evidenciando complementaridade dessas dimensões de análise no estudo da diversidade genética em alho. Assim, conclui-se que existe divergência genética entre as variedades de alho estudadas em função da procedência do germoplasma e sugere-se que o material oriundo da ESALQ/USP trata-se de um germoplasma distinto do cultivado no Piauí. A divergência genética existente entre as variedades de alho no Piauí indica a possibilidade de seleção de genótipos superiores que aumentem a competitividade do alho piauiense frente ao alho importado.

Palavras-chave: *Allium sativum*, caracterização agromorfológica, microsatélites.

ABSTRACT

Garlic is one of the most important crops in Brazil and in the world. In Piauí State, specifically in micro region of

Picos, semi-noble garlic was once grown on a large scale and supplied the demand of various municipalities in the state. After the noble garlic was introduced to the Brazilian market, the production of semi-noble garlic reduced which may have led to loss of genetic diversity. This study investigated the genetic diversity in twelve varieties of garlic, four originally from Piauí State and eight from the Garlic Germplasm Collection of the College of Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo (ESALQ / USP). The present study characterized the germplasm based on descriptions proposed by the International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), currently Bioversity International, and conducted the genotyping of varieties from eight SSR loci. The agronomic characters and microsatellite genotyping were efficient to estimate genetic diversity among the garlic varieties. The results obtained with the morphological analysis corroborated the molecular analyses, demonstrating complementarity of these analyses dimensions in the study of genetic diversity in garlic. Thus, we concluded that genetic diversity exists among the varieties of garlic studied in terms of the germplasm origin and suggests that the material from the ESALQ / USP is a germplasm distinct from that grown in Piauí State. The genetic divergence among varieties of garlic in Piauí State indicates the possibility of selecting superior genotypes that increase the competitiveness of garlic from Piauí State against imported garlic.

Key words: *Allium sativum*, agro-morphological characterization, microsatellites.

INTRODUÇÃO

O alho, *Allium sativum* L., é uma das hortaliças mais importantes do mercado brasileiro e mundial por ser bastante apreciada como

^IPrograma de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brasil.

^{II}Departamento de Genética, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP, Brasil.

^{III}Departamento de Biologia, Centro de Ciências da Natureza, UFPI, Teresina, PI, Brasil.

^{IV}Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, UFPI, 64049-550, Teresina, PI, Brasil. E-mail: rlfgomes@ufpi.edu.br. Autor para correspondência.

condimento alimentar, principalmente devido ao aroma e sabor que confere aos alimentos, além de ser amplamente usada para fins terapêuticos desde a antiguidade (KIK & GEBHARDT, 2001; MOTA et al., 2006; LUCINI, 2008).

No Brasil, existem dois tipos de alho cultivados, cada um com peculiar importância social e econômica. O primeiro grupo consiste no alho nobre, que possui número pequeno de bulbilhos, cultivado por grandes agricultores, cuja produção é destinada ao mercado formal, possuindo alto valor comercial. No outro grupo, encontra-se o alho semi-nobre, com aparência mais rústica, produzindo frequentemente vários bulbilhos estreitos por bulbo, chamados “bulbilhos palitos”, menos atrativos comercialmente. Por essa razão, sua produção geralmente é realizada por pequenos agricultores familiares, sendo destinada ao mercado informal em pequenas feiras. Segundo LUCINI (2008), antes da implantação da cultura de alho nobre no Brasil, na década de 80, o alho produzido em território nacional era do tipo semi-nobre e de baixo valor comercial.

No estado do Piauí a cultura teve início há mais de um século, sendo concentrada na cidade de Picos e municípios vizinhos, localidade conhecida genericamente como microrregião de Picos. No entanto, o alho produzido no Piauí perdeu espaço no mercado para o alho importado, principalmente da China, Argentina e Espanha (VELOSO et al., 1999). O alho cultivado se reproduz exclusivamente por propagação vegetativa, por meio dos bulbilhos e apenas os tipos selvagens desta espécie, ainda que raramente, produzem sementes. Em função do tipo de propagação, as plantas filhas correspondem a clones das plantas originais. As populações de clones dentro desta espécie apresentam um alto grau de diversidade fenotípica, sendo esta diversidade oriunda de mutações ou da plasticidade fenotípica apresentada por essa cultura. Logo, genótipos superiores não são obtidos por meio de hibridação, mas através da seleção de variantes geradas de mutações espontâneas, que expressam características de interesse agrônomo (SIMON & JENDEREK, 2003; VOLK et al., 2004).

A implicação disso é que a obtenção de variedades adaptadas à microrregião de Picos, que possam competir no mercado frente ao alho importado de outros países, vai depender primeiramente se há variação no germoplasma cultivado nesta região, já que desta população variável é que poderão ser selecionadas variedades com desempenho superior.

Segundo dados do IBGE (2011), a produção de alho no estado do Piauí foi de 45 toneladas e a área destinada a esta cultura foi de 10 hectares, enquanto

que a produção total do Brasil foi de 143.293 toneladas em uma área de 12.928 hectares. No ano seguinte, não foram oferecidos dados para a cultura do alho no estado do Piauí (IBGE, 2012). Esses dados são alarmantes, visto que o estado já foi o terceiro maior produtor da região Nordeste (IBGE, 1976).

O potencial do germoplasma coletado só pode ser aproveitado quando ocorre a sua devida caracterização. Assim, é possível identificar os genótipos mais promissores para os trabalhos de melhoramento e também beneficiar os agricultores, permitindo o uso racional desses genótipos na agricultura familiar (COELHO et al., 2010).

Dentre várias metodologias disponíveis, a divergência genética pode ser estimada com o emprego de marcadores agromorfológicos e moleculares. Na caracterização agro morfológica, os dados são coletados através do uso de descritores que para várias espécies de interesse econômico foram compilados e publicados pelo *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI), atualmente *Bioversity International*. Tais descritores correspondem a caracteres altamente herdáveis, facilmente detectáveis e que mantenham o mesmo padrão de expressão em diversos ambientes (IPGRI, 2001). No entanto, o uso de marcadores agromorfológicos na caracterização da diversidade genética de alho é dificultado por não existirem relatos na literatura de suficiente número de descritores exclusivos para a espécie *Allium sativum*, o que pode ser um fator limitante para a diferenciação das variedades (MORALES et al., 2013).

A caracterização de variedades por meio de marcadores moleculares tem sido de grande importância, devido ao elevado nível de resolução genética e, além disso, a confiabilidade obtida por meio de análises com marcadores moleculares possibilitam a discriminação entre genótipos ou variedades, mesmo que a base genética entre eles seja estreita (BORÉM & MIRANDA, 2013).

Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi caracterizar a divergência genética existente em doze variedades de alho, por meio de marcadores microssatélites e agromorfológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O material genético avaliado no experimento constou de doze variedades de alho. Dentre estas, três variedades crioulas foram coletadas junto aos agricultores em área de cultivo, feiras e mercados popularessituados na Microrregião de Picos, que foram posteriormente incorporadas à Coleção de Germoplasma de Alho da UFPI e ao

Banco Ativo de Germoplasma de Alho da ESALQ/USP. Utilizou-se também uma variedade oriunda de coletas realizadas no Piauí, cedida pela Embrapa Hortaliças, além de mais oito variedades procedentes da Coleção de Germoplasma de Alho da ESALQ/USP (Tabela 1).

O experimento foi conduzido no Departamento de Genética da ESALQ/USP, em Piracicaba-SP, no delineamento em blocos casualizados, com número diferente de repetições, dependendo da disponibilidade de material. O plantio foi realizado em canteiros, sendo a parcela experimental constituída de quatro fileiras de um metro, com espaçamento de 25cm entre fileiras e 10cm entre plantas dentro da fileira. A área útil da parcela foi constituída das duas fileiras centrais.

Os caracteres quantitativos avaliados foram os seguintes: 1) altura da planta, em cm; 2) largura da folha, em cm; 3) comprimento da folha, em cm; 4) número de folhas; 5) densidade da folhagem da planta; 6) disposição da folha em relação ao solo; 7) largura da base do pseudocaulo, em cm; 8) percentagem de plantas com bulbilhos aéreos; 9) número de dias para a colheita; 10) produtividade total de bulbos, em t.ha⁻¹; 11) peso dos bulbos comerciais, em kg; 12) número de bulbilhos por bulbo.

Com relação aos caracteres qualitativos, foram avaliados: 13) intensidade da coloração verde da folha; 14) cerosidade da folha; 15) formato da seção transversal da folha; 16) intensidade da pigmentação antocianica na base do pseudocaulo; 17) verificação quanto à incidência da ferrugem; 18) tamanho do bulbo; 19) uniformidade dos bulbos; 20) posição do

disco radicular do bulbo; 21) forma da base do bulbo; 22) coloração de fundo da túnica do bulbo; 23) estrias antocianicas na túnica do bulbo; 24) formato do bulbo na seção longitudinal; 25) formato do bulbo na seção transversal; 26) aderência das túnicas do bulbo; 27) cor das folhas externas do bulbilho; 28) tamanho dos bulbilhos; 29) uniformidade dos bulbilhos; 30) distribuição dos bulbilhos; 31) bulbilhos externos; 32) facilidade de remoção dos bulbilhos; 33) tamanho do bulbilho; 34) cor da túnica do bulbilho; 35) intensidade da cor da túnica do bulbilho; 36) estrias antocianicas na túnica do bulbilho; 37) coloração da polpa do bulbilho.

Na caracterização molecular, a extração do DNA genômico dos indivíduos a serem estudados foi realizada segundo o protocolo descrito por DOYLE & DOYLE (1990). As amostras analisadas foram constituídas por oito indivíduos de cada uma das doze variedades, totalizando 96 indivíduos. Utilizou-se os locos microssatélites Asa07, Asa08, Asa10, Asa14, Asa18, Asa24, Asa25 e Asa31 desenvolvidos e otimizados por CUNHA et al., (2012). A genotipagem foi realizada em gel de acrilamida 7% e coradas com nitrato de prata.

A estruturação da variabilidade foi visualizada através de dendrogramas construídos pela matriz de distâncias de Mahalanobis para os caracteres quantitativos, matriz do complemento aritmético de Jaccard para os caracteres qualitativos e distâncias genéticas de ROGERS (1972), modificadas por WRIGHT (1978), para os dados de genotipagem. Para o cálculo das distâncias de Mahalanobis e complemento aritmético de Jaccard, utilizou-se o programa Genes (CRUZ, 1990) e, para o cálculo das distâncias genéticas, utilizou-se o programa TFPGA (MILLER, 1997). O critério de agrupamento aplicado foi o UPGMA; com auxílio do programa NTSYS (ROHLF, 1989). A estabilidade dos agrupamentos foi testada através de 10.000 reamostragens *bootstrap*.

Tabela 1 - Identificação das variedades utilizadas nas caracterizações agromorfológica e molecular de *Allium sativum* L., avaliadas em Piracicaba-SP, 2012.

Variedade	Procedência
Bocaina - PI	Piauí
Santo Antônio de Lisboa - PI	Piauí
Sussuapara - PI	Piauí
Branco Mineiro - PI	Piauí (Embrapa Hortaliças)
BGH 0525	ESALQ/USP
Catetinho do Paraná 1254	ESALQ/USP
Cateto Roxo 99	ESALQ/USP
Embrapa Cateto Roxo Livre de Vírus	ESALQ/USP
Mendonça 5062	ESALQ/USP
Roxinho 5063	ESALQ/USP
Roxo de Minas (Dr. Joaquim)	ESALQ/USP
Sergipe	ESALQ/USP

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de variância para os caracteres avaliados mostram que houve diferença significativa ($P < 0,05$ e $P < 0,01$) entre as doze variedades de alho, com exceção da disposição da folha em relação ao solo, evidenciando a presença de variabilidade entre as variedades.

Quanto ao coeficiente de variação (CV), observou-se que foram baixos os valores registrados para número de dias para colheita (2,18%), altura da planta (3,95%), comprimento da folha (4,21%), número de folhas (5,03%), largura da folha (7,60%) e

largura da base do pseudocaulé (9,51%); médios para disposição da folha em relação ao solo (13,20%), densidade da folhagem (14,56%) e produtividade total dos bulbos (15,82%); e altos para número de bulbilhos por bulbo (21,57%), percentagem de plantas com bulbilhos aéreos (24,53%) e peso dos bulbos comerciais (26,00%). Esse parâmetro é utilizado como indicativo de precisão experimental, de forma que, quanto menor o valor da sua estimativa maior terá sido a sua precisão. Assim, constatou-se que, para a maioria dos caracteres avaliados, a precisão experimental é classificada como de alta a média (PIMENTEL-GOMES, 2009). Para aquelas variáveis que a precisão experimental foi caracterizada como baixa, devido aos altos valores do CV, é importante destacar que essa classificação não leva em consideração as particularidades da cultura do alho e a natureza das variáveis em questão, condições que levariam a uma melhor classificação.

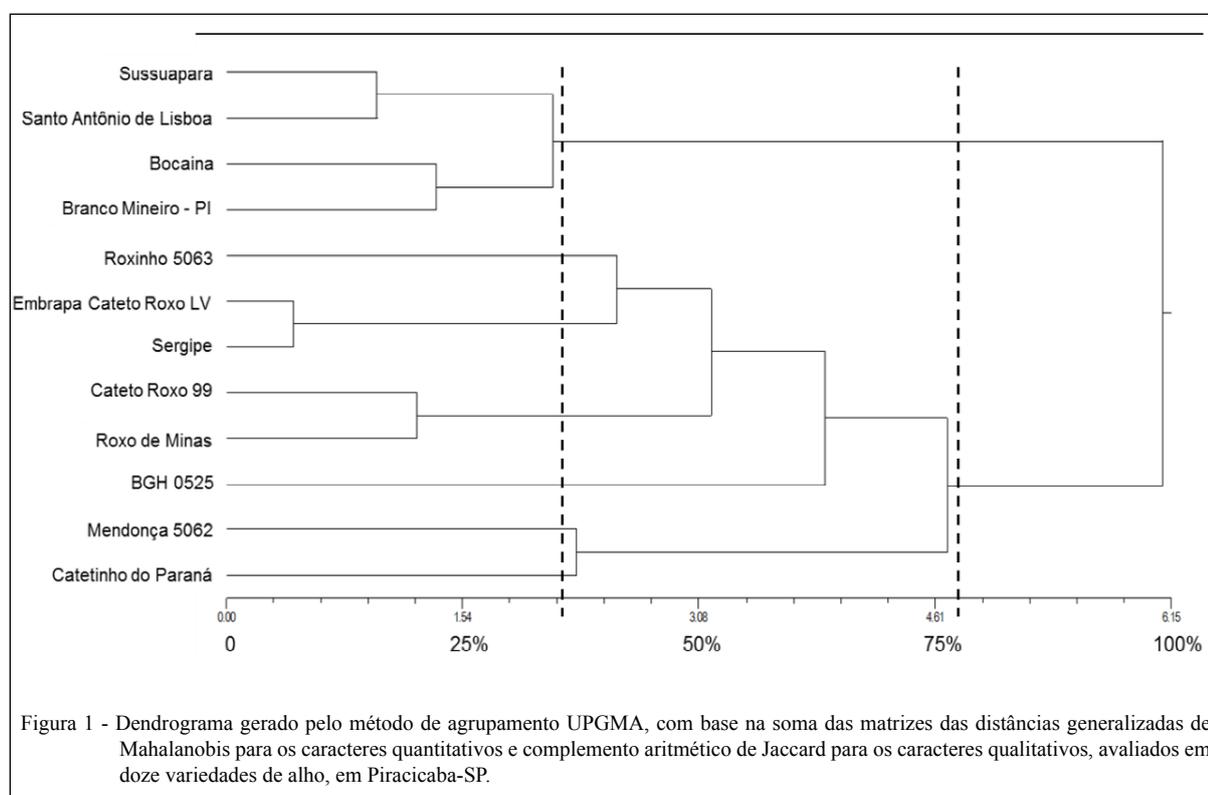
O caráter disposição da folha em relação ao solo não apresentou efeito significativo para tratamentos e foi descartado das análises subsequentes, pois não contribuiu para a identificação da variabilidade genética existente entre as variedades.

As análises de agrupamento foram realizadas com base na soma das matrizes das distâncias generalizadas de Mahalanobis, para os

caracteres quantitativos e complemento aritmético de Jaccard, para os caracteres qualitativos. Segundo GONÇALVES et al., (2008), apesar da análise conjunta dos caracteres quantitativos e qualitativos ser considerada um indicador potencialmente mais completo da variabilidade existente nos bancos de germoplasma, poucos trabalhos têm utilizado esta estratégia.

No dendrograma gerado após o agrupamento pelo critério UPGMA (Figura 1), com base na soma das matrizes das distâncias generalizadas de Mahalanobis e complemento aritmético de Jaccard, observou-se que um dos grupos é formado apenas pelas variedades provenientes do Piauí, enquanto o outro agrupa o germoplasma oriundo da Coleção de Germoplasma de Alho da ESALQ – USP.

Entre as variedades oriundas do Piauí, a Branco Mineiro, oriunda do BAG de alho da Embrapa Hortaliças, que corresponde a um material obtido em coletas anteriores, foi alocada no mesmo grupo do germoplasma proveniente das coletas recentes na Microrregião de Picos e possui um grau de similaridade maior com a variedade Bocaina, compartilhando o mesmo subgrupo até o nível de 23% de divergência. Apesar disso, é importante destacar que, mesmo sendo natural que variedades coletadas em uma mesma



região sejam mais similares entre si do que em relação às outras variedades, no caso observado neste estudo, o grupo formado pelas variedades piauienses se apresenta bastante heterogêneo, principalmente pelo observado na variedade Bocaina, caracterizada como a mais divergente, juntamente com a Branco Mineiro.

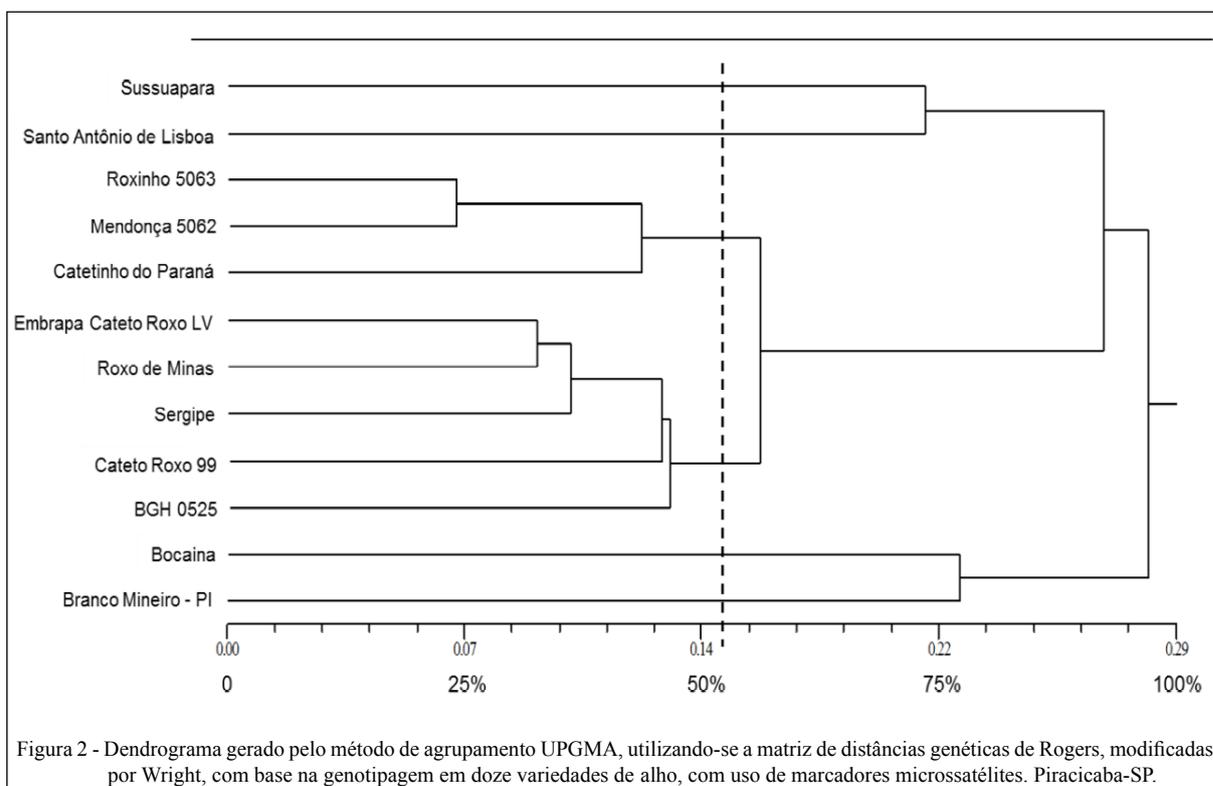
Entre as variedades oriundas da Coleção de Germoplasma de Alho da ESALQ/USP, observou-se que houve a formação de um grupo contendo as variedades Mendonça 5062 e Catetinho do Paraná, até o nível de divergência de 75% e que entre as duas, há cerca de 35% de divergência para os caracteres avaliados. Essas variedades apresentam algumas características de maior interesse agrônomo para cultura do alho, em relação às demais, tais como: maiores valores para o peso dos bulbos comerciais, além de apresentarem poucos bulbilhos por bulbo e não apresentarem bulbilhos “palitos”. As demais variedades apresentaram características intermediárias em relação às oriundas do Piauí e ao grupo formado por Mendonça 5062 e Catetinho do Paraná.

A caracterização agromorfológica é importante para que se conheça o potencial de uma determinada variedade. Mas é preciso ressaltar que,

embora as variedades Mendonça 5062 e Catetinho do Paraná tenham apresentado características agrônomicas comercialmente superiores às variedades oriundas do Piauí, existem outros fatores que devem ser considerados antes da recomendação de qualquer variedade, principalmente pelo fato de este estudo ter sido conduzido em região com aspectos edafoclimáticos distintos daqueles da região onde as variedades piauienses foram coletadas. Portanto, considerou-se válida a discussão do grupo de variedades oriundas do Piauí de forma independente do outro grupo formado.

Os dados gerados na genotipagem das variedades pelo uso de marcadores microssatélites foram submetidos ao método de agrupamento UPGMA, utilizando-se a matriz de distâncias de ROGERS (1972), modificada por WRIGHT (1978). Pelo dendrograma gerado (Figura 2), observou-se a formação de três grupos, ao nível de divergência de 78%. MOTA et al., (2006), avaliando a diversidade genética existente entre doze variedades de alho nobre e semi-nobre por meio de marcadores RAPD, obtiveram coeficientes de similaridade variando entre 0,245 e 0,860, mostrando haver variedades com alto grau de semelhança e outras muito divergentes.

Dois dos grupos evidenciados no dendrograma são compostos pelos quatro genótipos



oriundos do Piauí, enquanto os demais são formados pelas variedades da Coleção de Germoplasma de Alho da ESALQ – USP. JO et al., (2012), ao estudarem a variação genética em alho por meio de marcadores microssatélites em germoplasma oriundo de diversos países, encontraram associação entre a diversidade genética encontrada com a origem do germoplasma.

MORALES et al., (2013), estudando a diversidade genética entre cultivares de alho por meio de marcadores morfológicos e moleculares, alocaram o germoplasma em cinco grupos, com base nos caracteres morfológicos e em dois grandes grupos, com base nos dados da caracterização molecular.

Portanto, na caracterização agromorfológica e na caracterização molecular, os grupos formados foram semelhantes, mas originados em níveis de divergência diferentes. Com base nesses resultados, destaca-se a importância da caracterização molecular como técnica complementar, no sentido de reforçar a caracterização por descritores agromorfológicos.

CONCLUSÃO

Existe divergência genética, com base em marcadores agromorfológicos e moleculares, entre as variedades de alho estudadas em função da procedência do germoplasma. Assim, as variedades da Coleção de Germoplasma de Alho da ESALQ/USP correspondem a material distinto do germoplasma oriundo do Piauí.

A existência de divergência genética entre as variedades de alho no Piauí indica a possibilidade de seleção de genótipos superiores, que aumentem a competitividade do alho piauiense frente ao alho importado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro (Processo Nº 484237/2010-1) e à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - USP que, através do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica promovido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), colaborou no desenvolvimento da pesquisa. Além disso, os autores agradecem a Embrapa Hortaliças pelo fornecimento de material essencial para realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2013. 523p.
- COELHO, C.M.M. et al. Características morfo-agronômicas de cultivares crioulas de feijão comum em dois anos de cultivo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n.1, p.1177-1186, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n4Sup1p1177>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- CUNHA, C.P. et al. New microsatellite markers for garlic, *Allium sativum* (*Alliaceae*). **American Journal of Botany**, v.99, n.1, p.17-19, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3732/ajb.1100278>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- GONÇALVES, L.S.A. et al. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, v.7, p.1289-1297, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4238/vol7-4gmr526>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Produção agrícola municipal – Culturas Temporárias e Permanentes**. Rio de Janeiro - RJ, v.3, 1976. 150p.
- IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Produção agrícola municipal – Culturas Temporárias e Permanentes**. Rio de Janeiro – RJ, v.37, 2011. p.94.
- IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Produção agrícola municipal – Culturas Temporárias e Permanentes**. Rio de Janeiro – RJ, v. 38, 2012. P. 98.
- IPGRI (INTERNATIONAL PLANT GENETIC RESOURCES INSTITUTE). **Descriptors for Allium (Allium spp.)**. 2001. Disponível em: <<http://www.bioversityinternational.org/>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- JO, M.H. et al. Classification of genetic variation in garlic (*Allium sativum* L.) using SSR markers. **American Journal of Crop Science**, v.6, n.4, p.625-631, 2012. Disponível em: <<http://www.cropj.com>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- KIK, C.R.K.; GEBHARDT, R. Garlic & health: a european initiative for the development of high quality garlic and its influence on biomarkers of atherosclerosis and cancer in humans for disease prevention. **IPGRI Newsletter for Europe**, v.22, n.5, p.57-65, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2013.09.007>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- LUCINI, M.A. Alho roxo no Brasil: um pouco da história dos números desse nobre. **Revista Nosso Alho**, v.1, n.1, p.16-21 2008. Disponível em: <<http://www.anapa.org.br/>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- MORALES, R. et al. Genetic divergence among Brazilian garlic cultivars based on morphological characters and AFLP markers. **Genetics and Molecular Research**, v.12, p.270-281, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4238/2013.February.4.1>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- MOTA, J.H. et al. Similaridade genética de cultivares de alho pela comparação de caracteres morfológicos, físico-químicos, produtivos e moleculares. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.156-160. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000200006>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. São Paulo: Nobel, 2009. 467p.
- ROGERS, J.S. Measures of genetic similarity and genetic distance. In: **Studies in Genetics**, Austin: University of Texas Publication, p. 145-153, 1972.

SIMON, P.W.; JENDEREK, M.M. Flowering, seed production and the genesis of garlic breeding. **Plant Breeding Reviews**, v.23, p211-244, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/9780470650226.ch5>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.

VELOSO, M.E.C. et al. Características de alho em Picos, PI. **Horticultura Brasileira**, v.16, n.3, p.234-237, 1999. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05361999000300012>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.

VOLK, G.M. et al. Genetic diversity among U. S. garlic clones detected using AFLP methods. **Journal of American Society of Horticultural Sciences**, v.129, n.4, p.559-569, 2004. Disponível em: <<http://www.garlicseedfoundation.info/jashsgarlic.pdf>>. Acesso em: 05 de julho de 2015.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations: variability within and among natural populations**. Chicago: University of Chicago, 1978.V.4.