



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

Dalvan Carlos Beise

**CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE ALHO NOBRE (*Allium sativum* L.)
VISANDO O DESENVOLVIMENTO DA CADEIA PRODUTIVA DO ALHO
CATARINENSE**

Florianópolis

2026

Dalvan Carlos Beise

Caracterização de cultivares de alho nobre (*Allium sativum* L.) visando o desenvolvimento da cadeia produtiva do alho Catarinense

Qualificação de doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Valdir Marcos Stefenon.

Linha de pesquisa: Caracterização, coleta e conservação de germoplasma.

Florianópolis
2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Beise, Dalvan Carlos

Caracterização de cultivares de alho nobre (*Allium sativum* L.) visando o desenvolvimento da cadeia produtiva do alho Catarinense / Dalvan Carlos Beise ; orientador, Valdir Marcos Stefenon, 2025.

103 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Diversidade genética . 3. Biotecnologia. 4. Marcadores moleculares. 5. Agricultura. I. Stefenon, Valdir Marcos. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

Dalvan Carlos Beise

Caracterização de cultivares de alho nobre (*Allium sativum* L.) visando o desenvolvimento da cadeia produtiva do alho Catarinense

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado em 27 de novembro de 2025, por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Adriana Cibele de Mesquita Dantas, Dra.
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

Prof. André Ricardo Zeist, Dr.
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ.
Universidade de São Paulo - USP

Prof. Leocir José Welter, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutor em Ciências.

 Documento assinado digitalmente
Valdir Marcos Stefenon
Data: 24/02/2026 15:44:45-0300
CPF: ***.138.149-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

 Documento assinado digitalmente
Valdir Marcos Stefenon
Data: 24/02/2026 15:45:10-0300
CPF: ***.138.149-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Valdir Marcos Stefenon, Dr.

Orientador

Florianópolis, 2026.

AGRADECIMENTOS

“Aos trancos e barrancos”, como diz o ditado popular, este doutorado foi sendo construído passo a passo, entre pausas forçadas, recomeços e muita persistência. Chegar até aqui não teria sido possível sem o apoio, a paciência e a confiança de muitas pessoas que, de alguma forma, caminharam comigo nessa trajetória marcada por desafios e incertezas.

Em primeiro lugar, agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Valdir Marcos Stefenon, por ter acreditado em mim mesmo nos momentos em que eu próprio duvidava. Sua confiança, compreensão diante das ausências e incentivo constante foram essenciais para que não desistisse (embora tenha cogitado algumas vezes). Obrigado por ter segurado a “barra” em tantas ocasiões e me ajudado a transformar dificuldades em aprendizado.

Agradeço profundamente às médicas Dra. Cristiane Pimentel Hernandes (Santa Cruz do Sul - RS), onde tudo começou, e Dra. Elisa Cazula Naves (Florianópolis-SC), por terem sido muito mais do que profissionais da saúde. Em momentos de maior fragilidade, atuaram também, como apoio humano e emocional, com escuta, empatia e cuidado. Em especial, à Dra. Elisa, que acompanhou a maior parte dessa trajetória e me ajudou a manter a esperança e o foco, mesmo quando o corpo e a mente pediam pausa.

Registro a minha gratidão à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG-RGV). Agradeço ao Programa e ao seu corpo docente pela formação técnica sólida, que me preparou para enfrentar desafios com resiliência e dedicação. À secretaria do Programa, representada pela Bernadete, pelo apoio ágil e atencioso nos trâmites acadêmicos e administrativos e, sobretudo, pelos momentos de conversas descontraídas, que tornaram o percurso mais leve.

Também expresso meu agradecimento à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio essencial a esta pesquisa, por meio de bolsa de estudos, cujo financiamento contribuiu diretamente para o avanço do meu doutorado e da ciência na área de conservação e uso de recursos genéticos vegetais.

Ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, minha segunda casa nesses anos: obrigado pelo acolhimento diário, pelas bancadas partilhadas, pelas conversas que viraram ideias e pelas pessoas que tornaram colegas e amigos inspiradores de ciência. Cada colaboração, dica e a mão estendida nos dias difíceis, nos longos dias de trabalho, até mesmo nos finais de semana, fez diferença.

À minha família, por compreenderem minhas ausências e preocupações, por apoiarem minhas escolhas e acreditarem na importância deste caminho, mesmo sem entenderem todos os

detalhes dele. Já que no interior sempre foi “normal” pensar que a universidade e a ciência não eram espaços para filhos de pequenos agricultores. Com o apoio de vocês, esse horizonte se abriu e este momento se tornou possível.

Aos meus pais, Alceu e Maria Beise, e aos meus irmãos, Daiane e Deivid Beise, meu amor e gratidão por sustentarem, com paciência e fé, cada etapa desta jornada. Que este momento lhes faça sentir orgulho de quem me tornei.

Em especial, à minha avó Eleondina (in memoriam), cujo cuidado e apoio me acompanharam por toda a vida. Infelizmente, ela não pôde presenciar a conclusão deste capítulo, mas carrego sua força e seu afeto em cada linha desta conquista.

Um agradecimento especial ao Pedro, que surgiu ainda no início desta caminhada e tem sido, desde então, uma das pessoas que mais me encoraja a seguir em frente, sua presença, companheirismo e apoio constante foram fundamentais em momentos de incerteza e desânimo, lembrando-me sempre de que esta conquista é algo para me orgulhar.

À Dona Maria Fernanda, por todo carinho, atenção e pelas palavras que sempre traduziram orgulho por esta etapa. O reconhecimento e o incentivo vindos de alguém tão querido tornaram esta trajetória mais leve e significativa.

Aos amigos, pela amizade que resiste ao tempo e à distância. Às amizades de longa data (Thaís, Gabriela, Daniele, Luana Joseane e Renata), que continuam presentes e sempre encontram um jeito de estar por perto. E àqueles que estiveram e ainda estão no “olho do furacão” diariamente (Suelen, Danielle, Ana Kelly, Andressa, Tainara, Tatiana, Tatiane, Jorge e Adriel), por compartilharem dias intensos, risadas, desafios e conquistas. De muitas formas, cada um de vocês contribuiu para essa caminhada.

Este trabalho é, acima de tudo, um testemunho de resiliência, não apenas científica, mas humana. Representa a soma de todos que, de alguma forma, acreditaram que valia a pena continuar tentando. A todos vocês, meu sincero e profundo agradecimento.

RESUMO

O alho (*Allium sativum* L.) é uma hortaliça de grande importância econômica e sociocultural no mundo e no Brasil, especialmente no Planalto Catarinense, reconhecido como berço do alho roxo nobre. Essa tese teve como objetivo compreender a base genética e a variabilidade intra e Inter cultivares de as principais cultivares regionais, integrando abordagens revisivas e moleculares. Inicialmente, realizou-se uma revisão crítica sobre o uso de marcadores moleculares, aplicados à caracterização de *A. sativum*, destacando a evolução metodológica e as lacunas de conhecimento. Na sequência, o estudo comparativo entre amostras do Planalto Catarinense e de outras regiões produtoras, publicado na revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, evidenciou diferenças colorimétricas e químicas compatíveis com o conceito de *terroir*, ainda que com base genética amplamente compartilhada. Por fim, as análises com marcadores AFLP e S-SAP demonstraram que a maior parte da variabilidade genética ocorre dentro das próprias cultivares, padrão típico de espécies propagadas vegetativamente. A correlação entre os sistemas de marcadores confirmou a robustez das inferências e a coerência da estrutura genética observada. Os resultados fornecem uma linha de base para o programa participativo de melhoramento do alho roxo nobre catarinense, apoiando ações de seleção clonal, conservação e certificação de origem. O trabalho reforça o diálogo entre ciência e território, traduzindo a pesquisa acadêmica em instrumento da valorização do produto e fortalecimento da agricultura familiar regional.

Palavras-chave: *Allium sativum* L.; diversidade genética; marcadores moleculares; propagação clonal.

ABSTRACT

Garlic (*Allium sativum* L.) is a vegetable crop of great economic and sociocultural importance worldwide and in Brazil, especially in the Planalto Catarinense region, recognized as the birthplace of Brazilian purple noble garlic. This thesis aimed to understand the genetic basis and the intra- and intercultivar variability of the main regional cultivars by integrating review and molecular approaches. Initially, a critical review was conducted on the use of molecular markers applied to the characterization of *A. sativum*, highlighting methodological advances and knowledge gaps. Subsequently, a comparative study between samples from the Planalto Catarinense and other producing regions, published in the journal *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, revealed colorimetric differences consistent with the concept of *terroir*, although with a largely shared genetic background. Finally, analyses using AFLP and S-SAP markers showed that most of the genetic variability occurs within the cultivars themselves, a pattern typical of vegetatively propagated species. The correlation between marker systems confirmed the robustness of the inferences and the consistency of the genetic structure observed. The results provide a baseline for the participatory breeding program of Santa Catarina's purple noble garlic, supporting actions in clonal selection, conservation, and origin certification. The work strengthens the dialogue between science and territory, translating academic research into an instrument for product valorization and the empowerment of regional family farming.

Keywords: *Allium sativum* L.; genetic diversity; molecular markers; clonal propagation;

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C - Graus Celsius

AFLP – *Amplified fragment length polymorphism* (Polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado)

BSA – *Bovine Serum Albumin* (Albumina de soro bovino)

CTAB – *Cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide* (Catiônico de hexadecil trimetil amônio)

DNA – Ácido desoxirribonucleico

dNTP – Trifosfato desoxinucleotídeos

DO – Denominação de Origem

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EST – *Expressed sequence tag* (Região de sequência expressa)

ETs – Elementos Transponíveis

IG – Indicação Geográfica

IP – Indicação de Procedência

ISSR – *Inter Simple Sequence Repeats* (Repetições de sequência inter simples)

LTR – *Long Terminal Repeats* (Repetições terminais longas)

MgCl₂ – Cloreto de magnésio

ng – Nanograma

nm – Nanômetro

m – Metro

m² – Metro quadrado

cm – Centímetro

ha – Hectare

NGS – *Next generation Sequencing* (Sequenciamento de nova geração)

pb – Pares de base

PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase)

RAPD – *Random amplified polymorphic DNA* (DNA polimórfico amplificado ao acaso)

RFLP – *Restriction fragment Length Polymorphism* (Polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição)

SNP – *Single Nucleotide Polymorphism* (Polimorfismo de nucleotídeo simples)

SSR – *Simple sequence repeats* (Sequências simples repetidas)

S-SAP – *Sequence-Specific Amplified Polymorphism* (Polimorfismo amplificado de sequência específica)

SRAP – *Sequence-related amplified polymorphism* (Polimorfismo amplificado relacionado à sequência)

TBE – Tris borato EDTA

UV – Ultravioleta

μL – Microlitro

μM – Micromolar

SUMÁRIO

1	JUSTIFICATIVA E ANTECEDENTES	12
1.1	ALHO: UTILIZAÇÃO, ORIGEM E ASPECTOS BOTÂNICOS	13
1.2	ASPECTOS GENÉTICOS	15
1.3	A CULTURA DO ALHO NO BRASIL E EM SANTA CATARINA	17
1.4	MARCADORES MOLECULARES	20
1.4.1	<i>Marcadores AFLP</i>	20
1.4.2	<i>Marcadores S-SAP</i>	21
1.5	PERGUNTAS NORTEADORAS	21
2	OBJETIVOS	21
2.1	OBJETIVO GERAL	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3	CAPÍTULO I – FROM CONSOLIDATION TO INNOVATION: THE CONTRIBUTION OF MOLECULAR MARKERS IN THE CHARACTERIZATION AND CONSERVATION OF GARLIC (<i>ALLIUM SATIVUM</i> L.).....	23
4	CAPÍTULO II – COLORIMETRIC, CHEMICAL, AND GENETIC CHARACTERIZATION OF PURPLE GARLIC FROM TWO PRODUCING REGIONS IN BRAZIL	40
5	CAPÍTULO III – PADRÕES DE DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE POPULAÇÕES CLONAIIS DO ALHO ROXO NOBRE CATARINENSE	50
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	94
	REFERÊNCIAS.....	96

1 JUSTIFICATIVA E ANTECEDENTES

Apesar da tradição do cultivo de alho roxo nobre em Santa Catarina, os produtores da região vêm enfrentando desafios crescentes ao longo dos anos, especialmente relacionados às condições climáticas adversas. Esses fatores têm comprometido a qualidade dos bulbos e reduzido a produtividade, ocasionando uma diminuição progressiva da área plantada no estado. Nas últimas safras, os elevados custos de produção, aliados à competição com produtos importados, acentuaram ainda mais a fragilidade da cadeia produtiva do alho catarinense.

Diante desse cenário, foi iniciado, em 2020, um programa de melhoramento genético do alho roxo nobre catarinense, conduzido de forma participativa pela Associação Catarinense dos Produtores de Alho (Acapa), em articulação com o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (Sebrae), a Associação Nacional dos Produtores de Alho (Anapa), a Cooperativa Regional Agropecuária do Meio Oeste (Copar), a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Esse programa tem como foco o processo de seleção clonal massal, com acompanhamento técnico aos agricultores, visando identificar, avaliar e multiplicar genótipos com características morfológicas de interesse agrônomo, além de analisar seus perfis bioquímicos e moleculares e estruturar um banco de germoplasma regional que fortaleça a base genética da cultura.

Paralelamente, desenvolve-se uma iniciativa específica voltada ao reconhecimento da Indicação Geográfica (IG) do alho roxo catarinense, coordenada pela Acapa em parceria com o Sebrae, a Copar e a Epagri, contando ainda com o apoio da UFSC, da Anapa e das prefeituras municipais da região. Essa frente tem como objetivo valorizar o produto regional, estruturar sua identidade territorial e consolidar os elementos técnicos, históricos e produtivos necessários ao processo de certificação.

Considerando que o alho cultivado se propaga predominantemente de forma clonal e não apresenta reprodução sexuada funcional, a variabilidade genética disponível é naturalmente limitada. Essa característica impõe desafios à conservação e ao melhoramento da espécie, tornando imprescindível o uso de ferramentas moleculares capazes de detectar, com precisão, as diferenças genéticas entre os genótipos cultivados. A caracterização molecular da diversidade genética tem, portanto, grande relevância para identificar linhagens promissoras, subsidiar estratégias de conservação e estruturar bancos de germoplasma representativos. Além

disso, ela contribui diretamente para a delimitação de origens geográficas e a seleção de materiais com maior potencial agrônomo e adaptabilidade.

Nesse contexto, a presente tese teve como objetivo contribuir diretamente com as demandas técnicas do programa de melhoramento mencionado, por meio da realização de análises genético-moleculares aplicadas a cultivares de alho roxo nobre cultivadas em Santa Catarina.

1.1 ALHO: UTILIZAÇÃO, ORIGEM E ASPECTOS BOTÂNICOS

O alho (*Allium sativum* L.) é uma hortaliça de ampla importância global, consumida como alimento funcional devido à sua rica composição em compostos biologicamente ativos. Seu uso na alimentação e na medicina tradicional remonta a milhares de anos, com registros históricos no Egito antes de 2000 a.C. e na Índia e China há mais de 5000 anos (Petrovska *et al.*, 2010; Rivlin, 2001; Zhang; Lang; Zhu, 2018).

A espécie apresenta uma composição química diversificada, incluindo fibras, carboidratos (fructanos), ácidos graxos, adenosina, compostos sulfurados, ácidos nicotínicos e pectínico, aminoácidos essenciais, além de vitaminas e minerais (El-Sayed *et al.*, 2017; Ezeorba *et al.*, 2022; Marchese *et al.*, 2016). Esses componentes estão associados a efeitos benéficos para a saúde, como redução do risco cardiometabólico, propriedades antioxidantes e antimicrobianas, hepatoprotetores e potencial quimio preventivo contra certos tipos de câncer (Aviello *et al.*, 2009; Colín-González *et al.*, 2012; Sahidur; Islam; Jahurul, 2023). O alho também tem sido utilizado na fabricação de defensivos naturais em cultivos orgânicos (Araújo *et al.*, 2017).

Pertencente à família Amaryllidaceae que inclui cerca de 72 gêneros e 1.450 espécies distribuídas globalmente, o alho integra o gênero *Allium*, ao lado de outras espécies de importância alimentar, como a cebola (*A. cepa*), o alho-poró (*A. ampeloprasum*) e a cebolinha (*A. schoenoprasum*) (Dutilh, 2005). A Ásia Central é apontada como centro de origem e diversidade da espécie, possivelmente a partir do ancestral selvagem *Allium longicuspis* Regel (Gruenwald; Jaenicke, 2000; Kumar *et al.*, 2019; Vavilov, 1951). Nessa região ocorriam populações com reprodução sexuada, o que contribuiu para maior variabilidade genética (Garcia-Lampasona *et al.*, 2010).

Trata-se de uma planta herbácea, com porte de 40 a 70 cm de altura, dependendo da cultivar. Apresenta folhas longas e pontiagudas, com limbo foliar de 20 a 30 cm, e um

pseudocaule achatado formado pela união das bainhas das folhas (Figura 1). As flores são pequenas, dispostas em inflorescências do tipo umbela, de coloração rosada ou branca, originando-se no centro do bulbo. O sistema radicular é fasciculado, atingindo profundidade de 40 a 82 cm (Araújo *et al.*, 2017).

Figura 1 - A) Aspecto geral de um exemplar de alho (*A. sativum* L.), com bainhas e pseudocaule. B) Caule verdadeiro.



Fonte: Paula Rodrigues; José Luis Pereira (Embrapa).

O bulbo é arredondado a levemente periforme e constituído por um conjunto de bulbilhos formados a partir do desenvolvimento de gemas do caule (Figura 2). Esses bulbilhos apresentam morfologia ovoide-arqueada e são envolvidos por brácteas de coloração arroxeada ou branca. As folhas que os recobrem formam a túnica, uma camada delgada de coloração branca, amarronzada ou arroxeada, que se torna quebradiça após a secagem (Araújo *et al.*, 2017).

Figura 2 – Detalhe dos bulbos envoltos por túnicas brancas e roxas, e bulbilhos roxos individuais.



Fonte: Do autor, 2024.

Devido à sua origem em regiões de clima frio, o alho apresenta boa tolerância a baixas temperaturas e geadas, sendo uma cultura que requer condições de frio para indução do florescimento. Além da temperatura, o fotoperíodo influencia fortemente o desenvolvimento e a produtividade, pois o comprimento do dia determina o comportamento da cultivar e a melhor época para o plantio (Resende *et al.*, 2020).

1.2 ASPECTOS GENÉTICOS

Ao contrário da maioria das espécies do gênero *Allium*, o alho se destaca por ser uma espécie diploide ($2n = 2x = 16$). Ele também é reconhecido como uma hortaliça de genoma gigante, apresentando tamanho semelhante ao do trigo, caracterizado como hexaploide (Malik; Dhatt; Malik, 2021).

Diferentemente de suas formas selvagens, o alho cultivado é propagado exclusivamente por via vegetativa, a partir do plantio direto dos bulbilhos (dentes), processo que inviabiliza a

reprodução sexuada (Volk; Henk; Richards, 2004). Assim, a seleção clonal tornou-se o principal método de reprodução no alho moderno, já que a esterilidade das plantas impede a melhoria por hibridação cruzada (Lampasona; Martinez; Burba, 2003; Ma, K. H. *et al.*, 2009).

Essa forma de propagação levou inicialmente à hipótese de uma baixa diversidade genética na espécie. Contudo, as linhagens clonais surpreenderam por apresentar alta diversidade fenotípica, atribuída ao longo processo de domesticação, que resultou em ampla variação morfológica e agronômica, incluindo tamanho e cor do bulbo, comprimento foliar, hábitos de crescimento, tolerância ao estresse e à seca (Chen *et al.*, 2014; Ma, K. H. *et al.*, 2009; Panthee *et al.*, 2006; Singh; Kaul; Gohil, 2014; Stavěliková, 2008).

Apesar dessa diversidade, a distinção entre cultivares e clones por características morfológicas é limitada, o que dificulta a identificação precisa e pode gerar confusão na classificação dos materiais (Garcia-Lampasona *et al.*, 2010; Ipek; Ipek; Simon, 2003). Por isso, desde a década de 1990, os marcadores moleculares e bioquímicos têm sido aplicados para discriminação genética, revolucionando o conhecimento sobre a diversidade do alho antes baseado apenas em dados morfológicos.

Embora esses marcadores tenham avançado o conhecimento sobre a diversidade do alho, lacunas permanecem sobre os mecanismos que originam tal variabilidade. Estudos genômicos recentes começam a elucidar essas questões. O genoma do alho é extremamente grande e complexo, rico em duplicações, elementos transponíveis, genes multicópias e regiões repetitivas (Arumuganathan; Earle, 1991; Egea *et al.*, 2017; Jones *et al.*, 2004; Ovesná; Mitrová; Kučera, 2015).

Sun *et al.* (2020) realizaram a primeira montagem genômica em nível cromossômico no gênero *Allium*, usando múltiplas plataformas de sequenciamento. O estudo revelou que cerca de 91,3% do genoma montado corresponde a sequências repetitivas (14,8 Gb), majoritariamente retrotransposons LTR, com destaque para os elementos *Ty3_Gypsy* (75,7%) e *Ty1_copia* (11,3%). Esses dados ajudam a explicar a grande plasticidade fenotípica observada na espécie, dado que a inserção de elementos transponíveis pode regular a expressão gênica e gerar variação fenotípica (Chuong; Elde; Feschotte, 2017; Peška *et al.*, 2019). Esses avanços genômicos abrem caminho para o desenvolvimento de novas ferramentas moleculares capazes de elucidar a diversidade genética do alho com maior precisão.

1.3 A CULTURA DO ALHO NO BRASIL E EM SANTA CATARINA

O alho foi introduzido no Brasil pelos portugueses durante o período da colonização e por muito tempo, seu cultivo limitou-se a pequenos plantios em quintais para consumo familiar, e apenas na segunda metade do século XX a cultura ganhou relevância econômica (Resende *et al.*, 2020).

Atualmente, são cultivados no país dois tipos principais: o “nobre”, caracterizado por bulbos uniformes e número reduzido de bulbilhos, com maior valor comercial e destinado ao mercado formal; e o “semi-nobre”, com bulbos menores e mais rústicos, frequentemente com numerosos bulbilhos estreitos (“palitos”), geralmente produzido por agricultores familiares para o mercado local (Lucini, 2008). A expansão do cultivo do alho nobre, a partir da década de 1980, ocorreu em resposta à crescente competitividade de produtos importados, especialmente da China e da Argentina, que reduziram a demanda pelo alho semi-nobre nacional (Resende; Nassur; Haber, 2017).

Em 2018, o Brasil produziu cerca de 118 mil toneladas de alho, o que representou apenas 0,6% da produção mundial, muito aquém da China, maior produtora global com aproximadamente 73,4% da produção, seguida por Índia (11%) e Bangladesh (1,8%) (Fagundes, 2023). O Brasil figura entre os maiores importadores de alho, embora em 2023 tenha registrado uma redução de 3,8% nas importações em relação ao ano anterior, com destaque para a Argentina como principal fornecedora, seguida por China e Egito (Giehl *et al.*, 2024).

No país, a produção concentra-se em Goiás, Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, responsáveis por cerca de 90% do total. Goiás e Minas Gerais destacam-se pelos altos rendimentos (12–16 t/ha), enquanto no Sul os rendimentos são inferiores (5–9 t/ha), devido à menor mecanização e ao uso de tecnologia (Gugel, 2020; Resende *et al.*, 2020).

Em Santa Catarina, a cultura do alho teve papel fundamental no desenvolvimento do alho nobre brasileiro. Na região do Planalto, especialmente no Núcleo Tríticola, atual município de Frei Rogério, surgiu a primeira variedade de alho roxo nobre, resultado do trabalho do imigrante japonês Takashi Chonan na década de 1970. Seu programa de seleção clonal, iniciado com apoio institucional, priorizou características como bulbos maiores e coloração roxa, culminando no desenvolvimento do alho Chonan (Figura 3), variedade que se espalhou pelo país e chegou a responder por 90% do consumo nacional na safra de 1988/89 (Lucini, 2008).

Figura 3 - Apresentação da cultivar Chonan (indivíduos após a colheita, detalhe dos bulbos e bulbilhos).



Fonte: Leocir José Welter, 2022.

Hoje, a produção catarinense concentra-se em municípios do Planalto, como Frei Rogério, Curitibanos e Fraiburgo entre outros, apresentando diversas cultivares (Caçador, Chona, Contestado, Esmeralda, Ito, Jonas, Quitéria e San Valentim) (Figura 4). Predomina o cultivo familiar, com foco na qualidade e na tradição do produto (Gugel, 2020).

Figura 4 – Detalhe do bulbo e bulbilhos de algumas cultivares de alho roxo, cultivadas em Santa Catarina. A) Caçador; B) Contestado; C) Esmeralda; D) Ito; E) Ito HF; F) Jonas; G) Quitéria e H) San Valentim.



Fonte: Adaptado de Mazzuco, V. (2023)

No entanto, a produção vem enfrentando desafios, incluindo condições climáticas adversas, redução da área plantada e forte competição com o alho importado. Entre 2018/19 e 2023/24, a área plantada caiu de 2.406 ha para 994 ha (redução de 58,7%), com queda na produção de 17,7 mil toneladas para cerca de 7,3 mil toneladas, impactada principalmente pelas chuvas intensas de 2023 (Giehl *et al.*, 2024). Para 2024/25, a área plantada foi de 659 ha contudo com as condições climáticas normais houve uma recuperação significativa de produtividade passando de 10,96 toneladas por hectare (Gugel, 2025).

Além do clima, fatores como altos custos de produção, tributação elevada, escassez de mão de obra e dificuldades de mecanização agravam a competitividade frente ao alho importado, de menor qualidade, mas custo inferior (Silva, 2017). Nesse contexto, destaca-se a necessidade de ações voltadas à valorização do produto nacional, como o desenvolvimento de Indicação Geográfica para o alho roxo do Planalto Catarinense, iniciativa apoiada por associações de produtores e pelo SEBRAE, visando fortalecer a identidade e o mercado do alho catarinense.

1.4 MARCADORES MOLECULARES

A seleção clonal realizada pelos produtores pode resultar em mistura de cultivares ou em erros de identificação, uma vez que, tradicionalmente, a classificação é baseada em caracteres morfológicos fortemente influenciados pelo ambiente, sobretudo diante da ampla variação das condições edafoclimáticas no Brasil. Por isso, a utilização de métodos biotecnológicos, como os marcadores moleculares e bioquímicos, é recomendada para a correta caracterização de cultivares, pois esses métodos não sofrem interferência ambiental e permitem aplicações como mapeamento genético, seleção assistida e estudos filogenéticos (Bered; Barbosa Neto; Carvalho, 1997; da Cunha, 2011; Kalia *et al.*, 2011).

1.4.1 Marcadores AFLP

O marcador AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) baseia-se na digestão do DNA genômico com enzimas de restrição, seguida da ligação de adaptadores nos sítios de restrição e posterior amplificação seletiva desses fragmentos por PCR. Essa técnica permite a amplificação simultânea de fragmentos de 80 a 500 pb, independentemente do tamanho ou complexidade do genoma, sem necessidade de conhecimento prévio das sequências (Nadeem *et al.*, 2018; Vos *et al.*, 1995).

Entre suas principais vantagens estão a geração de grande número de polimorfismos por reação, alta especificidade devido ao uso de primers longos e a robustez do ensaio. Não requer

informações prévias de sequência para o desenvolvimento dos iniciadores (Faleiro, 2001). Como limitação, destaca-se o alto custo dos reagentes e a complexidade do protocolo, que envolve várias etapas (Ferreira, M. E; Grattapaglia, 1998).

1.4.2 Marcadores S-SAP

O marcador molecular S-SAP (Sequence-Specific Amplification Polymorphism) é uma variação da técnica AFLP desenvolvida para detectar polimorfismos nas regiões adjacentes aos sítios de inserção de retrotransposons (Flavell *et al.*, 1998; Schulman *et al.*, 2012). A técnica utiliza primers específicos para as regiões LTR (Long Terminal Repeats) desses elementos, combinados com primers ancorados a sítios de restrição próximos, permitindo a amplificação seletiva de fragmentos polimórficos (Batzner, 2013; Waugh *et al.*, 1997).

O S-SAP tem se mostrado altamente eficiente na identificação de numerosos loci polimórficos, sendo amplamente aplicado em diversas espécies vegetais e animais. Essa eficiência decorre das características intrínsecas dos retrotransposons, como sua ampla distribuição, elevado número de cópias e inserção aleatória no genoma. Tais atributos facilitam o desenvolvimento de marcadores capazes de acessar regiões genômicas dinâmicas e altamente polimórficas, com aplicações relevantes em estudos de biodiversidade, evolução genômica, mapeamento de genes e estimativas de distância genética (Kalendar *et al.*, 1999).

A combinação entre a abundância dos retrotransposons e sua capacidade de induzir alterações estruturais nas regiões flangeadoras reforça o S-SAP como uma ferramenta eficaz para a análise da variabilidade genética em diferentes contextos biológicos (Jiang *et al.*, 2016).

1.5 PERGUNTAS NORTEADORAS

1. Quais padrões e tendências metodológicas emergem na literatura, sobre o uso de marcadores moleculares no alho e como eles sustentam caracterização, conservação e autenticação varietal?
2. Em que medida há diferenciação genética entre o alho roxo do Planalto Catarinense e materiais de outras regiões brasileiras, e como isso dialoga com propriedades químicas/colorimétricas e com requisitos de Identificação Geográfica?
3. Qual é a diversidade intra-cultivar em clones fenotipicamente contrastantes e o que ela revela sobre a base genética das variações morfoagronômicas?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Integrar análises de revisão e experimentais para compreender os padrões de diversidade genética do alho (*Allium sativum* L.), com ênfase nas cultivares roxas nobres do Planalto Catarinense, visando subsidiar estratégias de conservação, valorização territorial e fortalecimento da cadeia produtiva.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e analisar criticamente o uso de diferentes sistemas de marcadores moleculares aplicados ao alho, destacando avanços biotecnológicos, lacunas e perspectivas para a caracterização genética e a conservação da cultura.
- Caracterizar a diferenciação genética, química e colorimétrica entre cultivares de alho roxo nobre do Planalto Catarinense e de outras regiões do Brasil, utilizando marcadores microssatélites (SSR), com vistas ao reconhecimento de Identificação Geográfica (IG)
- Avaliar a diversidade intra-cultivar do alho roxo nobre, por meio da aplicação de marcadores AFLP e S-SAP, explorando a base genética das variações morfoagronômicas observadas entre clones superiores e inferiores.

3 CAPÍTULO I – FROM CONSOLIDATION TO INNOVATION: THE CONTRIBUTION OF MOLECULAR MARKERS IN THE CHARACTERIZATION AND CONSERVATION OF GARLIC (*ALLIUM SATIVUM* L.)

Artigo submetido em 9 de outubro de 2025, aceito em 4 de fevereiro de 2026 e publicado na revista *Genetic Resources and Crop Evolution* (2026, v.73, art.122). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10722-026-02748-1>

Genet Resour Crop Evol (2026) 73:122
<https://doi.org/10.1007/s10722-026-02748-1>

REVIEW



From consolidation to innovation: the contribution of molecular markers in the characterization and conservation of garlic (*Allium sativum* L.)

Dalvan Carlos Beise · Danielle da Silva · Ana Kelly de Souza Silva · Suelen Martinez Guterres · Leocir José Welter · Valdir Marcos Stefenon

Received: 9 October 2025 / Accepted: 4 February 2026
 © The Author(s) 2026

Abstract Garlic (*Allium sativum* L.) stands out among the most relevant vegetable crops worldwide, not only for its nutritional and culinary uses but also for its economic impact and cultural significance in various producing regions. Although it is clonally propagated and presents limitations in sexual recombination (features that contribute to its genomic complexity), molecular investigations have demonstrated that its genetic variability is broader than previously assumed. Early-generation markers, such as random amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphisms (AFLP), inter simple sequence repeat (ISSR), sequence-related amplified polymorphism (SRAP), and simple sequence repeat (SSR), played a crucial role in revealing this diversity, thereby supporting cultivar identification and germplasm management. The combination of different

marker systems increased the robustness of analyses, enabling the distinction of closely related genotypes and the selection of representative core collections. More recently, high-resolution platforms such as single nucleotide polymorphisms (SNPs), DarTseq, SLAF-seq, and genome-wide association studies (GWAS) have expanded the potential to link genetic variation to complex phenotypes, offering valuable tools for breeding programs and the valorization of local landraces. These advances not only strengthen the conservation of agrobiodiversity but also enhance the inclusion of farming communities in innovation processes. In this review, we synthesize the main advances achieved with different classes of markers, highlighting their contributions to the genetic characterization of garlic and their social and scientific applications. Looking forward, the incorporation of omics and multi-omics approaches tends to deepen our understanding of functional mechanisms and broaden the horizons for the sustainable use of this species on a global scale.

D. C. Beise (✉) · D. da Silva · A. K. de Souza Silva · S. M. Guterres · V. M. Stefenon (✉)
 Laboratory of Plant Developmental Physiology and Genetics, Graduate Program in Plant Genetic Resources, Federal University of Santa Catarina, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Florianópolis, SC 88034-000, Brazil
 e-mail: dalvanbio@gmail.com

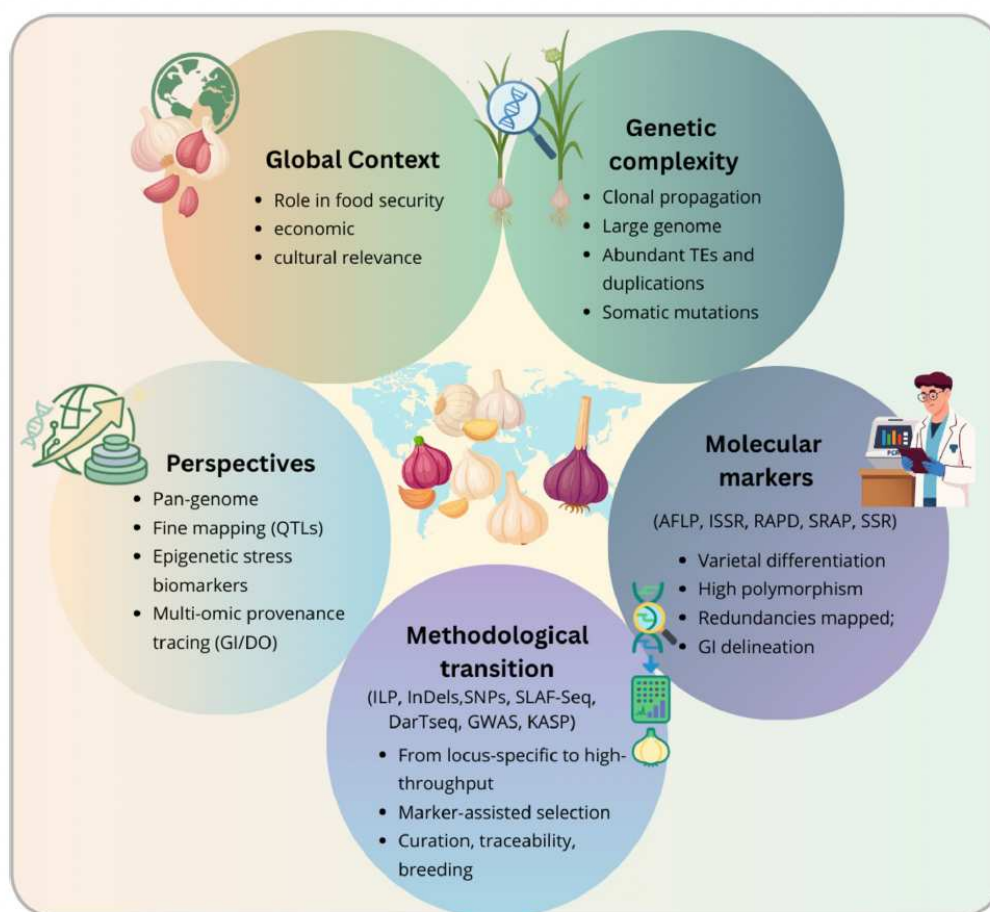
V. M. Stefenon
 e-mail: valdir.stefenon@ufsc.br

L. J. Welter
 Department of Natural and Social Sciences, Federal University of Santa Catarina, Rod. Ulysses Gaboardi, Km 3, Curitibaanos, SC 89520-000, Brazil

Published online: 21 February 2026

Springer

Graphical abstract



Keywords Cultural heritage · Garlic · Genetic diversity · Germplasm management · Molecular markers · Socioeconomic valorization

Introduction

Garlic (*Allium sativum* L., Amaryllidaceae) (Fig. 1) is one of the most widely cultivated vegetable crops in the world, with an estimated production of 28.67 million tons in 2023 (FAOSTAT 2025). It plays an

important role in food security and agriculture, as well as in the economic and sociocultural life of many regions (Brewster 2008; Galmarini 2018; Benke et al. 2021; Garmame Galgaye 2022). It is also employed in ethnobotanical practices, traditional medicine, and even ethnoveterinary uses due to the presence of organosulfur compounds (Arreola et al. 2015; Leyva et al. 2016; Batiha et al. 2020; Singh et al. 2025).

Originating in Central Asia, garlic (Fig. 1a, b) was disseminated along ancient trade routes, reaching the Mediterranean region and subsequently

spreading globally (Shemesh-Mayer et al. 2023; Bachrach 2025). Despite producing flowers (Fig. 1c), garlic is propagated vegetatively by cloves or bulbils (Fig. 1d–f) outside its center of origin because commercial cultivars have lost their ability to reproduce sexually due to meiotic abnormalities and pollen degeneration (Etoh and Hong 2001; Solanki Bal et al. 2023). Thus, conventional breeding through sexual crossing is not feasible, and the clonal selection of spontaneous variants emerged as the main pathway for cultivar development (Parreño et al. 2023).

Despite this biological limitation, studies have revealed a wide morpho-agronomic and molecular diversity, attributed to spontaneous mutations, somaclonal variation, and the informal exchange of germplasm (Ipek et al. 2008; Shaaf et al. 2014; Kırac et al. 2022). This diversity is associated with the genomic complexity of the species, whose diploid genome reaches 16.24 Gb, with more than 90% consisting of repetitive sequences (Sun et al. 2020).

In traditional agroecosystems, selection conducted over generations has resulted in local landraces adapted to diverse edaphoclimatic conditions (Casals et al. 2023). These landraces are strategic resources for the conservation of agrobiodiversity and for the cultural and socioeconomic valorization of farming communities (Bonasia et al. 2020; Papaioannou et al. 2023; Beise et al. 2024).

Given this broad range of morpho-agronomic and genetic characteristics, the need for more precise tools to differentiate genotypes becomes evident. Methods based on morphological and agronomic descriptors are limited due to environmental influence and low resolution in distinguishing genetically similar clones, which restricts their application in vegetatively propagated species (Grover and Sharma 2016; Bidyananda et al. 2024). In this context, the introduction of molecular markers in the 1990s represented a major advance, providing greater stability, sensitivity, and independence from environmental factors compared to morphological and enzymatic descriptors (Jo et al. 2012; Kesh and Yadav 2023).

The main systems include dominant markers, which detect the presence or absence of bands (RAPD, AFLP, ISSR, SRAP), and codominant markers, which distinguish between homozygotes and heterozygotes (SSR, ILP, InDel) (Grover and Sharma 2016; Nadeem et al. 2018). The choice of

marker depends on the study objectives, the resolution required, and the available resources (Chinnappareddy et al. 2013; Li et al. 2021). These systems have been applied to *A. sativum* to estimate genetic diversity, authenticate clonal cultivars, and organize germplasm banks (Ipek et al. 2003; Jabbes et al. 2011; Chen et al. 2013; Gowd et al. 2023; Leišová-Svobodová et al. 2024). With next-generation sequencing (NGS) technologies, genetic, functional, and comparative analyses have begun to be carried out on a larger scale (Bhatwalkar et al. 2021; Cho et al. 2024).

Although considerable progress has been achieved, the evidence regarding the use of molecular markers in garlic remains fragmented, hindering knowledge consolidation and practical applications in clonal species. More than simply compiling isolated performance indices, it is necessary to understand how different systems contribute with their potential and limitations to genetic characterization, germplasm conservation, and varietal authentication. This discussion is particularly relevant in clonal crops such as garlic, whose diversity is strongly shaped by agricultural and community management of genetic resources, with direct implications for food security, local farmer valorization, and cultural heritage preservation.

At the same time, garlic production relates to the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), as it fosters the reduction of social vulnerabilities, the strengthening of resilient agricultural systems, and the maintenance of agronomic diversity as a strategic resource for the future (United Nations 2015; Pérez-Escamilla 2017; FAO 2018; Lima et al. 2020). Within this scenario, this review synthesizes and critically analyzes the use of molecular markers in garlic (*Allium sativum* L.), highlighting advances, limitations, and perspectives concerning genetic diversity characterization of this crop around the world.

Genetic differentiation and structure of garlic assessed with dominant markers

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers were widely applied in the genetic characterization of garlic, particularly for varietal differentiation, the organization of physiological groups, and

the analysis of eco-physiological requirements, photoperiod, and vernalization (Table 1).

In noble (cultivars characterized by uniform bulbs with mainly white tunics, well-defined number of cloves, late growth cycle, high requirements for low temperatures and long photoperiods for bulbing; Resende et al. 2017) and semi-noble (cultivars characterized by bulbs with white to cream tunic with anthocyanin streaks, greater morphological variability and environmental adaptability, and lower thermal and photoperiodic requirements; Resende et al. 2017) garlic, studies successfully distinguished groups even when intra-group similarity was high, integrating genetic patterns with morphological, physicochemical, and agronomic descriptors (Mota et al. 2004, 2006; Vieira and Nodari 2007). Similar results were obtained in the organization of accessions according to development cycle (Buso et al. 2008) and in the relationship between genetic structure and vernalization requirement, demonstrating that eco-physiological traits shape part of the detected variability (Khar et al. 2008).

The relationship between genetic groupings and photoperiod requirements was also evidenced, independently of the geographic origin of the accessions, indicating that physiological factors can be more decisive than provenance in the genetic organization of garlic (Paredes et al. 2008; Singh et al. 2011). Variability was also associated with disease resistance and environmental adaptation. Mutants resistant to white rot (*Sclerotium cepivorum*), for example, showed greater diversity compared to susceptible ones (Nabulsi et al. 2001). In Iranian accessions, groupings reflected different climatic zones, showing the influence of environmental conditions on genetic structure (Abdoli et al. 2009).

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) markers stood out for their high efficiency in detecting polymorphism, even among morphologically similar accessions. The wide range of primer combinations allowed the generation of a large number of fragments, reaching polymorphism rates above 85% in several studies (Table 1). This technique proved effective in identifying genetically redundant or synonymous cultivars, revealing groupings generally consistent with morphological descriptors, but also inconsistencies in commercial nomenclature (García-Lampasona et al. 2003, 2012; Volk et al. 2004). In Brazil, clear distinctions

between noble and semi-noble cultivars were associated with phenotypic stability and genetic similarity (Morales et al. 2013). Similar results were observed when molecular data were integrated with morphological and agronomic descriptors, evidencing significant divergence even in cultivars traditionally considered unique, such as the Turkish “Kastamonu” garlic (Ipek et al. 2005, 2006, 2008). In germplasm collections, AFLPs revealed high polymorphism rates and good genome coverage, confirming groupings related to physiological traits but not necessarily to geographic origin, suggesting wide circulation of propagative material (Ovesná et al. 2007, 2011).

ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) markers demonstrated good discriminatory capacity even in contexts of low genetic diversity (Table 1). In 131 Indian accessions, ISSR markers produced groupings consistent with geographic origin, although the small number of markers was highlighted as a limitation (Sharma et al. 2018). In 27 Egyptian genotypes, ISSRs revealed 98.18% polymorphism, with groupings associated with phenotypic traits such as bulb color, and identified two genetically identical genotypes (Elsharkawy et al. 2021). In 39 Turkish clones, the use of 10 primers generated 55 fragments and a polymorphism index of 85%, enabling the association of genetic diversity with relevant morphological variations and the identification of clones with high agronomic potential and genetic distinctiveness, underscoring the relationship between genetic diversity, product, territory, and cultural identity (Kıraç et al. 2022).

SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) markers, though less commonly used, showed good potential for the genetic characterization of *Allium sativum* (Table 1), allowing the integration of molecular information with agronomic and biochemical descriptors. In germplasms from China, Ethiopia, Thailand, and Korea, the technique revealed groupings associated with geographic origin, suggesting the influence of environmental and historical factors of cultivation on genetic structure and reinforcing its applicability in conservation strategies, the protection of traditional cultivars, and the definition of geographical indications (Chen et al. 2013). In accessions from the Indian institutional collection, SRAPs revealed more than 80% polymorphism. These markers enabled the association of genetic characterization

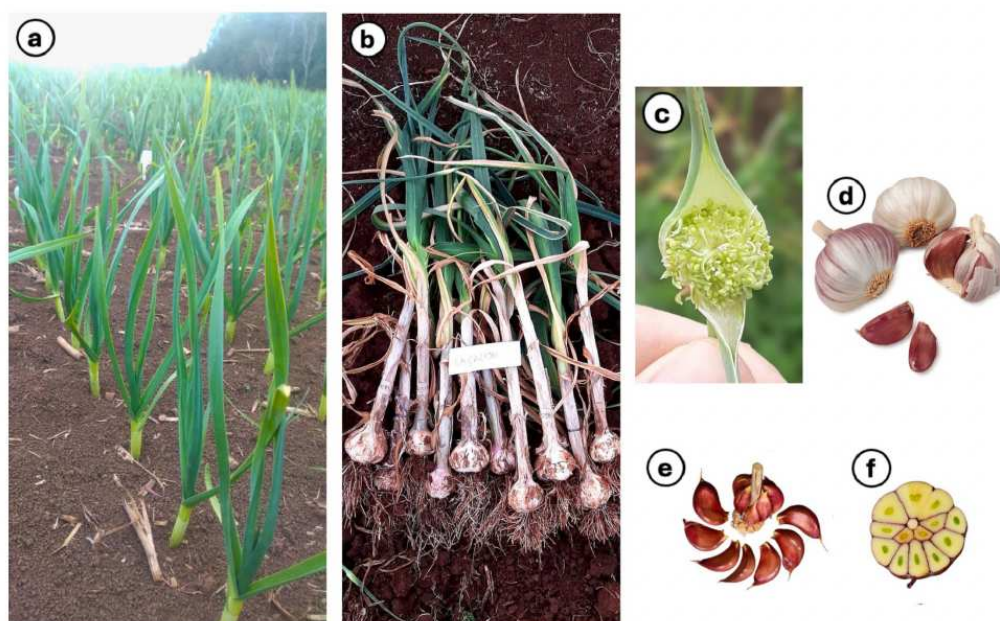


Fig. 1 Morphological aspects of *A. sativum*. **a** Cultivation of noble garlic in the Planalto Catarinense Region, Southern Brazil. **b** Harvested plants of the Brazilian noble garlic cultivar “Caçador” from the Planalto Catarinense Region. **c** Umbel-

type inflorescence of noble garlic cultivar “Caçador”. **d** Bulbs of the Brazilian noble garlic cultivar “Chonan”. **e** Cloves and **f** bulb cross-section of the cultivar “Caçador”

with agronomic and biochemical data, including alliin, phenolic compounds, proteins, and pyruvic acid content. This approach allowed the identification of accessions with high functional quality and market potential. The study also defined a representative core set of national diversity for germplasm conservation, guiding breeding programs (Benke et al. 2021).

Effects of geographic origin, conservation, and management of garlic as revealed by codominant SSR markers

SSR (Simple Sequence Repeat) markers constitute one of the most widely applied molecular techniques in *A. sativum*, with extensive use in genetic diversity analyses. SSRs derived from expressed sequences (EST-SSRs) expanded the discriminatory power of the technique, allowing differentiation of closely related clones, the construction of linkage maps, and comparative genomic analyses (Ipek et al. 2012,

2015; Chand et al. 2015). In addition, SSRs with high transferability among *Allium* species broadened their use in interspecific analyses and varietal certification (Barboza et al. 2018).

In practical applications, SSRs have been used to identify duplicates, structure collections, and propose representative core sets (Table 2). Zhao et al. (2011) analyzed 613 accessions from different countries and proposed a core set of 95 genotypes, while Da Cunha et al. (2014) organized 130 Brazilian accessions into four genetic groups and selected 17 non-redundant genotypes for strategic conservation. Similar structures in European collections confirmed significant redundancy in germplasm banks (Jo et al. 2012; Leišová-Svobodová et al. 2024).

In Asia, studies conducted in India, both in national collections (Khar 2012; Kumar et al. 2019) and in short-day materials adapted to tropical regions (Pasupula et al. 2024), revealed considerable diversity and reinforced the need to support breeding programs and the valorization of regional landraces.

Table 1 Summary of studies performed with garlic (*Allium sativum* L.) using dominant amplified fragment length polymorphism (AFLP), inter simple sequence repeat (ISSR), random amplified polymorphic DNA (RAPD) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers

Marker type	No. of primers	No. of genotypes	Diversity indices (mean)	Sample origin	Reference
RAPD	13	10	NB = 8.23	Síria	Nabulsi et al. (2001)
	80	12	NB = 3.49; PB = 3.23	Brazil (SC, MG)	Mota et al. (2004)
	80	12	–	Brazil (SC, MG)	Mota et al. (2006)
	10	20	NB = 5.7; PB = 3.5; P% = 61.4	Brazil + (BAG Epagri)	Vieira and Nodari (2007)
	75	17	NB = 2.74	Brazil	Buso et al. (2008)
	14	23	NB = 11.5; PB = 6.64; P% = 54.41	India (Institutional collection)	Khar et al. (2008)
	40	65	NB = 9.95; PB = 8.66; P% = 87.0	Chile (foreign introductions)	Paredes et al. 2008
	10	22	NB = 3.50; PB = 3.10; P% = 88.57	Iran	Abdoli et al. (2009)
	18	80	NB = 1.83; PB = 1.83; PIC = 0.18; RP = 0.24	India	Singh et al. (2011)
AFLP	6	8	TB = 67.5; PB = 66.3	South America & Europe	García-Lampasona et al. (2003)
	5	211	TB = 5.4	United states (USDA collection)	Volk et al. (2004)
	63	106	NB = 10.80	Turkey + (international collection)	Ipek et al. (2005)
	7	37	NB = 12.42	United States	Ipek et al. (2006)
	13	131	PB = 296	Europe & Asia	Ovesná et al. (2007)
	3	22	PB = 120	Europe, Middle East & USA	Ipek et al. (2008)
	12	135	P% = 88.9; P = 10.5	Czech Republic (Gene Bank)	Ovesná et al. (2011)
	24	43	He = 2.210; Fst = 0.591	South America & Europe	García-Lampasona et al. (2012)
	3	20	–	Brazil (Embrapa Collection)	Morales et al. (2013)
ISSR	4	131	MI = 2.22; PIC = 0.650; RP = 2.401	India	Sharma et al. (2018)
	5	27	NB = 13.75; PB = 13.5; P% = 98.18	Egypt	Elsharkawy et al. (2021)
SRAP	10	39	TB = 5.6; PB = 4.7; P% = 85.7	Turkey	Kıraç et al. (2022)
	23	40	NPL = 5.7; PPL = 69.14; PIC = 0.77; I = 0.248	China, Etiopia, Tailandia e Coreia	Chen et al. (2013)
	30	46	AB = 5.1; PIC = 0.29; PB = 4.16; PE = 80.59	India (Institutional collection)	Benke et al. (2021)

P%, percentage of polymorphism; NB, number of bands per primer/combination; PB, number of polymorphic bands per primer/combination; AB/TB, amplified/total bands; PE, polymorphism efficiency; MI, marker index; RP, resolving power; PIC, polymorphism information content; H, Nei's gene diversity (expected heterozygosity); I, Shannon's information index; Ne, effective number of alleles; NPL, number of polymorphic loci; PPL, percentage of polymorphic loci; Fst, fixation index

In Himalayan high-altitude regions, the moderate diversity recorded by Sharma et al. (2025a) showed associations between genetic structure and local eco-physiological practices, highlighting the importance of these traditional systems.

In South America, Brazilian cultivars presented contrasting patterns. Accessions from Piauí showed distinct genetic identity compared to material maintained in a germplasm bank in São Paulo, reinforcing the potential of these landraces as a source of

diversity and competitiveness against imported cultivars (Gomes-Viana et al. 2016). However, later analyses pointed to the risk of genetic erosion due to replacement with commercial materials, highlighting the need for in situ conservation strategies and the valorization of regional cultivars as strategic resources for food sovereignty (Gomes-Viana et al. 2021). Comparisons among accessions from Southern, Central-Western, and Southeastern Brazil showed that, although they share the same genetic background (reproductive propagules from the same origin), traditional systems preserve unique traits such as bulb color and chemical composition, in contrast to intensive production, reinforcing the role of family farmers in managing and maintaining noble purple garlic (Beise et al. 2024). In Argentina, Barboza et al. (2020) identified high redundancy in regional collections, but also unique genotypes of strategic interest, consolidating South America's role in global diversity conservation.

In Europe and the Mediterranean, Croatian collections confirmed significant diversity but also genetic redundancy, suggesting the need for better curation of germplasm banks (Poljuha et al. 2021). In Greece, the regional cultivar "Nea Vissa" showed wide genetic and biochemical diversity, evidencing its cultural and functional relevance (Papadopoulou et al. 2025). Similarly, in Turkey, SSRs differentiated local genotypes of the "Taşköprü" garlic, integrating molecular data with volatile and mineral composition for varietal authentication (Karakan 2022).

The integration of molecular data with biochemical and phenotypic information has further expanded the applicability of SSRs. Associations between polymorphism and eco-physiological traits (Glogovac et al. 2024), as well as the identification of genotypes with higher levels of functional metabolites (Barboza et al. 2020), reinforce the potential of these markers in the selection of differentiated cultivars. Multivariate approaches combining molecular, biochemical, and morphological data in cultivated and wild accessions enabled the identification of promising candidates for both yield and functional quality (Gowd et al. 2024).

Some studies also indicate that garlic genetic diversity is not always correlated with geographic origin, but rather with empirical selection and the circulation of propagative material (Jo et al. 2012; Sharma et al. 2025a). Others evidenced clustering patterns linked to morpho-physiological and eco-physiological traits,

such as floral scape presence, vernalization requirement, and bulbil production (Poljuha et al. 2021; Leišová-Svobodová et al. 2024).

Integration of markers: complementary strategies and analytical advances

The integrated use of different marker systems has proven to be an effective strategy to overcome individual methodological limitations and to enhance the resolution of genetic diversity analyses (Table 3).

The combined application of markers has been beneficial for improving germplasm bank management. In Turkey, the combination of AFLP, RAPD, and isoenzymes enabled the identification of duplicates and the distinction of closely related clones, ensuring the rationalization of collections and reducing costs (Ipek et al. 2003). In China, the simultaneous application of AFLP, SSR, and InDel (DNA insertions/deletions) in 212 accessions provided consistent bases for association studies and varietal traceability, strengthening the curation of national collections (Wang et al. 2016). Similarly, the combination of SSR and ILP (Intron Length Polymorphisms) in bolting accessions from the Czech Republic allowed the detection of diagnostic variants and the differentiation of redundant cultivars, contributing to genetic specificity and the valorization of regional cultivars (Ovesná et al. 2014).

These methodological advances have also created opportunities for the valorization of landraces and traditional varieties, which often concentrate not only genetic diversity but also cultural and economic relevance. In Iran, the association between RAPD and ISSR revealed that environmental and geographic factors shape the genetic structure of landraces, evidencing the adaptive potential of these varieties under climate change scenarios (Shaaf et al. 2014).

In Mediterranean regions, the characterization of the Catalan landrace "Belltall," carried out with SSR and InDel, highlighted low inter-population diversity but strong phenotypic identity, features essential for territorial protection initiatives and Geographical Indication (GI) processes (Casals et al. 2023). In Italy, the integration of SSR and ISSR confirmed the genetic uniqueness of the local cultivars "Aglío Rosso di Castelliri" and "Aglío Rosso di Proceno,"

Table 2 Summary of studies performed with garlic (*Allium sativum* L.) using codominant simple sequence repeat (SSR) markers

No. loci ^a	No. of genotypes	Diversity indices mean	Sample origin	Reference
8	613	A = 14.1; Ho = 0.442; I = 2.218; PIC = 0.633	36 countries (Asia, Europe, Africa, and the Americas)	Zhao et al. (2011)
7	120	A = 5.3; Ho = 0.716; PIC = 0.518	Asia and Europe	Jo et al. (2012)
18 ^b	93	A = 4; Ho = 0.64; PIC = 0.52	India	Khar et al. (2012)
17	130	A = 5; Ho = 0.504; I = 1.068; PIC = 0.55	Brazil + (Americas, Asia, Europe)	Da Cunha, et al. (2014)
8	96	–	Brazil	Gomes-Viana et al. (2016)
10	53	A = 3.9; PIC = 0.65	India	Kumar et al. (2019)
10	73	A = 4.3; Ho = 0.51; PIC = 0.38	Argentina	Barboza et al. (2020)
8	80	A = 15.3; Ho = 0.54	Brazil	Gomes-Viana et al. (2021)
13	80	A = 5.46	Croatia + (Americas, Asia, Europe)	Poljuha et al. (2021)
13	4	–	Turkey	Karakan (2022)
13	23	A = 2.11; I = 0.59; Ho = 0.73	Brazil	Beise et al. (2024)
10 ^c	52	A = 3.6; Ho = 0.170; PIC = 0.285	Serbia + (Europe and Asia)	Glogovac et al. (2024)
24	635	A = 8.7; I = 1.04	Czech Republic gene bank	Leisová et al. (2024)
19	95	A = 8.84; PIC = 0.608	India (bank germplasm)	Gowd et al. (2024)
9 ^d	29	A = 3.67; PIC = 0.50	India	Pasupula et al. (2024)
27	60	A = 2.0; Ho = 0.31; I = 0.42; PIC = 0.627	India	Sharma et al. (2025a, b)
9	80	A = 1.8; I = 0.321; PIC = 0.233	Greece	Papadopoulou et al. (2025)

A, number of alleles per locus; Ho, observed heterozygosity; I, Shannon's information index; PIC, polymorphism information content

^aNumber of polymorphic markers used in the study; ^bout of 68 tested markers; ^cout of 30 tested markers; ^dout of 214 tested markers. For all other studies, no information about the number of SSR loci screened was reported

identifying private alleles relevant for traceability and reinforcing the role of these varieties in origin certification processes (Alicandri et al. 2025).

The complementarity between molecular data and morphological or biochemical traits has further strengthened the potential of these systems. In China, the association of SSR and ISSR resulted in groupings consistent with productive attributes such as clove weight and floral scape emission, traits directly related to yield and commercial acceptance (Chen et al. 2014). In Greece, the combination of ISSR and SSR with organosulfur compounds revealed patterns consistent with phenotypic and biochemical attributes, reinforcing the usefulness of integrated panels for varietal authentication (Papaioannou et al. 2023). In Egypt, the combination of SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism), SCoT (Start Codon Targeted), and morphological descriptors enabled the selection of high-yielding lines with immediate potential for breeding programs and local adaptation (Glala et al. 2025).

The use of integrated markers has also been explored in ex situ conservation. The combined application of RAPD, SSR, and MSAP (Methylation-Sensitive Amplification Polymorphism) in cryopreserved accessions demonstrated high genotypic stability but also variations in DNA methylation patterns, indicating that in vegetatively propagated species, genetic fidelity is maintained, while epigenetic plasticity persists as a component of diversity. This result has direct implications for germplasm bank management and the design of long-term conservation strategies (Martín et al. 2025).

Methodological transition and genomic applications: from gene-based markers to large-scale genotyping

The evolution of tools applied to the genetic characterization of *A. sativum* reveals a methodological transition: from locus-specific markers to higher-density

approaches capable of providing more resolute analyses and linking genetic variants to phenotypes. This movement has expanded the ability to curate germplasm banks, identify loci associated with complex agronomic traits, and develop markers applicable in breeding programs.

The first advances explored gene regions of functional interest. The analysis of partial sequences of the *alliinase* gene, central to sulfur metabolism, revealed conserved exons and introns with haplotypes associated with geographic origin, with potential

use in varietal authentication (Saptana et al. 2021; Napitupulu et al. 2021; de Vahl and Svanberg 2022). Complementarily, thousands of SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) and InDels were identified in garlic transcripts, some validated by Mendelian segregation, establishing the first foundations for functional genetic maps in a clonally propagated species (Havey and Ahn 2016).

Subsequently, low-cost gene-based marker systems such as ILPs, consolidated as intermediate alternatives. These markers showed high polymorphism

Table 3 Summary of integrated molecular marker studies applied to garlic (*Allium sativum* L.)

Marker type/no. loci	No. of genotypes	Diversity indices mean	Sample origin	Reference
AFLP (11) RAPD (9) Isozyme (6)	48	—	Turkey	Ipek et al. (2003)
SSR (8) ISSR (17)	39	SSR (A=6.9; h=0.287; I=0.438; PIC=0.72) ISSR (h=0.289; I=0.441; PIC=0.72)	China + (Japan, Thailand, Korea, Ethiopia)	Chen et al. (2014)
SSR (14) ILP (2)	43	SSR (A=6.64) ILP (A=3.5)	Czech Republic + (France, Spain, China, Slovakia)	Ovesná et al. (2014)
RAPD (10) ISSR (6)	31	RAPD (NB=8.9; NPB=3.3; PPB=37.8%) ISSR (NB=7.5; NPB=3.2; PPB=42.22%)	Iran	Shaaf et al. (2014)
AFLP (16) SSR (6) InDel (1)	212	AFLP (h=0.28; I=0.42) SSR (A=7.33; h=0.255; I=0.396) InDel (A=10; h=0.25; I=0.38)	China (National germplasm collection)	Wang et al. (2016)
SSR (5) InDel (3)	20	SSR (A=4; PIC=0.324) InDel (A=2.66; PIC=0.18)	Spain (Catalonia, Belltall landrace)	Casals et al. (2023)
SSR (5) ISSR (6)	27	SSR (A=5.2; Ho=0.476; I=1.013; PIC=0.471) ISSR (PIC=0.465)	Greece (local landraces)	Papaioannou et al. (2023)
SSR (13) ISSR (10)	35	SSR (A=5.23; Ho=0.55; PIC=0.41) ISSR (TB=18.1; PB=18.1; PIC=0.17)	Italy (Castelliri and Proceno landraces)	Alicandri et al. (2025)
SRAP (8) SCoT (10)	15	SRAP (AB=12.6; h=0.42; NPL=8.75; P%=99.4; PIC=0.33) SCoT (AB=19.7; h=0.50; NPL=13.5; P%=93.04; PIC=0.485)	Egypt	Glala et al. (2025)
SSR (10) MSAP (4) RAPD (11)	75	—	Germany (gene bank)	Martín et al. (2025)

A, number of alleles per locus; h, Nei's genetic diversity; Ho, observed heterozygosity; I, Shannon's information index; PIC, polymorphic information content; NB, number of bands; NPB, number of polymorphic bands; PPB, percentage of polymorphic bands; TB, total bands; PB, polymorphic bands; AB, average bands per primer; NPL, number of polymorphic loci; P%, percentage of polymorphism

rates in different *Allium* species, distinguishing cultivated forms from wild relatives (Gowd et al. 2023). More recently, their high transferability to garlic was confirmed, with rates exceeding 80%, reinforcing their applicability in germplasm collections and comparative analyses (Benke et al. 2025).

The most expressive methodological leap occurred with the adoption of large-scale genotyping platforms. The use of DArTseq (Diversity Arrays Technology sequencing) in 417 accessions enabled the reduction of redundancies and the establishment of a core collection representative of global diversity (Egea et al. 2017). Later, the use of SLAF-seq (Specific locus amplified fragment sequencing) in 102 Chinese cultivars resulted in the identification of more than one million SNPs, defining three distinct population groups and a core set of 30 cultivars (Yang et al. 2024). These results highlight the impact of massive genotyping on the curation and management of genetic resources.

Recent advances include the application of GWAS (Genome-Wide Association Studies), which have connected markers to complex phenotypes. The analysis of 606 accessions from 43 countries identified more than 500 SNPs significantly associated with 20 morpho-agronomic traits, revealing genomic hotspots of interest (Jia et al. 2023). Additionally, 26 stable loci were identified for five bulb traits across four environments, some of which were converted into KASP (Kompetitive Allele Specific PCR) markers validated experimentally, consolidating the application of molecular markers in marker-assisted selection for garlic (Wang et al. 2025).

Clonal but diverse: insights into the genetic diversity of garlic

Historically, garlic was considered a species with low genetic diversity due to its vegetative propagation and the absence of sexual recombination (Etoh and Hong 2001; Jo et al. 2012; Sun et al. 2020). However, studies based on molecular markers have demonstrated that the existing diversity is broader than previously assumed (Ipek et al. 2003; Papaioannou et al. 2023; Papadopoulou et al. 2025). This shift in perspective repositioned garlic as a strategic resource for agrobiodiversity conservation and for the cultural and socioeconomic valorization of producing communities.

Traditional markers such as RAPD, AFLP, ISSR, and SSR played a central role in this process. Despite methodological limitations, these tools enabled the differentiation of local varieties, the organization of germplasm banks, and the authentication of regional cultivars (Ipek et al. 2003; Volk et al. 2004; Mota et al. 2006; Vieira and Nodari 2007; Zhao et al. 2011; Chen et al. 2013; Da Cunha et al. 2014; Elsharkawy et al. 2021). By overcoming the restrictions of morphological descriptors, they laid the foundation for genetic conservation strategies, territorial valorization, and the protection of regional products.

The methodological evolution led to the adoption of higher-density and higher-resolution technologies, such as SNPs derived from transcriptomes (Havey and Ahn 2016), genotyping with DArTseq (Egea et al. 2017) and SLAF-seq (Yang et al. 2024), as well as genome-wide association studies (GWAS) (Jia et al. 2023; Wang et al. 2025). These approaches expanded the capacity to connect genomic variants to complex phenotypes, reduce redundancies in collections, and establish representative core sets on a global scale. In this sense, a two-phase trajectory is observed: classical markers provided the foundation for curation and authentication, while high-density platforms consolidated integrative and functionally oriented analyses.

This movement is not exclusive to garlic. In onion (*Allium cepa* L.), molecular markers are applied to estimate genetic diversity and to identify cytoplasmic male sterility, essential for hybrid seed production (Chinnappareddy et al. 2013). In potato (*Solanum tuberosum* L.), SSRs have been used to identify duplicates and correct inconsistencies in germplasm collections, optimizing conservation strategies (Chrominski et al. 2024). In tomato (*Solanum lycopersicum* L.), SSRs combined with population analyses have supported marker-assisted selection programs for genetic improvement (Genievskaia et al. 2024).

In major crops, even more robust advances have been consolidated. In soybean (*Glycine max* (L.) Merrill), panels of SSR and SNP markers have supported association studies identifying genes linked to nematode resistance and tolerance to abiotic stresses (Hyten et al. 2010; Tran et al. 2019; Qu et al. 2025). In wheat (*Triticum aestivum* L.), GWAS analyses with extensive SNP panels identified loci associated with leaf rust resistance, strengthening gene pyramiding strategies (Khan et al. 2024; Sharma et al. 2025b). In oat (*Avena sativa* L.), similar GWAS revealed

durable QTLs and markers associated with key traits for marker-assisted selection (Ardayfio et al. 2025). In maize (*Zea mays* L.), marker-assisted selection (MAS) has become routine in breeding programs, applied to yield, disease resistance, and nutritional enrichment (Prasanna et al. 2020).

These examples reinforce that, both in clonal species and in autogamous or allogamous crops, molecular markers have consolidated as central tools for genetic conservation and technological innovation in diverse agricultural systems. Despite recent innovations, molecular markers continue to be recommended for their reliability, accessibility, and broad applicability, remaining relevant across multiple contexts of research, conservation, and breeding.

Perspectives

Although the consolidation of molecular markers has already redefined the foundations for conservation and breeding, the next methodological leap involves the integration of omics and multi-omics approaches, capable of expanding our understanding of garlic's genetic and functional mechanisms (Khandagale et al. 2020). Transcriptomic studies have already identified genes associated with floral sterility (Kamenetsky et al. 2015), bulb yield (Zhu et al. 2019), and tolerance to abiotic stresses (Mehra et al. 2020). In addition, transcriptomic catalogs related to the metabolism of organosulfur compounds project the development of molecular panels applicable to certification, traceability, and the protection of regional cultivars (Zhu et al. 2019).

In addition to the studies of genetic diversity, structure, selection, and breeding, the omics sciences have also shown important advances in garlic characterization. In the field of nutritional quality, transcriptomic and metabolomic analyses have identified regulators of the synthesis of bioactive compounds with functional interest (Liu et al. 2015; Huang et al. 2022), opening opportunities for niches such as functional foods and nutraceuticals. Moreover, metabolomics profiling combined with chemometrics enabled the geographical discrimination and authentication of Chinese garlic (Mi et al. 2021). Combining transcriptomic and metabolomic analyses, the mechanisms by which garlic yield and quality are affected by the interaction between sulfur and nitrogen were

described (Ren et al. 2024). In turn, the combined analysis of transcriptomic and proteomic profiles revealed the phenylpropane pathway involved in garlic greening (Wu et al. 2021).

Despite persistent barriers, including high costs, limited infrastructure, and the need for specialized bioinformatics capacity, these technologies have a potentially disruptive character (Alyass et al. 2015; Cembrowska-Lech et al. 2023; Mohr et al. 2024). Overcoming these constraints will depend on the consolidation of partnerships among research institutions, family farmers, and public policies, capable of democratizing access to innovation.

At the same time, biotechnology applied to garlic is increasingly linked to strategies for Geographical Indication (GI), strengthening territorial and socio-economic recognition. Established initiatives, such as “Taşköprü Garlic” (Turkey) and “Ajo Morado de Las Pedroñeras” (Spain), as well as ongoing processes, such as “Alho Roxo do Planalto Catarinense” (Brazil), demonstrate how genetic and biochemical characterization support origin certifications and expand the competitiveness of local producers (Karakan 2022; Casals et al. 2023; Beise et al. 2024). Beyond molecular advances, garlic research has been increasingly articulated with the global sustainability agendas of the United Nations (SDGs), evidencing that breeding and genetic conservation contribute to mitigating social vulnerabilities and strengthening food security through more resilient agricultural systems (FAO 2018; Haile et al. 2025; Zenbaba et al. 2025). Thus, the trajectory of garlic—from traditional markers to new technologies and omics approaches—shows how biotechnology simultaneously acts as a driver of scientific innovation and as an instrument for territorial valorization, integrating agrobiodiversity conservation, socioeconomic strengthening, and global sustainability.

Molecular markers have transformed garlic research, overcame the perception of low genetic variability, and revealed broad diversity associated with spontaneous mutations, somaclonal variation, and agricultural management. This trajectory, from traditional markers to high-density genomic platforms, has established solid foundations for germplasm conservation, varietal authentication, and the valorization of regional cultivars.

The most recent technologies, such as large-scale SNPs, GWAS, and omics approaches, increase

analytical resolution and open new perspectives for breeding programs, origin certification, and the development of resilient and nutritionally differentiated cultivars. Although barriers related to cost and infrastructure persist, the potential of these tools is transformative, depending on the integration among science, public policies, and the active participation of family farmers.

In summary, further progress in genetic breeding and conservation of garlic relies on combining the use of different markers and further exploring the omics and bioinformatic tools. Using different markers allows exploring the main advantages of each one. For instance, SSR markers have the advantage of being multiallelic, codominant (allowing the discrimination between homozygous and heterozygous samples), and locus-specific, i.e., each marker has information about a single point in the genome. However, genotyping hundreds of such markers is necessary to achieve sufficient genome coverage. On the other hand, AFLP markers rely on the binary information about the presence or absence of DNA fragments of the same size. For this marker, a single primer combination generates hundreds of fragments randomly distributed across the genome, increasing the probability of assaying markers linked to genes of interest. Dominant S-SAP markers, in turn, combine the broad genome coverage of AFLP markers with the advantage of using one AFLP primer paired with a second primer anchored in the conserved region of RTL retrotransposons. Considering that around 76% of the garlic genome is composed of RTL repetitive elements, that over 4200 genes were characterized containing TE insertions (which may regulate gene expression and alter phenotypes) in this species (Sun et al. 2020), and that retrotransposons putatively linked to morphometric agronomic traits have been found in plant species (e.g. Oliveira et al. 2023), S-SAP markers should be more widely employed in investigations of garlic genetic diversity. Since repetitive genomic elements are largely concentrated at the centers of chromosomes (Sun et al. 2020), studies combining multiallelic and highly locus-informative SSRs, LTR-linked S-SAPs, and broadly distributed AFLPs have the potential to generate highly useful genetic data for garlic breeding.

Finally, advances in omics and bioinformatic tools cannot be neglected. Genome skimming should be further applied for genetic diversity analyses based

on SNP polymorphism, targeting desirable agronomic traits through whole-genome association study (WGAS) strategies. Transcriptomic, proteomic, and metabolomic analyses will continuously enhance our knowledge about physiological and biochemical traits, providing valuable insights to support decision-making in garlic protection, conservation, and breeding worldwide.

Acknowledgements This work was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—CAPES (Finance Code 001), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq (Grant n. 305608/2024-0), and Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina—FAPESC (Grant n. 2021TR000303). The authors are grateful to the Federal University of Santa Catarina (UFSC) for institutional support during the doctoral program.

Author contributions The idea for this review was conceived by Dalvan Carlos Beise. The bibliographic search, data analysis, and organization of the information were carried out by Dalvan Carlos Beise, Danielle da Silva, Ana Kelly de Souza Silva, and Suelen Martinez Guterres. The first draft of the manuscript was written by Dalvan Carlos Beise, and the final critical revision and supervision were performed by Leocir José Welter and Vadir Marcos Stefenon. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Funding The Article Processing Charge (APC) for the publication of this research was funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) (ROR identifier: 00x0ma614).

Data availability No datasets were generated or analysed during the current study.

Declarations

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Abdoli M, Khaniani BH, Baghalian K, et al (2009) Classification of Iranian garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes using RAPD marker. *J Med Plants*
- Alicandri E, De Santis D, Modesti M et al (2025) Genetic and phenotypic diversity and evaluation of total phenolics and antioxidant properties of garlic landraces from Lazio region (Central Italy): "Aglia Rosso di Proceno" and "Aglia Rosso di Castelliri." *Plants* 14:1189. <https://doi.org/10.3390/plants14081189>
- Alyass A, Turcotte M, Meyre D (2015) From big data analysis to personalized medicine for all: challenges and opportunities. *BMC Med Genomics* 8:33. <https://doi.org/10.1186/s12920-015-0108-y>
- Ardayio NK, Kinney C, Li D et al (2025) Genome-wide association studies reveal genetic control of nutritional quality, milling traits, and agronomic characteristics in oat (*Avena sativa* L.). *Plant Genome* 18:e70060. <https://doi.org/10.1002/tpg2.70060>
- Arreola R, Quintero-Fabián S, López-Roa RI et al (2015) Immunomodulation and anti-inflammatory effects of garlic compounds. *J Immunol Res* 2015:401630. <https://doi.org/10.1155/2015/401630>
- Bachrach ZY (2025) Garlic as a medicine throughout the ages (review). *World Acad Sci J* 7:1–9. <https://doi.org/10.3892/wasj.2025.337>
- Bal S, Sharangi AB, Upadhyay TK et al (2023) Quantum leap in the light of molecular elucidation of garlic genome. *Cell Mol Biol* 69:33–51. <https://doi.org/10.14715/cmb/2023.69.3.6>
- Barboza K, Beretta V, Kozub PC et al (2018) Microsatellite analysis and marker development in garlic: distribution in EST sequence, genetic diversity analysis, and marker transferability across Alliaceae. *Mol Genet Genomics* 293:1091–1106. <https://doi.org/10.1007/s00438-018-1442-5>
- Barboza K, Salinas MC, Acuña CV et al (2020) Assessment of genetic diversity and population structure in a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection varying in bulb content of pyruvate, phenolics, and solids. *Sci Hortic*. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108900>
- Batiha E-S, Magdy Beshbishy A, Wasef L G et al (2020) Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): a review. *Nutrients* 12:872. <https://doi.org/10.3390/nu12030872>
- Beise DC, de Silva AKS, Guterres SM et al (2024) Colorimetric, chemical, and genetic characterization of purple garlic in two producing regions in Brazil. *Pesq Agropec Bras* 59:e03778. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2024.v59.03778>
- Benke AP, Krishna R, Mahajan V et al (2021) Genetic diversity of Indian garlic core germplasm using agro-biochemical traits and SRAP markers. *Saudi J Biol Sci* 28:4833–4844. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.013>
- Benke AP, Mahajan V, Mokhat DN (2025) Morphological and molecular diversity of some locally grown, underutilized and cultivated *Allium* species from India. *Genet Resour Crop Evol* 72:121–140. <https://doi.org/10.1007/s10722-024-01965-w>
- Bhatwalkar SB, Mondal R, Krishna SBN et al (2021) Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). *Front Microbiol* 12:613077. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.613077>
- Bidyananda N, Jamir I, Nowakowska K et al (2024) Plant genetic diversity studies: insights from DNA marker analyses. *Int J Plant Biol* 15:607–640. <https://doi.org/10.3390/ijpb15030046>
- Bonasia A, Conversa G, Lazzizera C et al (2020) Evaluation of garlic landraces from Foggia Province (Puglia Region; Italy). *Foods* 9:850. <https://doi.org/10.3390/foods9070850>
- Brewster JL (2008) Onions and other vegetable alliums. CABI
- Buso GS, Paiva MR, Torres AC et al (2008) Genetic diversity studies of Brazilian garlic cultivars and quality control of garlic-clover production. *Genet Mol Res* 7:534–541. <https://doi.org/10.4238/vol7-2gmr451>
- Casals J, Rivera A, Campo S et al (2023) Phenotypic diversity and distinctiveness of the Belltall garlic landrace. *Front Plant Sci*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1004069>
- Cembrowska-Lech D, Krzemińska A, Miller T et al (2023) An integrated multi-omics and artificial intelligence framework for advance plant phenotyping in horticulture. *Biology* 12:1298. <https://doi.org/10.3390/biology12101298>
- Chand SK, Nanda S, Rout E et al (2015) Mining, characterization and validation of EST derived microsatellites from the transcriptome database of *Allium sativum* L. *Bioinformation* 11:145
- Chen S, Zhou J, Chen Q et al (2013) Analysis of the genetic diversity of garlic (*Allium sativum* L.) germplasm by SRAP. *Biochem Syst Ecol* 50:139–146. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.03.004>
- Chen S, Chen W, Shen X et al (2014) Analysis of the genetic diversity of garlic (*Allium sativum* L.) by simple sequence repeat and inter simple sequence repeat analysis and agro-morphological traits. *Biochem Syst Ecol* 55:260–267. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.03.021>
- Chinnappareddy LRD, Khandagale K, Chennareddy A, Ramappa VG (2013) Molecular markers in the improvement of *Allium* crops. *Czech J Genet Plant Breed* 49:131–139. <https://doi.org/10.17221/111/2013-CJGPB>
- Cho H, Park JY, Kim DH et al (2024) Understanding the defense mechanism of *Allium* plants through the onion isochlorogenic acid study. *Front Plant Sci*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1488553>
- Chrominski P, Carlson-Nilsson U, Palmé A et al (2024) Genetic markers identify duplicates in Nordic potato collections. *Front Plant Sci* 15:1405314. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1405314>
- Da Cunha CP, Resende FV, Zucchi MI, Pinheiro JB (2014) SSR-based genetic diversity and structure of garlic accessions from Brazil. *Genetica* 142:419–431. <https://doi.org/10.1007/s10709-014-9786-1>
- Egea LA, Mérida-García R, Kilian A et al (2017) Assessment of genetic diversity and structure of large garlic (*Allium sativum*) germplasm bank, by diversity arrays technology "genotyping-by-sequencing" platform (DARTseq). *Front Genet* 8:272084. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00098/BIBTEX>

- Elsharkawy GA, Hegazi HH, Azab E et al (2021) Assessment of genetic diversity among Egyptian garlic landraces based on morphological characteristics and ISSR markers. *Eur J Hort Sci* 86:579–589
- Etoh T, Hong CJ (2001) RAPD markers for fertile garlic. *Acta Hort.* <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.555.30>
- FAO (2018) The future of food and agriculture—alternative pathways to 2050. 244
- FAOSTAT (2025) FAOSTAT statistical database—green garlic production, World, 2023 (estimated)
- Galmarini CR (2018) Economic and academic importance. In: Shigyo M, Khar A, Abdelrahman M (eds) *The allium genomes*. Springer International Publishing, Cham, pp 1–9
- García-Lampasona ML, Burba JL (2003) Genetic diversity among selected Argentinean garlic clones (*Allium sativum* L.) using AFLP (amplified fragment length polymorphism). *Euphytica* 132:115–119. <https://doi.org/10.1023/A:1024606004596>
- García-Lampasona S, Asprelli P, Burba JL (2012) Genetic analysis of a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection from Argentina. *Sci Hort* 138:183–189. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.014>
- Garmame Galgaye G (2022) Revealing determinants that affects garlic production in Ethiopia using PRISMA methodology. *Cogent Food Agric* 8:2132845. <https://doi.org/10.1080/23311932.2022.2132845>
- Genievskaya Yu, Jantasov S, Nurbayeva E, Ye T (2024) SSR-based assessment of genetic diversity in tomato cultivars and lines grown in Kazakhstan. *Eurasian J Appl Biotechnol*. <https://doi.org/10.11134/btp.2.2024.1>
- Glala AAA, Samaha GM, Suliman AA et al (2025) Analysis of genetic diversity and relationships among fifteen Egyptian Garlic genotypes using SCoT and SRAP markers. *Egypt J Bot* 65:159–170. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2024.281414.2794>
- Glogovac S, Gvozdanović-Varga J, Kiproviski B et al (2024) Diversity of European genetic resources of garlic (*Allium sativum* L.) from Serbian collection. *Euphytica* 220:37. <https://doi.org/10.1007/s10681-024-03292-8>
- Gomes-Viana JP, de Pires C, J, Pinheiro JB, et al (2016) Divergência genética em germoplasma de alho. *Cienc Rural* 46:203–209. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130988>
- Gomes-Viana JP, Pires CJ, Bajay MM et al (2021) Do the importations of crop products affect the genetic diversity from landraces? A study case in garlic (*Allium sativum* L.). *Genet Resour Crop Evol* 68:1199–1211. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-01060-w>
- Gowd TYM, Deo C, Manjunathagowda DC et al (2023) Deployment of intron length polymorphic (ILP) markers in dissipating diversity of *Allium* species. *S Afr J Bot* 160:157–165. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2023.06.053>
- Gowd TYM, Deo C, Manjunathagowda DC et al (2024) Deciphering genetic diversity phylogeny and assembly of *Allium* species through micro satellite markers on nuclear DNA. *Heliyon* 10:e31650. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31650>
- Grover A, Sharma PC (2016) Development and use of molecular markers: past and present. *Crit Rev Biotechnol* 36:290–302. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>
- Haile BT, Dougill AJ, Ramoelo A, Kidane TT (2025) Assessing farm-level sustainability: a comparative analysis of horticultural production systems in Eritrea. *Front Sustain Food Syst* 9:1532356. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2025.1532356>
- Havey MJ, Ahn Y-K (2016) Single nucleotide polymorphisms and indel markers from the transcriptome of garlic. *J Am Soc Hort Sci*. <https://doi.org/10.21273/JASHS.141.1.62>
- Huang X, Huang S, Han B, Li J (2022) The integrated genomics of crop domestication and breeding. *Cell* 185:2828–2839. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2022.04.036>
- Hyten DL, Choi I, Song Q et al (2010) A high density integrated genetic linkage map of soybean and the development of a 1536 universal soy linkage panel for quantitative trait locus mapping. *Crop Sci* 50:960–968. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.06.0360>
- Ipek M, Ipek A, Simon PW (2003) Comparison of AFLPs, RAPD markers, and isozymes for diversity assessment of garlic and detection of putative duplicates in germplasm collections. *Jashs* 128:246–252. <https://doi.org/10.21273/JASHS.128.2.0246>
- Ipek M, Ipek A, Almquist SG, Simon PW (2005) Demonstration of linkage and development of the first low-density genetic map of garlic, based on AFLP markers. *Theor Appl Genet* 110:228–236. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1815-5>
- Ipek M, Ipek A, Simon PW (2006) Sequence homology of polymorphic AFLP markers in garlic (*Allium sativum* L.). *Genome* 49:1246–1255. <https://doi.org/10.1139/G06-092>
- Ipek M, Ipek A, Simon PW (2008) Rapid characterization of garlic clones with locus-specific DNA markers. *Turk J Agric for* 32:357–362. <https://doi.org/10.3906/tar-0801-31>
- Ipek M, Ipek A, Cansev A et al (2012) Development of est based ssr markers for garlic genome. *Acta Hort.* <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.969.7>
- Ipek M, Sahin N, Ipek A et al (2015) Development and validation of new SSR markers from expressed regions in the garlic genome. *Sci Agric* 72:41–46. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0138>
- Jabbes N, Geoffriau EE, Clerc VL et al (2011) Inter simple sequence repeat fingerprints for assess genetic diversity of tunisian garlic populations. *J Agric Sci* 3:77
- Jia H, Zhao Q, Song J et al (2023) Large-scale population structure and genetic architecture of agronomic traits of garlic. *Hortic Res* 10:uhad034. <https://doi.org/10.1093/hr/uhad034>
- Jo MH, Ham IK, Moe KT et al (2012) Classification of genetic variation in garlic (*Allium sativum* L.) Using SSR markers. *Aust J Crop Sci* 6:625–631
- Kamenetsky R, Faigenboim A, Shemesh Mayer E et al (2015) Integrated transcriptome catalogue and organ-specific profiling of gene expression in fertile garlic (*Allium sativum* L.). *BMC Genomics*. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1212-2>
- Karakan FY (2022) Relationship between volatile sulfur compounds, mineral content, morphological and molecular

- characterization of local garlic genotypes. Bangladesh J Bot 51:147–155. <https://doi.org/10.3329/bjb.v51i1.58831>
- Kesh H, Yadav S (2023) Recent advances in genetics and breeding of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). J Hortic Sci Biotechnol 98:141–158. <https://doi.org/10.1080/14620316.2022.2097961>
- Khan H, Krishnappa G, Kumar S et al (2024) Genome-wide association study identifies novel loci and candidate genes for rust resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). BMC Plant Biol 24:411. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05124-2>
- Khandagale K, Krishna R, Roylawar P et al (2020) Omics approaches in *Allium* research: progress and way ahead. PeerJ 8:e9824. <https://doi.org/10.7717/peerj.9824>
- Khar A (2012) Cross amplification of onion derived microsatellites and mining of garlic EST database for assessment of genetic diversity in garlic. Acta Hort 969:289–296. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2012.969.37>
- Khar A, Devi AA, Lawande KE (2008) Analysis of genetic diversity among Indian garlic (*Allium sativum* L.) cultivars and breeding lines using RAPD markers. Indian J Genet Plant Breed 68:52–57
- Kıraç H, Dalda Şekerci A, Coşkun ÖF, Gülşen O (2022) Morphological and molecular characterization of garlic (*Allium sativum* L.) genotypes sampled from Turkey. Genet Resour Crop Evol 69:1833–1841. <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01343-4>
- Kumar M, Rakesh Sharma V, Kumar V et al (2019) Genetic diversity and population structure analysis of Indian garlic (*Allium sativum* L.) collection using SSR markers. Physiol Mol Biol Plants Int J Funct Plant Biol 25:377–386. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0628-y>
- Leišová-Svobodová L, Stavělková H, Zámečník J (2024) Evaluation of genetic diversity and phenotypic description of garlic (*Allium sativum* L.) from the Czech field collection. Sci Hortic 323:112506. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112506>
- Leyva JM, Ortega-Ramírez LA, Ayala-Zavala JF (2016) Garlic (*Allium sativum* L.) Oils. In: Preedy VR (ed) Essential oils in food preservation, flavor and safety. Academic Press, San Diego, pp 441–446
- Li X, Qiao L, Chen B et al (2021) SSR markers development and their application in genetic diversity evaluation of garlic (*Allium sativum*) germplasm. Plant Divers 44:481–491. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2021.08.001>
- Lima KSF, Castro ACM, Baptista JS (2020) Occupational safety in native forest management systems: systematic review. Cienc Florest 30:602–612. <https://doi.org/10.5902/1980509828942>
- Liu T, Zeng L, Zhu S et al (2015) Large-scale development of expressed sequence tag-derived simple sequence repeat markers by deep transcriptome sequencing in garlic (*Allium sativum* L.). Mol Breeding 35:1–9. <https://doi.org/10.1007/S11032-015-0399-X/FIGURES/3>
- Martín C, Nagel M, Ibáñez MA et al (2025) Genetic and epigenetic fidelity of garlic cryopreserved plant material compared to field collections. Sci Hortic 345:114132. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114132>
- Mehra R, Jasrotia RS, Mahajan A et al (2020) Transcriptome analysis of Snow Mountain Garlic for unraveling the organosulfur metabolic pathway. Genomics 112:99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.07.014>
- Mi S, Zhang X, Wang Y, Yan F, Sang Y, Gong H, Wang X (2021) Geographical discrimination and authentication of Chinese garlic based on multi-element, volatile and metabolomics profiling combined with chemometrics. Food Control 130:108328. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108328>
- Mohr AE, Ortega-Santos CP, Whisner CM et al (2024) Navigating challenges and opportunities in multi-omics integration for personalized healthcare. Biomedicine 12:1496. <https://doi.org/10.3390/biomedicine12071496>
- Morales RGF, Resende JTV, Resende FV et al (2013) Genetic divergence among Brazilian garlic cultivars based on morphological characters and AFLP markers. Genet Mol Res 12:270–281. <https://doi.org/10.4238/2013.February.4.1>
- Mota JH, De Souza JR, Yuri JE et al (2004) Genetic diversity of the cultivars of garlic (*Allium sativum* L.) for molecular marker RAPD. Ciênc Agrotec 28:764–770
- Mota JH, Yuri JE, Resende GM, Souza RJD (2006) Similaridade genética de cultivares de alho pela comparação de caracteres morfológicos, físico-químicos, produtivos e moleculares. Hortic Bras 24:156–160. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362006000200006>
- Nabulsi I, Al-Safadi B, Ali NM, Arabi MIE (2001) Evaluation of some garlic (*Allium sativum* L.) mutants resistant to white rot disease by RAPD analysis. Ann Appl Biol 138:197–202. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2001.tb00102.x>
- Nadeem MA, Nawaz MA, Shahid MQ et al (2018) DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. Biotechnol Biotechnol Equip 32:261–285. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401>
- Napitupulu D, Nurzannah SE, Siagian DR (2021) Sustainable shallot production achievement through analyzing the land suitability and introducing the proper agronomic cultivation practices in samosir regency. IOP Conf Ser Earth Environ Sci 807:022073. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/807/2/022073>
- Oliveira LO, Santos DD, Beise DC, Poletto T, Poletto I, Muniz MFB, Zeist JNO, Stefenon VM (2023) Old but still good: genetic diversity of ancient pecan genotypes from southern Brazil. An Acad Bras Cienc 95(Suppl. 1):e20220885. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202320220885>
- Ovesná J, Kuera L, Leiov L et al (2007) Genetic diversity among garlic clones as revealed by AFLP, phenotypic descriptors and 3-amino acids level. Veg Crop Res Bull 66:105–116. <https://doi.org/10.2478/v10032-007-0013-9>
- Ovesná J, Kučera L, Horníčková J et al (2011) Diversity of S-alk(en)yl cysteine sulphoxide content within a collection of garlic (*Allium sativum* L.) and its association with the morphological and genetic background assessed by AFLP. Sci Hortic 129:541–547. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.009>
- Ovesná J, Leišová-Svobodová L, Kučera L (2014) Microsatellite analysis indicates the specific genetic basis of Czech bolting garlic. Czech J Genet Plant Breed 50:226–234
- Papadopoulou A, Boutsika A, Reale F et al (2025) Phenotypic, biochemical, and molecular diversity within a

- local emblematic Greek *Allium sativum* L. variety. Horticulturae 11:304. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11030304>
- Papaioannou C, Fassou G, Petropoulos SA et al (2023) Evaluation of the genetic diversity of greek garlic (*Allium sativum* L.) accessions using dna markers and association with phenotypic and chemical variation. Agriculture 13:1408. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071408>
- Paredes M, Becerra VV, González AMI (2008) Low genetic diversity among garlic (*Allium sativum* L.) accessions detected using random amplified polymorphic DNA (RAPD). Chilean J Agric Res 68:3. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392008000100001>
- Parreño R, Rodríguez-Alcocer E, Martínez-Guardiola C et al (2023) Turning garlic into a modern crop: state of the art and perspectives. Plants. <https://doi.org/10.3390/plant12061212>
- Pasupula K, Verma P, Zimik M et al (2024) Morphological, biochemical and molecular characterization of short-day tropical Indian garlic (*Allium sativum* L.). Heliyon 10:e37553. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37553>
- Pérez-Escamilla R (2017) Food security and the 2015–2030 sustainable development goals: from human to planetary health. Curr Dev Nutr 1:e000513. <https://doi.org/10.3945/cdn.117.000513>
- Poljuha D, Franić M, Kralj I et al (2021) Genetic diversity and structure analysis of Croatian garlic collection assessed by SSR markers. Folia Hort 33:157–171. <https://doi.org/10.2478/fhort-2021-0011>
- Prasanna BM, Palacios-Rojas N, Hossain F et al (2020) Molecular breeding for nutritionally enriched maize: status and prospects. Front Genet 10:1392. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01392>
- Qu S, Hu S, Song G et al (2025) Genome-wide association study and molecular marker development for resistance to soybean cyst nematode in soybean. Plant Genome 18:e70083. <https://doi.org/10.1002/tpg2.70083>
- Ren L, Pan X, Deng Y, Ge Z, Li S, Su D, Zhao G, Tang H, Wang X (2024) Combined transcriptomic and metabolomic analyses reveal the mechanisms by which the interaction between sulfur and nitrogen affects garlic yield and quality. Horticulturae 10:1203. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10111203>
- Resende FV, Resende Nassur RCM, Huber LL (2017) Cultivares recomendados. In: Nick C, Borém A (eds) Alho: do plantio à colheita. Editora UFV, Viçosa, MG, pp 67–90
- Saptana S, Perwita AD, Sukmaya SG (2021) Analysis of garlic commodity competitiveness and impact of government policy in Indonesia. E3S Web Conf 316:02016. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202131602016>
- Shaaf S, Sharma R, Kilian B et al (2014) Genetic structure and eco-geographical adaptation of garlic landraces (*Allium sativum* L.) in Iran. Genet Resour Crop Evol 61:1565–1580. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0131-4>
- Sharma RV, Malik S, Kumar M et al (2018) Assessment of genetic diversity in garlic (*Allium sativum* L.) genotypes based on ISSR markers. J Pharmacogn Phytochemi 7:88–95
- Sharma L, Kumar R, Tare K, Lamichaney S (2025a) Assessment of genetic diversity and population structure analysis in Himalayan garlic genotypes from Sikkim using SSR markers. Mol Biol Rep 52:38. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-10142-2>
- Sharma R, Wang M, Chen X et al (2025b) Genome-wide association mapping for the identification of stripe rust resistance loci in US hard winter wheat. Theor Appl Genet 138:67. <https://doi.org/10.1007/s00122-025-04858-3>
- Shemesh-Mayer E, Faigenboim A, Sherman A et al (2023) Deprivation of sexual reproduction during garlic domestication and crop evolution. Int J Mol Sci 24:16777. <https://doi.org/10.3390/ijms242316777>
- Singh SR, Mir J, Ahmed N et al (2011) RAPD profile based grouping of garlic *Allium sativum* germplasm with respect to photoperiodism. J Trop Agric 49:114–117
- Singh N, Gusain A, Nigam M, Mishra AP (2025) The pharmacological and therapeutic versatility of *Allium* species: a comprehensive exploration of bioactive constituents and biological activities. Discov Appl Sci 7:349. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-06800-0>
- Sun X, Zhu S, Li N et al (2020) A chromosome-level genome assembly of garlic (*Allium sativum*) provides insights into genome evolution and allicin biosynthesis. Mol Plant 13:1328–1339. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.07.019>
- Tran DT, Steketee CJ, Boehm JD et al (2019) Genome-wide association analysis pinpoints additional major genomic regions conferring resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe). Front Plant Sci 10:401. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00401>
- United Nations (2015) UN Sustainable Development Goals: 17 goals to transform our world. In: United Nations Sustainable Development Goals. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/sustainable-development-goals/>. Accessed 22 Aug 2025
- de Vahl E, Svanberg I (2022) Traditional uses and practices of edible cultivated *Allium* species (fam. Amaryllidaceae) in Sweden. J Ethnobiol Ethnomed 18:14. <https://doi.org/10.1186/s13002-022-00513-z>
- Vieira RL, Nodari RO (2007) Diversidade genética de cultivares de alho avaliada por marcadores RAPD. Cienc Rural 37:51–57. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000100009>
- Volk GM, Henk AD, Richards CM (2004) Genetic diversity among U.S. garlic clones as detected using AFLP methods. J Am Soc Hortic Sci 129:559–569. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.4.0559>
- Wang H, Li X, Liu X et al (2016) Genetic diversity of garlic (*Allium sativum* L.) germplasm from China by fluorescent-based AFLP, SSR and InDel markers. Plant Breed 135:743–750. <https://doi.org/10.1111/pbr.12424>
- Wang Y, Han W, Wang T et al (2025) Elucidating the genetic basis of bulb-related traits in garlic (*Allium sativum*) through genome-wide association study. Int J Biol Macromol 284:137842. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137842>
- Wu J, Niu Z, Lu X, Tang X, Qiao X, Ma L, Liu C, Li N (2021) Transcriptome in combination proteome unveils the phenylpropane pathway involved in garlic (*Allium sativum*)

- greening. *Front Nutr* 8:764133. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.764133>
- Yang J, Sun M, Ren X et al (2024) Revealing the genetic diversity and population structure of garlic resource cultivars and screening of core cultivars based on specific length amplified fragment sequencing (SLAF-Seq). *Genes* 15:1135. <https://doi.org/10.3390/genes15091135>
- Zenbaba OS, Ketema M, Jaleta M, Jemal K (2025) Impact of wheat production technology packages adoption on smallholder farmers' food security and income in Horo Guduru Wollega Zone, Ethiopia. *J Innov Entrep* 14:48. <https://doi.org/10.1186/s13731-025-00495-8>
- Zhao W-G, Chung J-W, Lee G-A et al (2011) Molecular genetic diversity and population structure of a selected core set in garlic and its relatives using novel SSR markers. *Plant Breed* 130:46–54. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2010.01805.x>
- Zhu S, Chen X, Liu X et al (2019) Transcriptome-wide association study and eQTL analysis to assess the genetic basis of bulb-yield traits in garlic (*Allium sativum*). *BMC Genomics* 20:657. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6025-2>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

4 CAPÍTULO II – COLORIMETRIC, CHEMICAL, AND GENETIC CHARACTERIZATION OF PURPLE GARLIC FROM TWO PRODUCING REGIONS IN BRAZIL

Artigo submetido em 21 de maio de 2024, aceito em 17 de setembro de 2024 e publicado na revista *Pesquisa Agropecuária Brasileira* (v.59, e03778, 2024). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2024.v59.03778>.



ISSN 1678-3921

Journal homepage: www.embrapa.br/pab

For manuscript submission and journal contents, access: www.scielo.br/pab

Horticultural Science/ Original Article

Colorimetric, chemical, and genetic characterization of purple garlic in two producing regions in Brazil

Abstract – The objective of this work was to compare the purple garlic cultivated in the Planalto Catarinense region with the one in Midwestern/Southeastern region of Brazil, concerning colorimetric and chemical aspects, as well as genetic patterns. The color of the bulbils was determined through colorimetric analysis, the volatile compounds were characterized by solid phase micro-extraction and gas chromatography, and the genetic diversity was analyzed using microsatellite markers. Garlic bulbs grown in the Planalto Catarinense region have a more intense purplish color. The samples from the Midwestern/Southeastern region present a significantly lower concentration of volatile compounds. There is no consistent genetic difference between samples from the Planalto Catarinense and Midwestern/Southeastern regions. The purple garlic from each cultivation region has singularities, mainly due to the farmers' management method and edaphoclimatic factors. The uniqueness presented through the colorimetric and chemical analyses fulfills the basic requirements that are necessary for the Geographical Indication of these products.

Index terms: *Allium sativum*, geographical variation, genetic diversity, microsatellite markers.

Caracterização colorimétrica, química e genética de alho-roxo em duas regiões produtoras do Brasil

Resumo – O objetivo deste trabalho foi comparar o alho-roxo cultivado na região do Planalto Catarinense com o cultivado na região Centro-Oeste/Sudeste do Brasil, com relação aos aspectos colorimétricos e químicos, assim como aos padrões genéticos. A coloração dos bulbilhos foi determinada por análise colorimétrica, a caracterização dos compostos voláteis foi conduzida por microextração em fase sólida e cromatografia gasosa, e a diversidade genética foi analisada com marcadores microssatélite. Os bulbos de alho cultivados no Planalto Catarinense têm uma coloração mais intensa. As amostras da região Centro-Oeste/Sudeste apresentam uma concentração significativamente menor de compostos voláteis. Não há diferença genética consistente entre as amostras do Planalto Catarinense e das regiões Centro-Oeste/Sudeste. O alho-roxo de cada região de cultivo tem singularidades, principalmente em razão do método de manejo do produtor e de fatores edafoclimáticos. A singularidade apresentada nas análises colorimétricas e químicas atende aos requisitos básicos necessários para a Indicação Geográfica destes produtos.

Termos para indexação: *Allium sativum*, variação geográfica, diversidade genética, marcadores microssatélite.

Dalvan Carlos Beise⁽¹⁾,
Ana Kelly de Sousa Silva⁽¹⁾,
Suelen Martinez Guterres⁽¹⁾,
Caroline Bedin Zanatta⁽¹⁾,
Ketlin Schneider⁽²⁾,
Amanda Venturi Corrêa de Almeida⁽²⁾,
Volni Mazzuco⁽²⁾,
Cristian Soldi⁽²⁾,
Leocir José Welter⁽²⁾ and
Valdir Marcos Stefenon⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidade Federal de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agrárias, Departamento
de Fitotecnia, Rodovia Admar Gonzaga,
nº 1.346, Itacorubi, CEP 88034-000
Florianópolis, SC, Brazil.
E-mail: dalvanbio@gmail.com,
ana.akss.19@gmail.com,
suelenguterres1996@gmail.com,
carolinebedinzanatta@gmail.com,
valdir.stefenon@ufsc.br

⁽²⁾ Universidade Federal de Santa Catarina,
Departamento Ciências Naturais e
Sociais, Rodovia Ulysses Gaboardi, Km 3,
CEP 89520-000 Curitiba, SC, Brazil.
E-mail: ketlin.schneider@ufsc.br,
venturiamanda@hotmail.com,
volnimazzuco@gmail.com,
cristian.soldi@ufsc.br,
leocir.welter@ufsc.br

✉ Corresponding author

Received
May 21, 2024

Accepted
September 17, 2024

How to cite

BEISE, D.C.; SOUSA SILVA, A.K. de;
GUTERRES, S.M.; ZANATTA, C.B.;
SCHNEIDER, K.; ALMEIDA, A.V.C. de;
MAZZUCO, V.; SOLDI, C.; WELTER, L.J.;
STEFENON, V.M. Colorimetric, chemical,
and genetic characterization of purple garlic
in two producing regions in Brazil. *Pesquisa
Agropecuária Brasileira*, v.59, e03778, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2024.v59.03778>.



This is an open-access article distributed under the
Creative Commons Attribution 4.0 International License

Pesq. agropec. bras., Brasília, v.59, e03778, 2024
DOI: [10.1590/S1678-3921.pab2024.v59.03778](https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2024.v59.03778)

Introduction

Garlic (*Allium sativum* L.), which is native to Asia, has conquered tastes worldwide due to its distinctive fragrance and flavor, becoming a significant presence in global cuisine. Garlic bulbs play a crucial role as an agricultural crop, having China as the main producing country, leading the cultivation on a global scale (Sui et al., 2022).

Garlic is a functional food because it contains several phytochemical elements with significant biological activities, including sulfur compounds, pectin, fructans, carbohydrates, essential amino acids, and proteins (Kovarovič et al., 2019; Ezeorba et al., 2022). The key sulfur-containing amino acid in garlic is alliin, specifically S-allyl-L-cysteine sulfoxide, representing 1.29% of fresh garlic content (Kovarovič et al., 2019). The amount of this compound, which is responsible for the main sensorial characteristics, is influenced by environmental factors, such as climate and soil (Kovarovič et al., 2019). Alliin is susceptible to degradation, especially at high temperatures, due to unstable sulfoxide bonds (Chen et al., 2017; Kovarovič et al., 2019).

In general, the characteristics of an agricultural product are the result of a set of factors, such as soil and climate conditions, management, selection, and genetic patterns. These factors give certain products unique characteristics compared with their equivalents from different locations or under diverse conditions. Such singularities have been the ground for Geographic Identity certifications. In turn, terroir is an important alternative for sustainable territorial development due to the uniqueness and consequent valorization of the agricultural products.

The Planalto Catarinense region, located in the state of Santa Catarina, is a reference in the production of purple garlic in the South of Brazil, being produced mainly by family farming on small properties (Landau et al., 2020). The region naturally meets the needs concerning the eco-physiological conditions for purple garlic cultivation: more than 13 hours of light per day and low temperatures that favor bulb formation (Resende et al., 2024). Additionally, the product has been improved through the selection and propagation of plants that preserve characteristics such as color and size (Gugel, 2024).

Despite the edaphoclimatic needs for garlic cultivation, vernalization technologies allowed the

establishment of garlic farms in regions with adverse conditions (Lopes et al., 2016), such as the Midwestern and Southeastern regions of Brazil. In spite of being dependent on pre-planting vernalization and requiring artificial control of several factors, such as temperature, light time, and humidity to obtain an adequate result (Resende et al., 2020), the garlic production in these areas has been growing significantly. For instance, in 2022, the state of Goiás, in the Midwestern region, produced 58,459 t of garlic in an area of 3,440 ha, while Planalto Catarinense and other small regions in the state of Santa Catarina produced 14,365 t in an area of 1,580 ha (IBGE, 2024).

The objective of this work was to compare the purple garlic cultivated in the Planalto Catarinense region with the one in the Midwestern/Southeastern region of Brazil, concerning colorimetric, chemical, and genetic patterns.

Materials and Methods

The climate of the Planalto Catarinense region, according to the Köppen-Geiger classification, is type Cfb, temperate, without dry season, and cool summer, with an average precipitation of 1,669.7 mm annually, and an average temperature of 16.5°C (Climate Data, 2024).

The municipalities of the Midwestern and Southeastern regions preset different climates. The climate in Cristalina, Campo Alegre de Goiás, and Brasília is classified as AW, tropical savannah climate, with a drier season in winter, with an annual rainfall of 1,454.7 mm and an average temperature of 22°C (Climate Data, 2024). São Gotardo climate is of Cwa type, humid subtropical climate, with a hot summer, with an annual rainfall of 1,570 mm and an average temperature of 20.5°C, while the climate of Campos Altos is classified as Cwb, altitude subtropical climate, with a cool summer, presenting an annual precipitation of 1,552 mm and average temperature of 20.3°C (Climate Data, 2024).

Considering that the seed bulbs used in both regions have the same origin, the hypothesis was that due to edaphoclimatic conditions of the cultivation areas, there are reliable differences in the color and chemical composition of purple garlic produced in each region, without significative genetic discrepancies.

The sampling in the Planalto Catarinense region (Figure 1) was carried out in the second half of

November 2021. Plants were selected randomly, in the field or in the shed of each farmer, totaling 17 collection points: IG21A01 to IG21A17 (Table 1). Garlic samples from the Midwestern and Southeastern

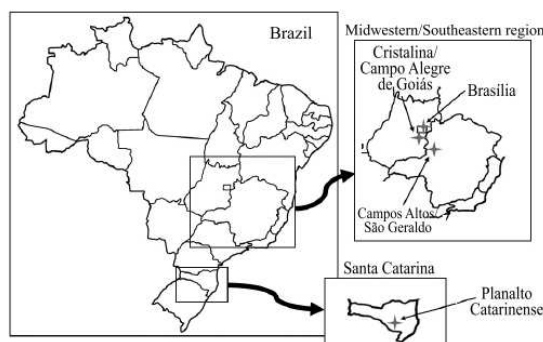


Figure 1. Map of garlic collection points in the Planalto Catarinense and Midwestern/Southeastern regions, Brazil. Stars represent the approximate location of the municipalities where garlic samples were cultivated.

regions (Figure 1) were collected in the same period, directly from farmers or in markets in the municipality of Florianópolis, state of Santa Catarina, totaling six samples: IG21B01 to IG21B06 (Table 1).

To conduct colorimetric analysis, the leaves and roots of each sample were removed, and the tunic was detached carefully to preserve the bulbils. The color of the bulbils was determined using a CR400 colorimeter (Konica Minolta Sensing Americas, Inc., Ramsey, NJ, USA) in the form of lightness (L^*), bluish-green/red-purple hue (a^*), and yellow/blue hue (b^*) color spaces. Five random bulbils from each sample were evaluated, with readings in the central part of the three sides of each bulb. The hue angle was calculated as $h^\circ = (\arctangent(b^*/a^*) / 2\pi) \times 360$ and the chroma angle as $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (McGuire, 1992). The difference between regions concerning the hue angle estimations was determined using the Mann-Whitney's test, at 5% significance, computed using the R package version 4.3.2 (R Core Team, 2019).

The volatile components of the garlic samples were extracted by solid-phase microextraction, being

Table 1. Luminosity (L^*) measures for garlic samples from the Planalto Catarinense and Midwestern/Southeastern regions by municipality. Values are the median over repetitions.

Region	Sample	Cultivar	Municipality	L^*
Planalto Catarinense	IG21A01	Chonan	Lebon Régis, SC	47.70
	IG21A02	Chonan	Caçador, SC	53.77
	IG21A03	Chonan	Curitibanos, SC	45.81
	IG21A04	Chonan	Frei Rogério, SC	46.30
	IG21A05	Chonan	Fraiburgo, SC	53.15
	IG21A06	Chonan	Caçador, SC	49.59
	IG21A07	Chonan	Lebon Régis, SC	49.23
	IG21A08	Chonan LV GR5	Frei Rogério, SC	47.10
	IG21A09	Chonan	Fraiburgo, SC	48.03
	IG21A10	Ito	Caçador, SC	50.23
	IG21A11	Ito	Frei Rogério, SC	45.45
	IG21A12	Ito	Frei Rogério, SC	51.43
	IG21A13 ⁽¹⁾	Ito	Fraiburgo, SC	51.59
	IG21A14	Ito	Fraiburgo, SC	48.17
	IG21A15	Jonas	Curitibanos, SC	43.45
	IG21A16	Contestado	Frei Rogério, SC	44.87
	IG21A17	Caçador 40	Campo Belo do Sul, SC	47.70
Midwestern/Southeastern	IG21B01	Quitéria	Cristalina, GO	61.61
	IG21B02	Ito	Brasília, DF	59.19
	IG21B03	São Valentim	Campo Alegre de Goiás, GO	59.84
	IG21B04	Ito	Campo Alegre de Goiás, GO	57.25
	IG21B05	Undefined	Campos Altos, MG	59.71
	IG21B06	Undefined	São Gotardo, MG	53.96

⁽¹⁾Sample with evidence of bacterial disease. SC, Santa Catarina state; GO, Goiás state; and MG, Minas Gerais state.

separated and identified using gas chromatography coupled with mass spectrometry (Ropelewska et al., 2022). Each sample was analyzed twice. For the volatile compound extraction, 100 μm PDMS fiber and 40 mL bottles with lids containing a silicone septum were used. All samples were processed and frozen in vials before analysis. Bottles were prepared with 1.0 ± 0.002 g of ground garlic, in triplicate. For extraction, the vials with the samples were added to a magnetic stirrer with 15 mL of saturated aqueous NaCl solution and 50 μL of 4 methyl-2-pentanol solution at 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ in ethanol as internal standard. The vials were transferred to a water bath at 45°C for 5 min and the fiber was exposed in the headspace for 30 min at 45°C to adsorb the volatile components.

The fiber was transferred to the injector of a gas chromatograph coupled to a 7890A mass spectrometer (Agilent, Santa Clara, CA, USA), operating at 250°C. Chromatographic separation was performed on an Agilent HP-5ms column (5% phenyl-polydimethylsiloxane; 30 cm x 250 μm x 0.25 μm), using a temperature ramp from 40 (5 min) to 90°C at a rate of 5°C min^{-1} , followed by a temperature rise to 250°C at a rate of 12°C min^{-1} and a waiting time of 2 min (Biancolillo et al., 2022). The interface temperature between the gas chromatograph and mass spectrometer was set to 300°C. Helium gas was used as carrier gas at a flow rate of 1 mL min^{-1} and the mass detector was operated by 70 eV electron impact in a range of 35–450 mHz.

Relative percentages of the compounds were obtained from the average of six analyses using the G1701EA GC/MSD Chemstation software. The substances present in the oil were characterized by comparing the mass spectrum and experimental Kovats index (KI) for each component with the respective mass spectra and Kovats index of standards (Adams, 2007). The experimental KI values were obtained from the injection of a sample of C7-C30 saturated hydrocarbons (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) under the same conditions.

For molecular genetic analyses, total DNA was isolated from approximately 100 mg of bulbil tissue from each sample, using the CTAB protocol (Doyle & Doyle, 1990). The quantity and quality of the isolated DNA was verified using a NanoDrop 1000 version 3.8 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and horizontal electrophoresis in

0.8% agarose gel, stained with Gelred, and visualized using a UV light transilluminator.

Thirteen SSR markers, developed for *Allium sativum* were employed: ASA08, ASA10, ASA16, ASA17, ASA24, ASA25, ASA31 (Cunha et al., 2012), GB-ASM40, GB-ASM53, GB-ASM59, GB-ASM72, GB-ASM78, and GB-ASM80 (Ma et al., 2009). The markers were selected based on their reported polymorphism and ability to distinguish the studied garlic varieties.

The microsatellite markers were amplified via PCR reaction in a Veriti thermal cycler (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), using the M-13 tail methodology with fluorescent labeling (Schuelke, 2000). The PCR mix contained 50 ng DNA, 2.5 mM MgCl_2 , 0.2 μM Primer Forward, 0.8 μM Primer Reverse, 0.8 μM FAM Fluorescently Labeled Primer M-13 (5'-FAM-TGTAAAACGACGGCCAGT-3'), 0.2 mg mL^{-1} BSA, 0.2 μM of each dNTP, 1X PCR buffer, and 1U Taq DNA polymerase, in a volume of 15 μL .

The amplification cycle consisted of 3 min at 94°C, followed by 30 cycles of 40 seconds at 94°C, 45 s at the annealing temperature of each primer pair, 45 s at 72°C, and eight cycles of 30 s at 94°C, 45 s at 53°C, and 45 s at 72°C, ending with an extension step of 10 min at 72°C. In this methodology, all forward primers have the M-13 sequence (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3') at its 5' portion.

After amplification, the SSR alleles were resolved by capillary electrophoresis in an ABI 3500xL Genetic Analyzer. The identification of the alleles was carried out using the GeneMapper software for automatic genotyping. A manual check on the recorded peaks was performed to correct any genotyping error.

Data analysis was performed using the programs GenAlEx v. 6.5 (Peakall & Smouse, 2012) and Fstat 2.9.4 (Goudet, 2003). The data were structured into two groups, one containing the samples from the Planalto Catarinense region (PC group) and the other containing the samples from the Midwestern and Southeastern regions (MW/S group). Initially, a probability of identity (PI) analysis was performed to evaluate the informative capacity of the SSR markers employed. This analysis calculates the likelihood of two randomly chosen samples having the same genotype for the used markers, considering the subsequent addition of new loci to the analysis.

The total number of alleles (A), the effective number of alleles (A_e), the allelic richness (A_R), the Shannon entropy index (I), the unbiased expected heterozygosity (H_e), the observed heterozygosity (H_o), and the fixation index (F) were estimated for each locus individually and for all loci. The partition of differentiation between groups was estimated based on Shannon's entropy index. A principal coordinate analysis (PCoA) based on the genetic distance between pairs of samples was performed to graphically represent their relationship.

A Bayesian model-based clustering analysis (Pritchard et al., 2000) was implemented using the non-admixture and the frequency-independent alleles models with 100,000 Markov Chain Monte Carlo steps and 50,000 burn-in periods using the software STRUCTURE version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). The number of K was set from 1 to 10 and ten replicates were run for each K . The optimum number of clusters K was selected using the approach suggested by Evanno et al. (2005), as implemented in the Python module of the Structure Harvester software (Earl et al., 2012).

Results and Discussion

For the luminosity (L^*) data (Table 1), there was a trend indicating that the samples from the PC group (Figure 2 A) have more intense coloration of the bulbs, compared to the samples of the MW/S group (Figure 2 B). An even more evident trend was observed at the correlation between the chroma values (C^*) and hue values (h°) (Figure 2 C): all samples have similar C^* , representing the purity or intensity of a color in the red-purple color region, according to the chromaticity diagram with h° (Table 2), varying between 12.84° (IG21A16) and 57.60° (IG21B05). However, the samples from the PC group presented lower values ($W = 120$; p -value = 0.00098) for h° (Table 2 and blue area of Figure 2 C) compared to samples from the MW/S group (Table 2 and red area of Figure 2 C), indicating that the color of the garlic produced in the Planalto Catarinense region is closer to purple than the garlic from Midwestern and Southeastern regions.

The differentiation between the samples is mainly due to the values corresponding to the hue angle (Table 2). While the C^* values (grayish area of Figure 2 C) overlap for the samples from the PC and the MW/S groups, there is no overlap between the

samples for the h° values (blue area between 10 and 35 for the samples of PC group and red area between 39 and 60 for the samples of MW/S group in Figure 2 C).

All samples, from both PC and MW/S groups, showed the same chemical composition concerning the volatile components from the allicin degradation: allyl methyl disulfide, diallyl methyl disulfide, allyl methyl trisulfide, diallyl trisulfide, and diallyl tetrasulfide (Figure 2 D). However, significant differences (t -test = 2.48273, $p = 0.021$) were observed regarding the total area of these five volatile components from each sample in each region. The summation of the individual area of each peak was 25.447 (SD = 5.27) for the PC group and 19.72 (SD = 3.09) for the MW/S group, revealing the production of volatile compounds 1.29-fold higher in the garlic cultivated in the Planalto Catarinense region.

Components derived from allyl thiosulfates are rapidly formed when the bulbils undergo cell rupture or when the dry or pulverized material is moistened (Lawson & Hunsaker, 2018). These allyl thiosulfates, or their degradation products (allyl polysulfides) and other common metabolites, such as allyl methylsulfide, have been considered responsible for most of the pharmacological activities found in garlic. Allicin is the main component among allyl thiosulfate derivatives and can consist of up to 91% of the mixture components (Lawson & Hunsaker, 2018). However, allicin and other allyl thiosulfates are unstable and are spontaneously degraded to turn into allyl polysulfide derivatives.

The probability of identity (PI) assessment (Figure 3 A) demonstrated that the chance of two randomly selected samples within each group having the same genotype for the 13 loci only by chance is $PI_{PC} = 0.000023$ for the samples from the PC group and $PI_{MW/S} = 0.000021$ for the samples of the MW/S group. This result confirms the high informative capacity of the markers.

The estimated genetic diversity indexes demonstrate that samples from the two regions have remarkably similar characteristics. The multilocus mean estimates for the PC and the MW/S groups presented almost identical results for all measured indexes (Table 3). The effective number of alleles ($A_e = 1.18$) is approximately 50% of the total number of alleles ($A = 2.15$ and $A = 2.08$), indicating that some alleles have relatively low frequency. Such a pattern deserves

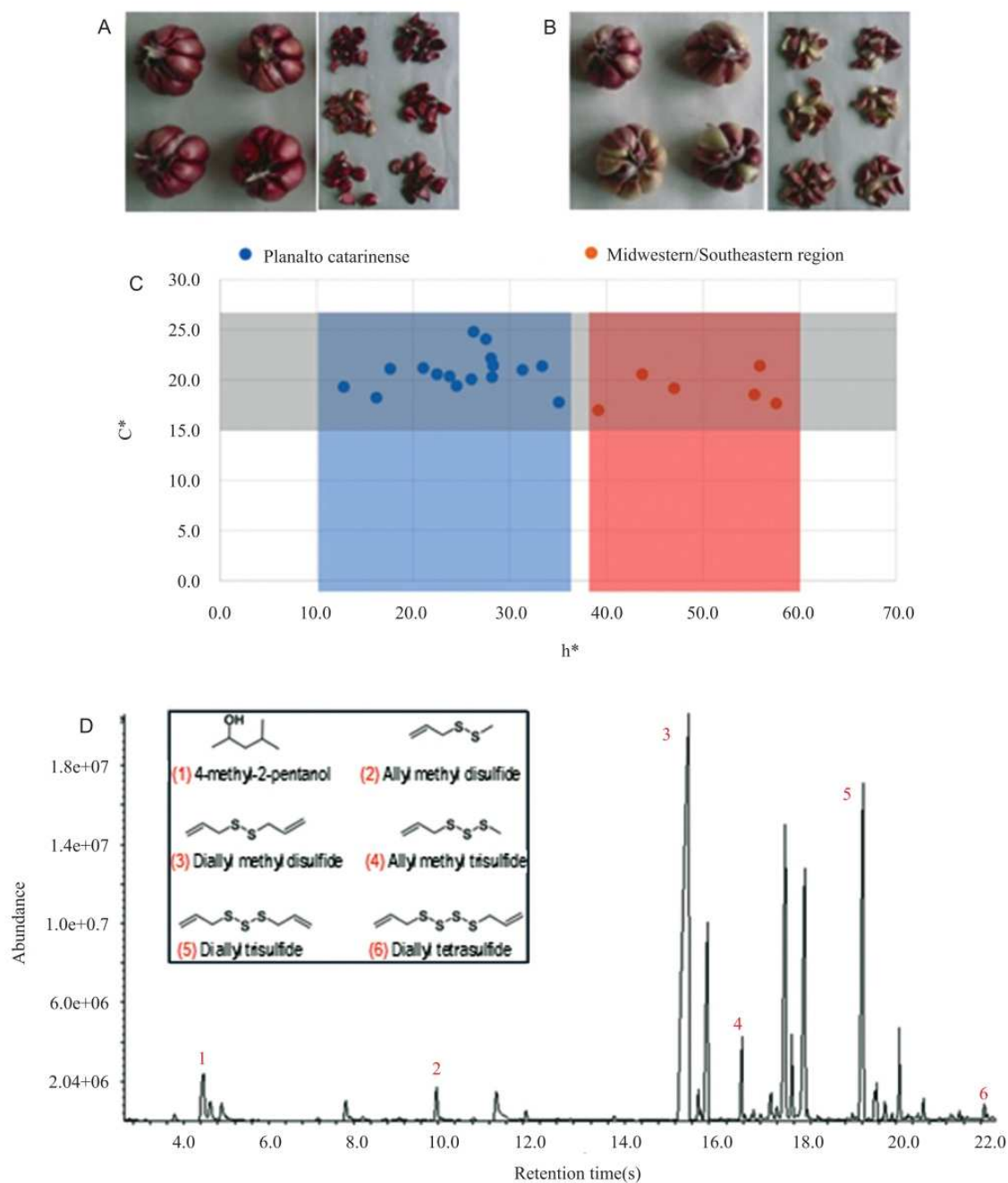


Figure 2. Colorimetric analysis and chemical pattern of volatile compounds of garlic. Bulbs and bulbils of 'Ito' (IG21A11) grown in the Planalto Catarinense region (A). Bulbs and bulbils of 'Ito' (IG21B02) grown in the Midwestern region (B). Graphic of chroma (C^*) versus hue angle (h°) for garlic from the Planalto Catarinense (blue dots) and Midwestern/Southeastern (red dots) regions (C). Gas chromatogram of a garlic sample: peak 1 (4-methyl-2-pentanol) is the internal standard of the analysis, while peaks 2 to 6 are the volatile products of the allicin degradation (D). Photos by Volni Mazzuco.

attention since it may result in the loss of low-frequency alleles in further generations. On the other hand, the higher estimations of observed heterozygosity compared with the expected heterozygosity may be caused by the selection of bulbs to establish new garlic fields. This feature also suggests the presence of high genetic diversity, despite the predominantly clonal propagation of the species.

The estimated differentiation between the PC and MW/S groups was 1% using the Shannon entropy index (Figure 3 B). This result suggests no significant genetic differentiation between the samples cultivated in the Planalto Catarinense and the Midwestern/Southeastern regions. Thus, the genetic differentiation

in the samples is predominantly among individuals/varieties (Figure 3 B).

The principal coordinate analysis (PCoA) based on the genetic distance between pairs of samples calculated from the genotypic data of the 13 SSR markers (Figure 3 C) reflects the data estimated in the other analyses, demonstrating high genetic identity between the samples from different regions, without grouping them according to their geographic origin. The analysis represented 59.98% of the total variation of the data set in its first two axes.

The same conclusion concerning high similarity between samples of both regions could be observed using the model-based Bayesian analysis. None of

Table 2. Measurements of the color space components a^* and b^* , hue angle (h°), and chroma (C^*) for garlic samples from the Planalto Catarinense and Midwestern/Southeastern regions. Values are the median over repetitions.

Region	Sample	a^*	b^*	h°	C^*
Planalto Catarinense	IG21A01	18.27	6.75	20.28	19.48
	IG21A02	15.94	10.43	33.20	18.88
	IG21A03	17.75	6.94	20.64	18.74
	IG21A04	18.74	6.74	19.62	19.92
	IG21A05	15.21	9.16	31.03	17.75
	IG21A06	17.01	7.45	22.99	18.40
	IG21A07	15.98	7.86	26.19	17.81
	IG21A08	17.52	6.72	20.36	18.76
	IG21A09	19.19	9.07	25.31	21.09
	IG21A10	19.45	11.85	31.01	23.04
	IG21A11	21.28	10.89	27.10	23.95
	IG21A12	14.15	7.79	28.83	16.31
	IG21A13 ⁽¹⁾	16.07	11.46	36.09	19.97
	IG21A14	19.93	10.72	28.02	22.42
	IG21A15	18.70	5.42	16.16	19.47
	IG21A16	19.82	9.11	24.69	21.81
	IG21A17	18.27	6.75	20.28	19.48
Midwestern/Southeastern	IG21B01	11.72	13.68	49.43	18.02
	IG21B02	15.17	15.18	45.02	21.46
	IG21B03	14.68	14.17	43.91	20.37
	IG21B04	13.48	14.77	47.62	20.24
	IG21B05	10.31	16.59	58.14	19.46
	IG21B06	11.18	14.91	53.19	18.66

⁽¹⁾Sample with evidence of bacterial disease. The corresponding cultivar and municipality of cultivation are the same as reported in Table 1.

the determined clusters (K) revealed differentiation between the regions. All samples have the same membership in all clusters despite the number of K (Figure 3 D).

In general, molecular genetic analyses using microsatellite markers did not reveal significant differences among samples from Planalto Catarinense and Midwestern/Southeastern regions; however, it is crucial to highlight that the number of samples was restricted. Therefore, the low genetic divergence may be associated with the fact that the garlic seed used in the Midwestern/Southeastern region often comes from the Planalto Catarinense region, this is, they present the same genetic background.

Other studies aimed at the genetic characterization of garlic, for instance, some reported the formation of groups related to photoperiod requirements and growth cycles (Buso et al., 2008; Cunha et al., 2014), as well as the time of maturity and flowering (Mota et al., 2004; Volk et al., 2004; Panthee et al., 2006), but there are no known works on the geographical origin area of the samples.

Morphological and genetic singularities have been described and used in the Denomination of Origin model to valorize and protect some agricultural products through Geographical Indication (Brasil, 2023). In Santa Catarina state, such genetic characterization was performed, for instance, for the characterization of evolutive molecular traits of

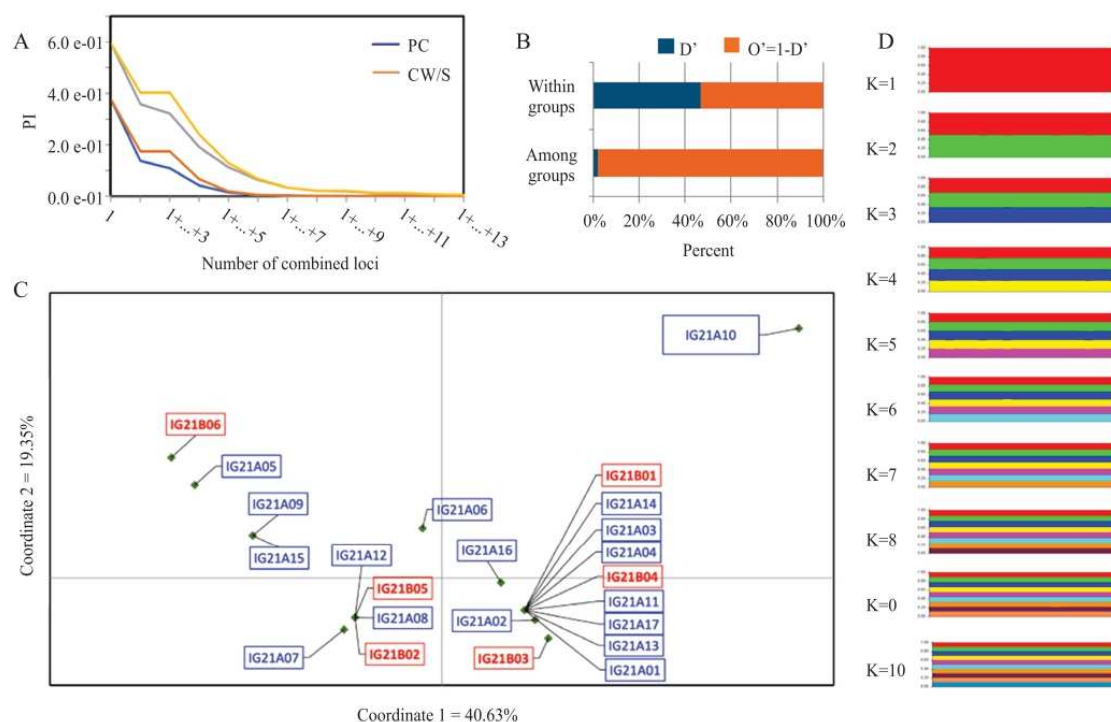


Figure 3. Genetic analyses of garlic samples from Planalto Catarinense (PC) and Midwestern/Southeastern (MW/S) groups. Probability of identity of the SSR markers used in the genetic evaluation (A). Partition of diversity within and between PC and MW/S groups, based on the Shannon entropy index, where D' is the diversity component and de O' is the overlapping component (B). Principal coordinate analysis (PCoA) of garlic samples from PC (blue) and MC/S (red) groups based on genetic distance among samples (C). Model-based Bayesian clustering analysis for one to ten clusters K (represented by different colors) for the 23 samples (D). The membership of all samples is quite similar in all values of K.

Table 3. Mean estimates and standard error of the total number of alleles (A), effective number of alleles (Ae), allelic richness (A_R), Shannon's entropy index (I), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and fixation index (F) overall 13 loci, for the Planalto Catarinense (PC) and Midwestern/Southeastern (MW/S) regions and overall samples.

Allele and index	PC	CW/S	Overall
A	2.15 (0.15)	2.08 (0.24)	2.11 (0.14)
Ae	1.18 (0.12)	1.18 (0.15)	1.18 (0.09)
A_R	1.90 (0.32)	1.97 (0.49)	1.91 (0.35)
I	0.59 (0.08)	0.59 (0.10)	0.59 (0.06)
H_o	0.74 (0.12)	0.72 (0.12)	0.73 (0.08)
H_e	0.42 (0.06)	0.43 (0.07)	0.42 (0.05)
F	-0.65 (0.17)	-0.72 (0.06)	-0.72 (0.09)

the Pacific oyster cultivated in Santa Catarina Island (Stefenon & Clauman, 2024) and for the yeasts used in the fermentation of the artisanal cachaça and brandy produced in Luis Alves (Stefenon et al., 2021; INPI, 2024). Both studies demonstrated the genetic singularities of the products, aiming at the Geographical Indication.

Conclusions

1. Garlic bulbs grown in the Planalto Catarinense region have a more intense purplish color.
2. The samples from the Midwestern/Southeastern region present a significantly lower concentration of volatile compounds.
3. There is no consistent genetic difference between samples from the Planalto Catarinense and Midwestern/Southeastern regions.
4. The Purple garlic from each cultivation region has singularities, mainly due to the farmers' management method and the edaphoclimatic factors.
5. The uniqueness presented through the colorimetric and chemical analyses fulfills the basic requirements that are necessary for the Geographical Indication of these products.

Acknowledgments

To all farmers for providing the material used in this study; to Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), for the support in sample collection; to Fundação de Amparo à Pesquisa

e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), for financial support (Grant n. 2021TR000303); to Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE/SC), for business support.

References

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4th ed. Allured: Carol Stream, 2007.
- BIANCOLILLO, A.; ALOIA, R.; ROSSI, L.; D'ARCHIVIO, A.A. Organosulfur volatile profiles in Italian red garlic (*Allium Sativum* L.) varieties investigated by HS-SPME/GC-MS and chemometrics. **Food Control**, v.131, art.108477, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108477>.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **O que é Indicação Geográfica? Como obter o registro?** 2023. Available at: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/indicacao-geografica/o-que-e-indicacao-geografica-ig>>. Accessed on: Aug. 15 2024.
- BUSO, G.S.C.; PAIVA, M.R.; TORRES, A.C.; RESENDE, F.V.; FERREIRA, M.A.; BUSO, J.A.; DUSI, A.N. Genetic diversity studies of Brazilian garlic cultivars and quality control of garlic-clover production. **Genetics and Molecular Research**, v.7, p.534-541, 2008. DOI: <https://doi.org/10.4238/vol7-2gmr451>.
- CHEN, Z.; XU, M.J.; WANG, C.; ZHOU, H.; FAN, L.; HUANG, X. Thermolysis kinetics and thermal degradation compounds of alliin. **Food Chemistry**, v.223, p.25-30, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.011>.
- CLIMATE DATA. **Clima: Brasil**. 2024. Available at: <<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil-114/>>. Accessed on: Aug. 15 2024.
- CUNHA, C.P. da; RESENDE, F.V.; ZUCCHI, M.I.; PINHEIRO, J.B. SSR-based genetic diversity and structure of garlic accessions from Brazil. **Genetica**, v.142, p.419-431, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10709-014-9786-1>.
- CUNHA, C.P.; HOOGERHEIDE, E.S.S.; ZUCCHI, M.I.; MONTEIRO, M.; PINHEIRO, J.B. New microsatellite markers for garlic, *Allium sativum* (Alliaceae). **American Journal of Botany**, v.99, p.e17-e19, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3732/AJB.1100278>.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.
- EARL, D.A.; VONHOLDT, B.M. Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v.4, p.359-361, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, v.14, p.2611-2620, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>.
- EZEORBA, T.P.C.; CHUKWUDOZIE, K.I.; EZEMA, C.A.; ANADUAKA, E.G.; NWEZE, E.J.; OKEKE, E.S. Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent findings and future prospects. **Pharmacological Research**

- **Modern Chinese Medicine**, v.3, art.100075, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.PRMC.2022.100075>.
- GOUDET, J. **Fstat (ver. 2.9.4)**: a program to estimate and test population genetics parameters. 2003. Available at: <http://www.unil.ch/izea/software/fstat>. Accessed on: Aug. 15 2024.
- GUGEL, J.T. Alho. **Boletim Agropecuário**, n.131, p.26-28, 2024.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de alho**. 2024. Available at: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/alho/br>. Accessed on: Aug. 15 2024.
- INPI. Instituto Nacional de Propriedade Industrial. **Revista da Propriedade Industrial**: Indicações Geográficas, Seção IV, n.2796, 2024. p.46-114. Available at: <https://revistas.inpi.gov.br/rpi/>. Accessed on: Aug. 15 2024.
- KOVAROVIĆ, J.; BYSTRICKÁ, J.; VOLLMANNOVÁ, A.; TÓTH, T.; BRINDZA, J. Biologically valuable substances in garlic (*Allium sativum* L.) - a review. **Journal of Central European Agriculture**, v.20, p.292-304, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/20.1.2304>.
- LANDAU, E.C.; BARTOLOMEU, R.D. de S.; SILVA, G.A. da. Evolução da produção de alho (*Allium sativum*, Amaryllidaceae). In: LANDAU, E.C.; SILVA, G.A. da; MOURA, L.; HIRSCH, A.; GUIMARÃES, D.P. (Ed.). **Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: sistemas agrícolas, paisagem natural e análise integrada do espaço rural**. Brasília: Embrapa, 2020. v.2, p.297-322.
- LAWSON, L.D.; HUNSAKER, S.M. Allicin Bioavailability and Bioequivalence from Garlic Supplements and Garlic Foods. **Nutrients**, v.10, art.812, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu10070812>.
- LOPES, W.A.R.; NEGREIROS, M.Z.; RESENDE, F.V.; LUCENA, R.R.M.; SOARES, A.M.; SILVA, O.M.P.; MEDEIROS, J.F. Produção de alho submetido a períodos de vernalização e épocas de plantio em região de clima semiárido. **Horticultura Brasileira**, v.34, p.249-256, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-053620160000200016>.
- MA, K.-H.; KWAG, J.-G.; ZHAO, W.; DIXIT, A.; LEE, G.-A.; KIM, H.-H.; CHUNG, I.-M.; KIM, N.-S.; LEE, J.-S.; JI, J.-J.; KIM, T.-S.; PARK, Y.-J. Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci from the genome of garlic (*Allium sativum* L.). **Scientia Horticulturae**, v.122, p.355-361, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.06.010>.
- MCGUIRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v.27, p.1254-1255, 1992. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>.
- MOTA, J.H.; SOUZA, R.J. de; YURI, J.E.; RESENDE, G.M. de; PAIVA, L.V. Diversidade genética de cultivares de alho (*Allium sativum* L.) por meio de marcador molecular RAPD. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, p.764-770, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000400006>.
- PANTHEE, D.R.; KC, R.B.; REGMI, H.N.; SUBEDI, P.P.; BHATTARAI, S.; DHAKAL, J. Diversity analysis of garlic (*Allium sativum* L.) germplasms available in Nepal based on morphological characters. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.53, p.205-212, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-004-6690-z>.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research — an update. **Bioinformatics**, v.28, p.2537-2539, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTS460>.
- PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, p.945-959, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>.
- R CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2019. Available at: <https://www.R-project.org/>. Accessed on: Aug. 15 2024.
- RESENDE, F.V.; HABER, L.L.; PINHEIRO, J.B.; LOURENÇO JUNIOR, V.; LIMA, M.F.; MICHEREFF FILHO, M.; MALDONADE, I.R. **Sistema de produção de alho**. Available at: <https://www.embrapa.br/hortalicas/alho/clima>. Accessed on: Aug. 15 2024.
- RESENDE, F.V.; LIMA, L.; JADIR, H.; PINHEIRO, B. **A cultura do alho**. Brasília: Embrapa Hortalicas, 2020.
- ROPELEWSKA, E.; SLAVOVA, V.; SABANCI, K.; ASLAN, M.F.; MASHEVA, V.; PETKOVA, M. Differentiation of yeast-inoculated and uninoculated tomatoes using fluorescence spectroscopy combined with machine learning. **Agriculture**, v.12, art.1887, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture12111887>.
- SCHUELKE, M. An economic method for the fluorescent labelling of PCR fragments. **Nature Biotechnology**, v.18, p.233-234, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1038/72708>.
- STEFENON, V.M.; CLAUMAN, A.D. Genetic divergence accessed with microsatellite markers reflects the time of *Crassostrea gigas* genetic breeding in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765202420230474>.
- STEFENON, V.M.; HERMANN, B.R.; ZAPPELINI, J.; MACHADO, M.M. Caracterização genética das leveduras de fermentação como elemento de Indicação Geográfica da cachaça e aguardente artesanais de Luiz Alves, SC. **Agropecuária Catarinense**, v.34, p.27-29, 2021. DOI: <https://doi.org/10.52945/rac.v34i3.1104>.
- SUI, F.; YANG, Y.; ZHAO, S. What affects the production technology of labor-intensive agricultural industries in the context of labor aging? An empirical study based on the garlic production in Lanling. **Sustainability**, v.14, art.48, 2022. <https://doi.org/10.3390/su14010048>.
- VOLK, G.M.; HENK, A.D.; RICHARDS, C.M. Genetic diversity among U.S. garlic clones as detected using AFLP methods. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v.129, p.559-569, 2004. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.4.0559>.

5 CAPÍTULO III – PADRÕES DE DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE POPULAÇÕES CLONAIIS DO ALHO ROXO NOBRE CATARINENSE

INTRODUÇÃO

Entre as hortaliças de maior impacto histórico e econômico na agricultura mundial, o alho (*Allium sativum* L.) ocupa posição de destaque. Cultivado há milênios, seu valor transcende o consumo alimentar, estando associado a práticas medicinais e culturais desde as primeiras civilizações (de Vahl; Svanberg, 2022; Okoro *et al.*, 2023; Zohary; Hopf; Weiss, 2012). A espécie também é reconhecida pela presença de compostos bioativos, com efeitos antimicrobianos, antioxidantes e cardioprotetores (Barboza *et al.*, 2020; El-Saadony *et al.*, 2024; Ghali *et al.*, 2025).

Em 2023, a produção mundial ultrapassou 28 milhões de toneladas, das quais mais de 70% foram provenientes da China, consolidando a Ásia como principal centro produtor e reafirmando a importância estratégica da cultura no comércio agrícola internacional (FAOSTAT, 2025; Parreño *et al.*, 2023). Nesse cenário, o Brasil ocupa posição intermediária, com cerca de 185 mil toneladas colhidas em 2023, volume insuficiente para suprir a demanda interna (FAOSTAT, 2025; Giehl *et al.*, 2024). O déficit é suprido majoritariamente por importações da China e Argentina, o que pressiona a competitividade do produto nacional devido aos menores custos praticados por esses mercados (Giehl *et al.*, 2024; Resende *et al.*, 2020).

Entre os tipos cultivados no país, destaca-se o alho roxo nobre (*Allium sativum* var. *sativum*), caracterizado por bulbos arredondados, uniformes, com túnica branca e bulbilhos grandes, em número reduzido (8 a 12) de coloração púrpura intensa. Esses atributos conferem elevado valor comercial e ampla aceitação no mercado (MAPA, 2020; Mota *et al.*, 2006; Resende; Nassur; Haber, 2017). Apesar da concorrência externa, determinadas regiões brasileiras consolidaram nichos produtivos baseados nesse tipo diferenciado, sendo o Planalto Catarinense reconhecido como o berço do alho roxo nobre no país. Essa condição histórica e produtiva confere à região papel central na identidade e valorização deste material genético no Brasil.

Esse protagonismo teve início na década de 1970, quando a seleção clonal conduzida por Takashi Chonan resultou na criação da cultivar ‘Chonan’, considerada marco na história do alho roxo nobre brasileiro. Caracterizada por bulbos de maior calibre, coloração roxa intensa e número reduzido de bulbilhos, a cultivar apresentou desempenho superior e manteve-se

produtiva em anos posteriores, contribuindo para reduzir a dependência de importações e consolidar o Planalto Catarinense como referência produtiva nacional (Lucini, 2008).

No início da década de 1990, a área cultivada em Santa Catarina ultrapassava 4.700 hectares, com produção superior a 29 mil toneladas (Lucini, 2008). Nas últimas décadas, entretanto, a produção estadual sofreu forte retração: de 12 mil toneladas em 2017-2018 para pouco mais de 7 mil toneladas em 2023-2024, acompanhada por redução de 34% da área plantada (Gugel, 2024). Essa queda está associada a eventos climáticos extremos, à concorrência com alho importado de baixo custo e à pressão da produção mecanizada e adoção de alho-semente livre de vírus em outras regiões do país (Oliva *et al.*, 2017; Resende *et al.*, 2020).

As condições ambientais configuram hoje um dos principais entraves à estabilidade produtiva. Oscilações entre estiagens e chuvas intensas aumentam a necessidade de irrigação e comprometem a formação de bulbos, enquanto variações térmicas durante a diferenciação bulbífera favorecem distúrbios fisiológicos, como o superbrotamento, resultando em perdas de qualidade comercial (Lopes *et al.*, 2016; Resende *et al.*, 2013). A produtividade de *Allium* mostra-se altamente sensível à irregularidade hídrica e ao aumento das temperaturas médias, fatores que intensificam anomalias fisiológicas e reduzem a qualidade final (Jung *et al.*, 2024; Kale *et al.*, 2024). Esses impactos refletem tendências globais, em que secas prolongadas, inundações e ondas de calor elevam a instabilidade produtiva e favorecem a disseminação de pragas e doenças (Al Jbawi, 2020; FAO, 2020).

O estresse hídrico figura entre os principais limitantes de rendimento e qualidade. Desse modo, estratégias como irrigação ajustada, biofortificação mineral e seleção de cultivares tolerantes têm se mostrado alternativas interessantes (Taha; Abd-Elrahman; Hashem, 2019; Toscano *et al.*, 2019; Waqas *et al.*, 2019). Somam-se a isso as doenças fúngicas, frequentemente favorecidas por temperaturas elevadas e solos encharcados, que representam ameaça crescente para sistemas de cultivo convencionais, sobretudo familiares (Djanie; Harper; Cave, 2020). Essas limitações reforçam a necessidade de estratégias coletivas de fortalecimento regional, que articulem produtores e instituições em torno da valorização e da sustentabilidade do cultivo.

Entre essas iniciativas, sobressai o programa participativo de melhoramento genético do alho roxo nobre catarinense, iniciado em 2020 e conduzido em cooperação entre produtores, universidade e instituições de apoio à agricultura familiar e pequenas empresas. O projeto tem como um de seus principais objetivos a obtenção de uma Identificação Geográfica (IG), na modalidade denominação de Origem (DO), reconhecendo oficialmente o Planalto Catarinense

como o berço do alho roxo nobre brasileiro e agregando valor ao produto em mercados nacionais e internacionais.

Além da valorização territorial, a iniciativa busca avaliar a diversidade genética intra e intercultivares por meio da seleção clonal massal, com base em características como vigor, sanidade, coloração e calibre dos bulbilhos. Nesse processo, os genótipos foram classificados como superiores ('Plus') ou inferiores ('Minus'), e organizados em populações clonais (PC), fornecendo uma base genética estruturada para o programa de melhoramento.

Embora propagado predominantemente por via assexuada, o alho mantém diversidade significativa decorrente do acúmulo de mutações somáticas e da complexidade do seu genoma, marcado por duplicações gênicas e elementos transponíveis (Egea *et al.*, 2017; Peña-Iglesias, 1988; Volk; Henk; Richards, 2004). Essa condição sustenta ampla variação morfológica, fisiológica e agrônômica (Ipek; Ipek; Simon, 2008; Kıraç *et al.*, 2022). Essa diversidade, entretanto, não pode ser plenamente caracterizada apenas por descritores morfológicos, pois estes são fortemente afetados por fatores ambientais, o que compromete sua confiabilidade na caracterização genética (Chen *et al.*, 2014; Papaioannou *et al.*, 2023).

Nesse sentido, os marcadores moleculares tornaram-se ferramentas essenciais, pois permitem detectar variação genética de forma estável e independente das condições de cultivo. Diferentes estudos em alho têm aplicados técnicas como AFLP, ISSR, RAPD, SRAP e SSR, reconhecidas por sua robustez e capacidade de discriminar genótipos semelhantes com maior precisão (Elsharkawy *et al.*, 2021; Kaushik *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2019; Ma, K.-H. *et al.*, 2009).

Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os padrões de diversidade genética entre e dentro de diversas cultivares de alho roxo nobre do Planalto Catarinense, considerando os genótipos "Plus" e "Minus", por meio da aplicação combinada de marcadores moleculares AFLP e S-SAP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e seleção das amostras

Foram coletados bulbos de populações clonais das cultivares: Caçador Contestado, Esmeralda, Ito, Quitéria e São Valentin (com seleções fenotípicas Plus e Minus), além das cultivares Chonan e Jonas (apenas na seleção Plus), nas quais os bulbos de maior diâmetro

foram classificados como Plus (“+”) e os de menor diâmetro como Minus (“-”). Provenientes do Planalto Catarinense (Brunópolis, Curitiba, Fraiburgo, Frei Rogério e Ponte Alta), região tradicional na produção e conservação de cultivares de alho roxo nobre.

Após a coleta, os bulbos foram submetidos a um processo de vernalização, consistindo em refrigeração a 4°C por sete dias, exposição à temperatura ambiente por três dias e novo período de refrigeração a 4°C por sete dias. Em seguida, foram desinfetados com etanol 70% (1 min), hipoclorito de sódio a 1% (15 min) e lavados em água deionizada autoclavada. Os bulbilhos individualizados foram introduzidos em tubos de ensaio (23 x 150 mm) contendo 10 ml de meio de cultura semissólido (água destilada + ágar 6g.L⁻¹), para indução da brotação e desenvolvimento foliar.

Isolamento e quantificação do DNA

O DNA genômico foi isolado de folhas desenvolvidas obtidas na etapa de brotações in vitro dos bulbilhos, pelo método CTAB (Doyle; Doyle, 1990). Em seguida, a concentração e a pureza do material isolado foram avaliadas por espectrofotometria (NanoDrop 1000®, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, EUA), considerando as razões 260/280 e 260/230 nm (Sambrook J; Russell D, 2001). Para assegurar a qualidade das reações, a integridade do DNA foi confirmada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (90 V, 40 min), com visualização em transiluminador UV. As amostras destinadas à PCR foram ajustadas para 100 ng/μL⁻¹, e os estoques remanescentes armazenados a -20 °C.

Amplificação e genotipagem dos fragmentos

Foram analisadas 112 amostras (oito indivíduos por população clonal) com os marcadores AFLP e S-SAP. As etapas comuns de restrição/digestão, ligação de adaptadores e preparo seguiram Vos *et al.* (1995), com modificações de Hazen; Leroy; Ward (2002), conforme detalhado a seguir.

Aplicação do marcador AFLP

A etapa de restrição/digestão enzimática, foi composta por DNA genômico (100 ng/μL⁻¹), tampão TANGO ® 1x, enzimas MseI e EcoRI (0,1 U/μL⁻¹ cada), BSA e ddH₂O (0,1 U/μL⁻¹ cada), com incubação a 37 °C por 18 h e inativação a 70 °C por 15 min. A eficiência da digestão foi verificada em gel de agarose 1%.

A ligação dos adaptadores (Tabela 1) foi realizada com 25 pmol de cada adaptador EcoRI e MseI, tampão T4 (10x), e T4 DNA ligase, adicionados a 50 µl do DNA digerido; incubação a 25 °C por 18 h e diluição subsequente 1:4 em água ultrapura.

A amplificação seletiva utilizou o primer EcoACG marcado com fluorescência (HEX), em combinação com os primers MseI (Tabela 1). As reações continham 10 pmol de cada primer, 1,0 U de Taq DNA polimerase, tampão de reação 2x e 0,25 mM de cada dNTP.

A PCR foi conduzida em termociclador Veriti™ (Thermo Fisher Scientific), com as seguintes condições: 1) etapa de desnaturação inicial a 94 °C por 2 min; 2) 12 ciclos de 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s, 72 °C por 1 min; 3) 23 ciclos de 94 °C por 30 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por 1 min; 4) etapa final de extensão a 72 °C por 5 min.

Tabela 1 - Adaptadores e primers AFLP utilizados para análise da diversidade genética em alho (*Allium sativum* L).

Adaptadores e iniciadores	Sequência (5'-3')
Mse1 adapter	GACGATGAGTCCTGAG
Mse2 adapter	TACTCAGGACTCAT
Eco1 adapter	CTCGTAGACTGCGTA CC
Eco2 adapter	AATTGGTACGCAGTCTAC
EcoACG - HEX	GACTGCGTACCAATTCACG
MseCAA	GATGAGTCCTGAGTAACAA
MseCAC	GATGAGTCCTGAGTAA CAC
MseCAT	GATGAGTCCTGAGTAACAT
MseCTG	GATGA GTCCTGAGTAACTG

Fonte: Autor, 2025.

Marcador S-SAP

O marcador S-SAP seguiu as mesmas etapas de restrição, inativação e ligação do AFLP. Na amplificação seletiva, o iniciador EcoACG – HEX foi combinado com primers específicos de LTR – retrotransposons (CRM, Galadriel, Reina e Del), conforme Waugh *et al.* (1997) e anotações do GyDB (Llorens *et al.*, 2011), (Tabela 2).

Tabela 2 - Lista dos iniciadores S-SAP utilizados na análise da diversidade genética em alho (*Allium sativum* L).

Iniciadores	Sequência
-------------	-----------

EcoACG - HEX	GACTGCGTACCAATTCACG
CRM	ACCCAACGGGTGCACATC
DEL	ACACTTTGGGACTTAAAAGCGTATTITGAT
GALADRIEL	GTGCGAGAAAAATAAATCGACCCTCTTTCA
REINA	AACCCCAGTA GATCTACTACGTAGCTAACA

Fonte: Autor, 2025.

Análise de dados dos marcadores dominantes

Preparo, genotipagem e processamento

Após a PCR seletiva, os produtos foram conferidos em gel de agarose 1% (TBE 1x, GelRed) com amostras representativas de cada combinação de primers. As amostras com bandas consistentes foram diluídas 1:9 (v/v) em água ultrapura e preparadas para a eletroforese capilar com 1 µL de amostra, 8,75 µL de formamida e 0,25 µL do marcador interno Liz (GeneScan). A mistura foi desnaturada a 95 °C por 5 min e resfriada em gelo por 3 min. A genotipagem foi realizada no sequenciador ABI 3500xl Genetic analyzer, e os resultados foram analisados e registrados com o software GeneMapper™.

Foram considerados apenas picos na faixa de 70-500 pb. Os perfis eletroferogramas foram convertidos em matriz binária (1 = presença; 0 = ausência) por *pipeline* automatizada em Python, com padronização de limiares e binagem, assegurando uniformidade e reprodutibilidade.

Parâmetros de diversidade e estrutura genética

A diversidade e a estrutura genética populacional foram estimadas no software AFLP-SURV v.1.0 (Vekemans *et al.*, 2002), adotando o método de Lynch; Milligan (1994) para marcadores dominantes. Foram estimados os parâmetros: proporção de loci polimórficos (*PLP*), heterozigosidade esperada de Nei (*H_j*) e heterozigosidade média intrapopulacional.

Parâmetros de diversidade e estrutura genética

A AMOVA foi conduzida no software GenAlEx 6.51b2 (Peakall; Smouse, 2012), conforme o modelo de Excoffier, Smouse e Quattro, (1992), para particionar a variância molecular entre e dentro das populações clonais. As relações de similaridade foram visualizadas por Análise de Coordenadas Principais (PCoA) no mesmo software, a partir das matrizes de dissimilaridade.

A similaridade entre os indivíduos foi estimada pelo coeficiente de Jaccard; o agrupamento hierárquico foi obtido por UPGMA no software PAST v.4.02 (Hammer; Harper; Ryan, 2001) resultando em dendrograma das relações genéticas.

Para comparar os sistemas de marcadores, aplicou-se o teste de Mantel (Mantel, 1967) em ambiente R (*vegan* Oksanen *et al.*, 2015), com 999 permutações, e $\alpha = 1\%$, confrontando as matrizes de similaridades de AFLP e S-SAP.

Esquema de análise

Primeiramente foi realizada uma comparação fenotípica global entre as seleções Plus e Minus. Nessa etapa, todas as amostras de cada seleção foram analisadas em conjunto, sem distinguir as cultivares entre si, visando estimar *PLP* e *Hj* por seleção no painel integrado.

Após a comparação global, as PCs foram avaliadas em três cenários distintos para responder perguntas complementares: I) comparar a diversidade quando cada cultivar é subdividida em suas seleções fenotípicas (Plus e Minus); II) estimar a diversidade do conjunto de materiais considerados apenas na seleção Plus (amplitude intra-cultivar sem o efeito da seleção Minus); III) avaliar todas as cultivares independentemente da seleção (visão integrada da diversidade entre cultivares).

RESULTADOS

Comparação global

Os marcadores AFLP e S-SAP, aplicados ao painel completo (conjunto integrado de todas as amostras das seleções Plus e Minus das cultivares que possuem ambas as seleções (Caçador, Contestado, Esmeralda, Ito, Quitéria e São Valentin; $n = 94$, sendo 47 Plus e 47 Minus)) geraram 730 e 894 loci polimórficos, respectivamente. Na análise combinada (AFLP + S-SAP) o total foi 1.684 loci polimórficos. Esses totais referem-se ao conjunto integrado do painel (não por cultivar).

Na comparação fenotípica Plus vs. Minus dentro do painel (Tabela 3), para AFLP o conjunto Minus apresentou 378 loci polimórficos ($PLP = 54,1\%$; $Hj = 0,20$) e o conjunto Plus, 373 loci polimórficos ($PLP = 53,4\%$; $Hj = 0,19$) **Tabela 3**. Para S-SAP, o conjunto Plus apresentou 488 loci polimórficos ($PLP = 54,5\%$; $Hj = 0,16$), e o grupo Minus, 438 loci polimórficos ($PLP = 49,9\%$; $Hj = 0,14$) **Tabela 3**. Na combinação AFLP + S-SAP, o grupo

Plus apresentou 861 loci polimórficos ($PLP = 54\%$, $Hj = 0,18$) e o Minus, 816 ($PLP = 51,2\%$, Hj de $0,17$).

Tabela 3 - Índices de diversidade genética obtidos por AFLP, S-SAP e pela combinação (AFLP + S-SAP) na comparação fenotípica Plus vs. Minus do painel de *Allium sativum* L.

Painel	AFLP				S-SAP				AFLP + S-SAP			
	n	#Loc_P	PLP	Hj	n	#Loc_P	PLP	Hj	N	#Loc_P	PLP	HJ
Plus	47	373	53,4	0,19	47	488	54,5	0,16	47	861	54,0	0,18
Minus	47	378	54,1	0,20	47	438	48,9	0,14	47	816	51,2	0,17

n: número de indivíduos; #Loc_P: número de loci polimórficos ($p < 0,05$); PLP (%): proporção de loci polimórficos ao nível de 5%, expressa em porcentagem; Hj: Heterozigosidade esperada, estimada com base nas frequências alélicas sob equilíbrio de Hardy-Weinberg (diversidade genética de Nei). Fonte: Autor, 2025.

No conjunto integrado, foram recuperados 1.684 loci polimórficos. As métricas de diversidade mostraram faixas estreitas entre as seleções fenotípicas, com diferenças sutis entre Plus e Minus e tendência discreta de valores mais altos para Plus quando os sistemas são combinados.

A seguir, são apresentados os resultados obtidos para cada cenário definido na etapa analítica, seguidos de interpretações pontuais que auxiliam na compreensão dos padrões observados. Cada cenário integra, portanto, uma seção conjunta de resultados e discussão específica, na qual são destacados os principais achados e suas possíveis causas biológicas e metodológicas.

Por fim, uma síntese interpretativa geral é apresentada, reunindo os pontos de convergência entre os cenários, comparando tendências de variabilidade, estrutura genética e relações entre cultivares, bem como sua coerência com evidências disponíveis na literatura sobre espécies clonais como *A. sativum* L.

Cenário I - cultivares com seleções Plus e Minus

Estimativas de diversidade genética

As cultivares deste cenário apresentaram variação na proporção de loci polimórficos (PLP) e na heterozigosidade esperada (Hj) para cada sistema de marcadores (Tabela 4). Com AFLP, os maiores valores ocorreram em Quitéria + ($PLP = 63,4\%$; $Hj = 0,22$) e São Valentin + ($PLP = 63,2\%$; $Hj = 0,22$) enquanto os menores foram de Contestado - ($PLP = 35,9\%$; $Hj = 0,13$) e Quitéria - ($PLP = 37,5\%$; $Hj = 0,14$). Com S-SAP, destacaram-se Esmeralda + ($PLP = 62,1\%$; $Hj = 0,19$) e Contestado + ($PLP = 61,9\%$; $Hj = 0,20$), ao passo que Quitéria -

apresentou os menores índices ($PLP = 43,9\%$; $Hj = 0,12$). Na análise combinada (AFLP + S-SAP), os maiores valores foram observados em São Valentin - ($PLP = 59,7\%$; $Hj = 0,21$) e Esmeralda + ($PLP = 61,4\%$; $Hj = 0,21$), enquanto Contestado - ($PLP = 35,7\%$; $Hj = 0,11$) e, em seguida, Quitéria - ($PLP = 41,1\%$; $Hj = 0,13$) exibiram os menores índices.

Tabela 4 - Índices de diversidade genética obtidos pelos marcadores AFLP, S-SAP e pela combinação AFLP + S-SAP nas cultivares dos grupos Plus e Minus de *Allium sativum* L.

Cultivar	AFLP				S-SAP				AFLP + S-SAP			
	n	#Loc_P	PLP	Hj	n	#Loc_P	PLP	Hj	n	#Loc_P	PLP	Hj
Caçador +	8	383	54,8	0,17	8	533	59,5	0,19	8	916	57,4	0,19
Contestado +	7	391	55,9	0,20	8	555	61,9	0,20	7	946	59,3	0,20
Esmeralda +	8	424	60,7	0,21	7	556	62,1	0,19	7	980	61,4	0,21
Ito +	8	329	47,1	0,14	8	486	54,2	0,17	8	815	51,1	0,17
Quitéria +	8	443	63,4	0,22	8	446	49,8	0,16	8	889	55,7	0,19
São Valentin +	8	442	63,2	0,22	8	475	53,0	0,16	8	917	57,5	0,19
Caçador -	7	372	53,2	0,19	8	501	55,9	0,18	7	873	54,7	0,19
Contestado -	7	251	35,9	0,13	7	319	35,6	0,1	7	570	35,7	0,11
Esmeralda -	8	378	54,1	0,17	8	417	46,5	0,15	8	795	49,8	0,17
Ito -	7	418	59,8	0,22	8	493	55,0	0,17	7	911	57,1	0,19
Quitéria -	8	262	37,5	0,14	7	393	43,9	0,12	7	655	41,1	0,13
São Valentin -	8	433	61,9	0,23	8	519	57,9	0,18	8	952	59,7	0,21

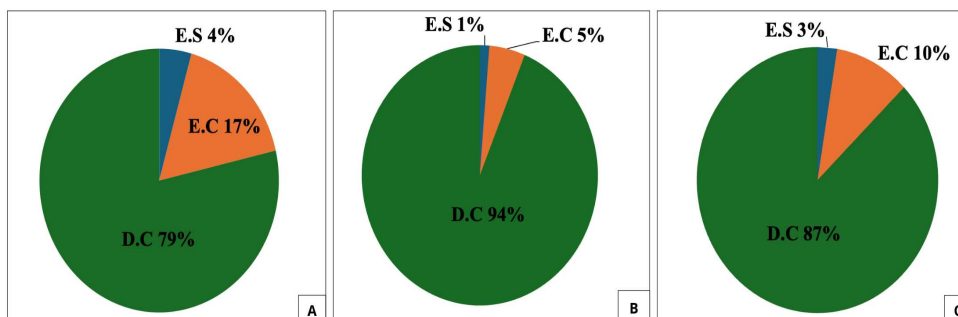
n: número de indivíduos; #Loc_P: número de loci polimórficos ($p < 0,05$); PLP: proporção de loci polimórficos ao nível de 5% (expressa em porcentagem); Hj: Heterozigosidade esperada, estimada com base nas proporções alélicas esperadas sob equilíbrio de Hardy-Weinberg (diversidade genética de Nei). Fonte: Autor, 2025.

Estrutura e relações genéticas

A AMOVA com AFLP indicou 4% da variância as seleções (Plus e Minus), 17% entre as cultivares (tratando cada combinação cultivar x seleção como grupo distinto) e 79% dentro das cultivares (Figura 1A). Com S-SAP, os componentes foram 1% entre as seleções, 5% nas diferenças entre as cultivares e 94% dentro das cultivares (Figura B).

Na análise combinada (AFLP e S-SAP), observaram-se 3% entre seleções, 15% entre as cultivares (considerando as seleções Plus e Minus como grupos distintos), e 82% da variabilidade foi detectada dentro das cultivares (Figura 1C).

Figura 1 - Partição da variância genética entre seleções (Plus e Minus), entre cultivares e dentro das cultivares de *Allium sativum* L. com base nos marcadores AFLP (A), S-SAP (B) e AFLP + S-SAP (C).

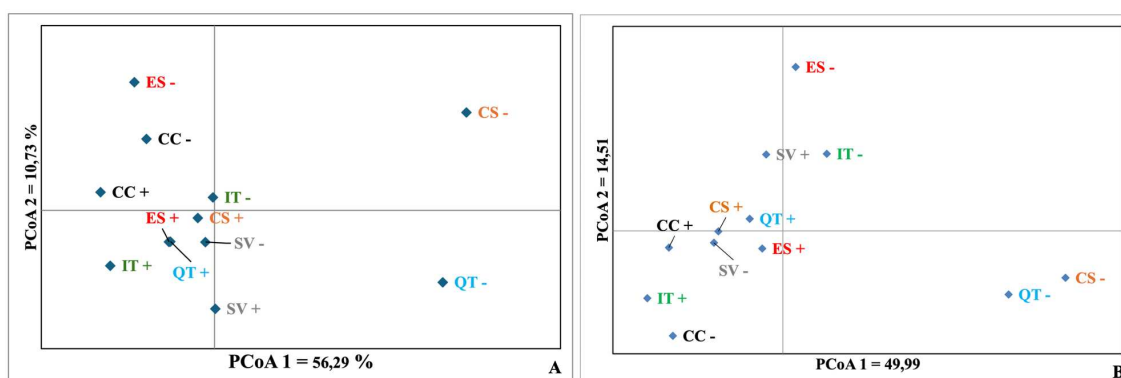


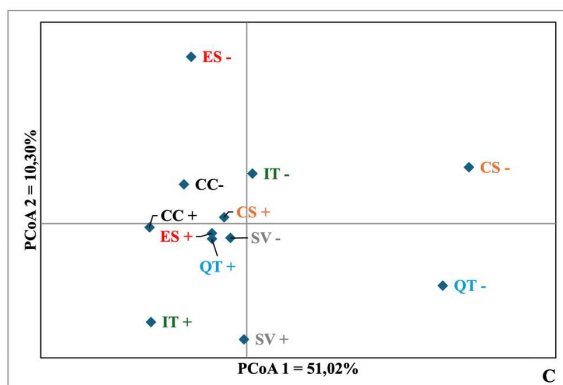
(E.S) Entre seleções Plus e Minus; (E.C) Entre cultivares; (D.C) Dentro das cultivares. Fonte: Autor, 2025.

A distâncias genéticas de Nei (d), apresentaram a seguinte variação: para AFLP, $d = 0,014$ (1,4%) entre Esmeralda + e Quitéria + até $d = 0,162$ (16,2%) entre Contestado - e Ito + (PCoA na Figura 2A). Para S-SAP, $d = 0,005$ (0,5%), entre Caçador - e São Valentin -, até $d = 0,0038$ (3,8%), entre Ito + e Contestado -. A comparação entre as seleções Plus e Minus da cultivar Contestado resultou em uma distância de 0,028 (2,8%) (PCoA na Figura 2B)

Na combinação AFLP + S-SAP, $d = 0,010$ (1%) entre Esmeralda + e Contestado + e entre Esmeralda + e Quitéria + até $d = 0,091$ entre Ito + e Contestado - (PCoA na Figura 2C). As matrizes completas de distâncias encontram-se no Material Suplementar (Tabelas S1-S3).

Figura 2 - Análise de Coordenadas Principais (PCoA) a partir das matrizes de distância de Nei: (A) AFLP; (B) S-SAP; (C) AFLP + S-SAP.





CC = Caçador; CS = Contestado; ES = Esmeralda; IT = Ito; QT = Quitéria; SV = São Valentin; “+” = Plus; “-” = Minus. Fonte: Autor, 2025.

Os dendrogramas UPGMA baseados no coeficiente de Jaccard, construídos separadamente para cada sistema de marcadores (Figuras S1-S3), apresentaram coeficientes cofenéticos elevados (AFLP: 0,831; S-SAP: 0,959; AFLP + S-SAP: 0,953), confirmando boa representatividade e estabilidade topológica. Em geral, observou-se alta proximidade entre as seleções Plus e Minus de uma mesma cultivar, com formação de subclados adjacentes, coerente com a predominância de variação intravarietal revelada pela AMOVA.

As cultivares Caçador, Ito e São Valentin mantiveram agrupamentos consistentes entre suas seleções, enquanto Contestado- apresentou posição mais isolada, refletindo suas menores estimativas de diversidade. Nos três sistemas, notou-se aproximação entre cultivares distintas, particularmente entre Esmeralda+, Quitéria+ e Contestado+, indicando potencial compartilhamento genético. O padrão de agrupamento foi amplamente congruente entre AFLP, S-SAP e o conjunto combinado, com pequenas variações esperadas em razão da natureza distinta das regiões genômicas acessadas por cada sistema.

A forte correlação de Mantel entre as matrizes genéticas de AFLP e S-SAP ($r = 0,878$, $p = 0,0002$ e 9999 permutações) indicou alta concordância entre os sistemas (Figura S4). Esse resultado demonstra que ambos os conjuntos de marcadores descrevem padrões genéticos consistentes, sustentando a confiabilidade das estimativas de distância e agrupamento obtidas neste cenário.

Interpretação do cenário

Os resultados obtidos neste cenário revelam alta similaridade genética entre as seleções Plus e Minus dentro de cada cultivar, com pequenas variações na diversidade detectadas pelos diferentes sistemas de marcadores. As faixas estreitas de *PLP* e *Hj* indicam que a maior parte

da variabilidade é compartilhada, e a AMOVA confirmou que a maior proporção da variância (79-94%) está concentrada dentro das cultivares, com apenas 1-4% entre as seleções fenotípicas.

A ligação entre Plus e Minus em subclados adjacentes nos dendrogramas UPGMA reforça essa proximidade, demonstrando que as distinções morfológicas observadas em campo não traduzem em separação genômica expressiva. Os pares intercalados de cultivares e seleções, como Esmeralda+, Quitéria+ e Contestado+, revelam mistura genética parcial entre materiais varietais, compatível com troca de propágulos entre agricultores e renomeações locais.

A posição mais isolada de Contestado-, em contraste com suas demais seleções, pode refletir estreitamento clonal ou perda de variantes em ciclos sucessivos de multiplicação vegetativa, explicando seus menores índices de *PLP* e *Hj*. Em contrapartida, as seleções Plus, de modo geral, apresentaram valores ligeiramente superiores de diversidade, sugerindo acúmulo de variantes adaptativas ou maior heterogeneidade funcional, sem, contudo, configurar divergência significativa entre os grupos.

A concordância entre sistemas ($r = 0,878$ no teste de Mantel) confirma que AFLP e S-SAP descrevem os mesmos padrões de estrutura, ainda que explorem compartimentos genômicos distintos (regiões amplas e retrotransposons, respectivamente). Essa convergência reforça a robustez das estimativas e justifica o uso do conjunto combinado para representar de forma abrangente a diversidade das cultivares e suas seleções.

Em síntese, o cenário I demonstra que as diferenças fenotípicas entre as plantas Plus e Minus não resultam de divergência genômica acentuada, mas sim de ajustes epigenéticos, mutações somáticas localizadas ou efeitos micro ambientais sobre um mesmo fundo genético.

Cenário II - cultivares apenas Plus

Estimativas de diversidade genética

Este cenário reúne as cultivares Chonan+ Jonas+, além das demais cultivares na seleção Plus. No painel, (todas as cultivares Plus consideradas em conjunto), foram detectados 730 loci polimórficos por AFLP e 894 por S-SAP; a análise combinada (AFLP + S-SAP) totalizou 1.624 loci.

Com AFLP, Chonan+ apresentou os maiores índices (*PLP* = 61,5% e *Hj* de 0,22, seguida de Quitéria+ (*PLP* = 60,7%, *Hj* = 0,214). Os menores valores foram de Ito+ (45,1% e

H_j de 0,132) (Tabela 6). Com S-SAP, os maiores índices foram de Esmeralda+ ($PLP = 60,9\%$ e H_j de 0,190) (Tabela 5).

Na combinação AFLP + S-SAP, Esmeralda+ apresentou os maiores valores ($PLP = 59,5\%$; $H_j = 0,201$) e Ito+ os menores ($PLP = 49,7\%$; $H_j = 0,165$) (Tabela 6).

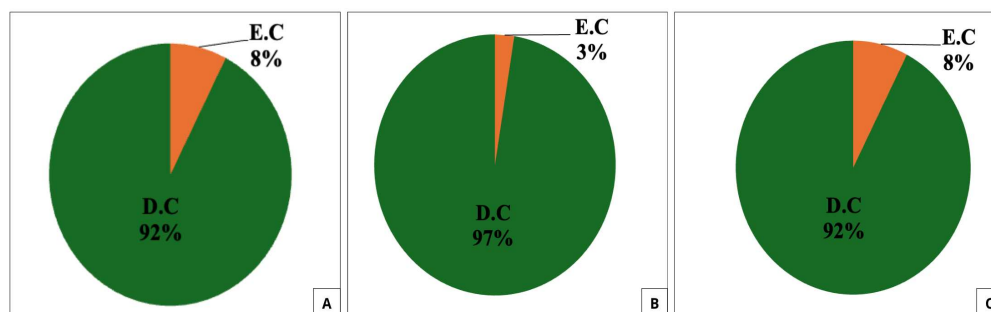
Tabela 5 - Índices de diversidade genética obtidos por AFLP, S-SAP e AFLP + S-SAP, nas cultivares das seleções Plus de *A. sativum* L.

Cultivar	AFLP				S-SAP				AFLP + S-SAP			
	n	#Loc_P	PLP	Hj	n	#Loc_P	PLP	Hj	n	#Loc_P	PLP	Hj
Caçador +	8	383	52,5	0,164	8	524	58,6	0,182	8	907	55,8	0,184
Chonan +	8	449	61,5	0,222	8	442	49,4	0,148	8	891	54,9	0,183
Contestado +	7	391	53,6	0,193	8	544	60,9	0,190	7	935	57,6	0,197
Esmeralda +	8	423	57,9	0,199	7	544	60,9	0,190	7	967	59,5	0,201
Ito +	8	329	45,1	0,132	8	478	53,5	0,171	8	807	49,7	0,165
Jonas +	8	382	52,3	0,169	8	506	56,6	0,174	8	888	54,7	0,180
Quitéria +	8	443	60,7	0,214	8	439	49,1	0,158	8	882	54,3	0,187
San Valentin +	8	442	60,5	0,211	8	468	52,3	0,156	8	910	56	0,184

n: número de indivíduos; #Loc_P: número de loci polimórficos ($p < 0,05$); PLP: proporção de loci polimórficos ao nível de 5% (expressa em porcentagem); HJ: Heterozigosidade esperada, estimada com base nas proporções genotípicas esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (também conhecida como diversidade genética de Nei).
Fonte: Autor, 2025.

A AMOVA indicou, para AFLP, 8% das variâncias entre cultivares e 92% dentro das cultivares (Figura 3A). Para S-SAP, 3% entre cultivares e 97% dentro das cultivares (Figura 3B). Na análise combinada (AFLP + S-SAP), 5% entre cultivares e 95% dentro das cultivares (Figura 3C).

Figura 3 - Partição da variância genética entre as cultivares Plus de *Allium sativum* L. com base nos marcadores AFLP (A), S-SAP (B) e AFLP + S-SAP (C).

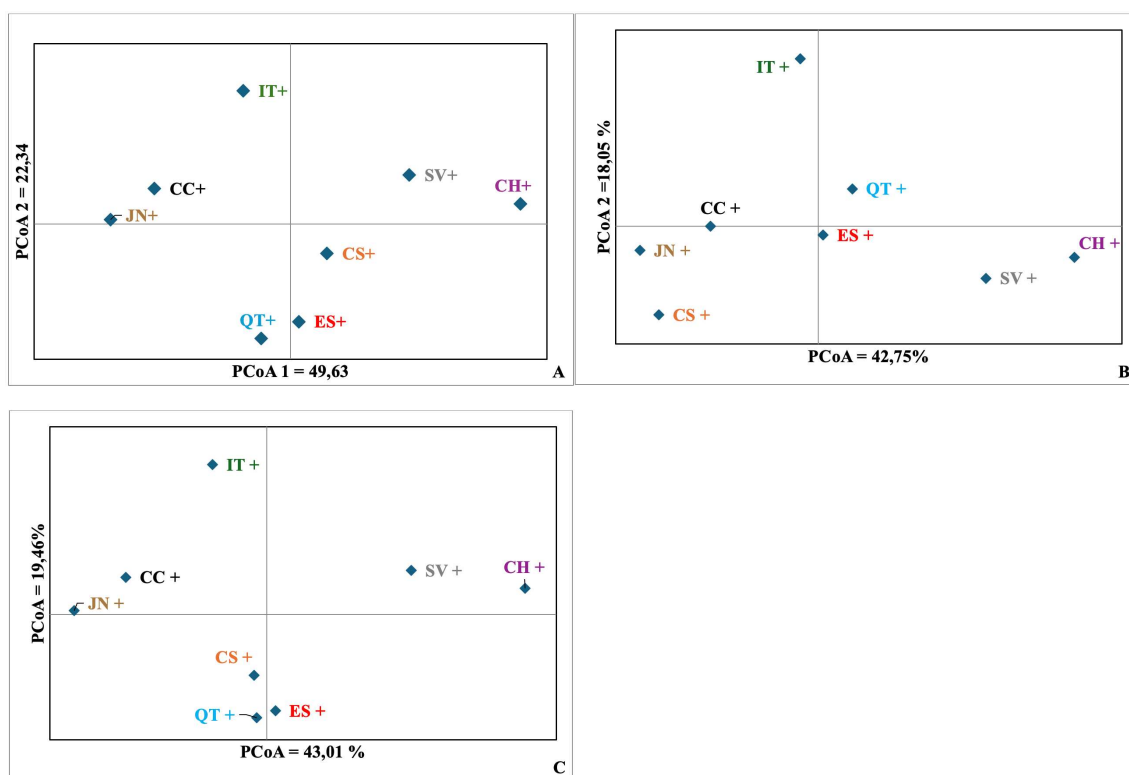


(E.C) Entre as cultivares e (D.C) Dentro das cultivares. Fonte: Autor, 2025.

Com base em AFLP, as distâncias genéticas de Nei variaram de $d = 0,009$ (0,9%) entre Jonas+ e Contestado a $d = 0,070$ (7,0%) entre Chonan+ e Jonas+ (PCoA na Figura 4A). Para

S-SAP, variaram de $d = 0,006$ (0,6%) entre Quitéria+ e Esmeralda+, e entre Jonas+ e Caçador+ até 0,022 (2,2%) entre Chonan+ e Jonas+ (PCoA na Figura 4B). Na análise combinada (AFLP + S-SAP), a maior distância $d = 0,009$ (0,9%) entre Contestado+ e Quitéria+ e a maior $d = 0,043$ (4,3%) entre Chonan+ e Jonas+ (Figura 4C). As matrizes completas de distâncias encontram-se no Material Suplementar (Tabelas S3-S5).

Figura 4 - Análise de Coordenadas Principais (PCoA) a partir das matrizes de distância de Nei: (A) AFLP; (B) S-SAP; (C) AFLP + S-SAP.



CC = Caçador; CH = Chonan; CS = Contestado; ES = Esmeralda; IT = Ito; JN = Jonas; QT = Quitéria; SV = São Valentin; “+” = Plus. Fonte: Autor, 2025.

Os dendrogramas UPGMA baseados no coeficiente de Jaccard (Figuras S5-S7) apresentaram coeficientes cofenéticos elevados, confirmando boa representatividade topológica dos agrupamentos (AFLP:0,936; S-SAP:0,8067; AFLP + S-SAP: 0,9483). Em geral observou-se alta similaridade genética entre as cultivares, com formação de grupos coesos e consistentes entre os três sistemas.

Os dendrogramas de AFLP e da combinação (AFLP + S-SAP) mostraram padrão de agrupamento congruente com a PCoA, refletindo a predominância de variação interparietal já indicada pela AMOVA.

Algumas cultivares exibiram proximidade genética acentuada, destacando-se a relação entre Esmeralda+ e Quitéria+, além da proximidade de Jonas+ com Caçador+, sugerindo afinidade genética destes materiais. O agrupamento de Ito+ em posição relativamente isolada, observado em todos os sistemas, acompanha seus menores índices de *PLP* e *Hj*, indicando possível estreitamento genético dentro desse material.

A correlação de Mantel entre as matrizes genéticas de AFLP e S-SAP foi moderada, porém significativa ($r = 0,6911$; $p = 0,0001$; 9.999 permutações) (Figura S8).

Interpretação do cenário

Os resultados indicam que, entre as cultivares Plus, a diversidade genética foi relativamente homogênea, com variação predominante dentro das cultivares, conforme evidenciado pela AMOVA (92-97% da variância). Essa homogeneidade reforça que as seleções superiores mantêm ampla sobreposição genômica e não formam grupos isolados.

O leve predomínio de diversidade em Esmeralda+, Quitéria+ e Contestado+, associado à repetida proximidade genética entre essas cultivares (PCoA, UPGMA e AFLP + S-SAP), sugere a existência de heterogeneidade clonal preservada e ou compartilhamento histórico de propágulos vegetativos (padrão típico de sistemas clonais regionais de *A. sativum*). Em contraste, Ito+ apresentou menor variabilidade e posição mais isolada nos agrupamentos, sinalizando possível estreitamento genético dentro do material cultivado.

A correlação AFLP vs S-SAP de Mantel, embora moderada, confirma congruência entre os sistemas, e as pequenas discrepâncias (como as distâncias maiores de Quitéria+ x Contestado+ por S-SAP) indicam que esse marcador, ao se ancorar com retrotransposons, pode captar variação adicional em regiões genômicas repetitivas.

Em síntese, o cenário II confirma a alta similaridade genética entre as cultivares com seleções Plus e a preservação de diversidade intra-cultivar, reforçando que a seleção fenotípica positiva não resulta em perda significativa de variabilidade e que o conjunto combinado (AFLP + S-SAP) fornece uma visão abrangente da estrutura genética das cultivares avaliadas.

Cenário III - Todas as cultivares (independentes de Plus e Minus)

Estimativas de diversidade genética

Com AFLP, o número de loci polimórficos variou de 254 em Contestado– a 449 em Chonan+, com *PLP* entre 34,8% e 61,5% e *Hj* de 0,123 em Contestado– a 0,222 em Chonan+

(Tabela 6). Com S-SAP, o número de loci polimórficos variou de 318 em Contestado- a 544 em Contestado+ e Esmeralda+, com *PLP* de 35,6% em Contestado- a 60,9% em Esmeralda+ e *Hj* de 0,097 em Contestado- a 0,209 em Ito- (Tabela 6).

Na combinação AFLP + S-SAP, observaram-se 572 loci polimórficos em Contestado- e 967 em Esmeralda+, *PLP* de 35,2% em Contestado- a 59,5% em Esmeralda+ e *Hj* de 0,112 em Contestado- a 0,201 em Esmeralda+ (Tabela 6).

Tabela 6 - Índices de diversidade genética obtidos por AFLP, S-SAP e AFLP + S-SAP, em todas as cultivares e seleções de *A. sativum* L.

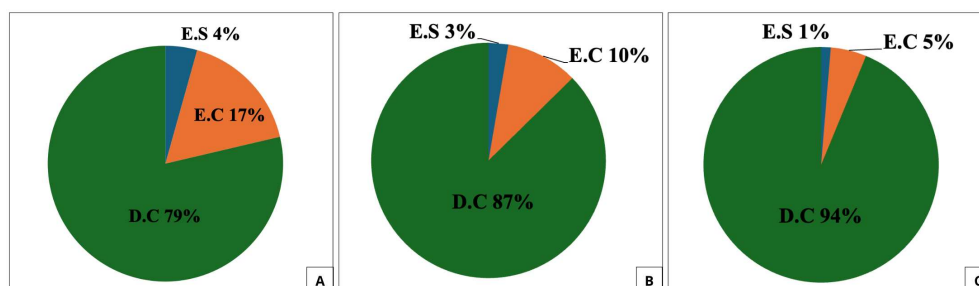
Cultivar	AFLP				S-SAP				AFLP + S-SAP			
	n	#Loc_P	PLP	Hj	n	#Loc_P	PLP	Hj	n	#Loc_P	PLP	Hj
Caçador +	8	383	52,5	0,164	8	524	58,6	0,182	8	907	55,8	0,184
Chonan +	8	449	61,5	0,222	8	442	49,4	0,148	8	891	54,9	0,183
Contestado +	7	391	53,6	0,193	8	544	60,9	0,190	7	935	57,6	0,197
Esmeralda +	8	423	57,9	0,199	7	544	60,9	0,190	7	967	59,5	0,201
Ito +	8	329	45,1	0,132	8	478	53,5	0,171	8	807	49,7	0,165
Jonas +	8	382	52,3	0,169	8	506	56,6	0,174	8	888	54,7	0,180
Quitéria +	8	443	60,7	0,214	8	439	49,1	0,158	8	882	54,3	0,187
São Valentin +	8	442	60,5	0,211	8	468	52,3	0,156	8	910	56	0,184
Caçador -	7	370	50,7	0,162	8	492	55	0,174	7	862	53,1	0,180
Contestado -	8	254	34,8	0,123	8	318	35,6	0,097	8	572	35,2	0,112
Esmeralda -	8	376	51,5	0,166	8	410	45,9	0,147	8	786	48,4	0,163
Ito -	7	418	57,3	0,209	8	484	54,1	0,163	7	902	55,5	0,188
Quitéria -	8	262	35,9	0,137	7	387	43,3	0,114	7	649	40	0,125
São Valentin -	8	429	58,8	0,220	8	510	57	0,178	8	939	57,8	0,200

n: número de indivíduos; #Loc_P: número de loci polimórficos ($p < 0,05$); PLP: proporção de loci polimórficos ao nível de 5% (expressa em porcentagem); HJ: Heterozigosidade esperada, estimada com base nas proporções genotípicas esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (também conhecida como diversidade genética de Nei).
Fonte: Autor, 2025.

Com AFLP, a variância foi particionada em 5% entre seleções (Plus vs. Minus), 16% entre cultivares e 79% dentro das cultivares (Figura 5A). Com S-SAP, 1% entre seleções, 5% entre cultivares e 94% dentro das cultivares (Figura 5B).

Na combinação AFLP + S-SAP, 3% entre seleções, 10% entre cultivares e 87% dentro das cultivares (Figura 5C).

Figura 5 - Partição da variância genética entre todas as cultivares de *A. sativum* L. com base nos marcadores AFLP (A), S-SAP (B) e AFLP + S-SAP (C).

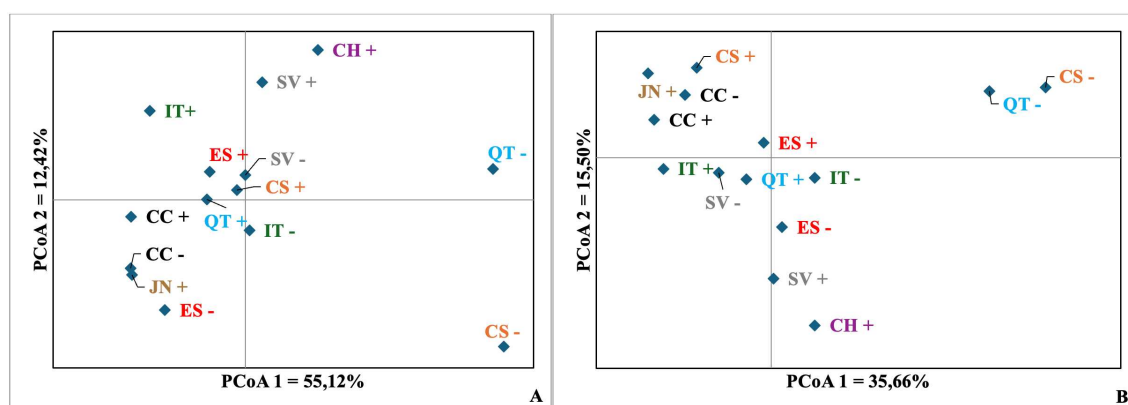


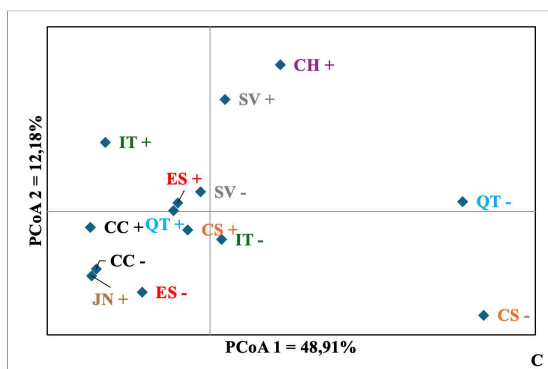
Fonte: Autor, 2025.

A partir de AFLP, as distâncias de Nei variaram de $d = 0,009$ entre Jonas+ e Caçador+ a $d = 0,153$ envolvendo Contestado- com Ito+ e com Caçador-. A PCoA correspondente explica 67,54% da variância nos dois primeiros eixos (55,12% + 12,42%) (Figura 6A). Com S-SAP, as distâncias variaram de $d = 0,005$ entre São Valentin- e Caçador- a $d = 0,035$ entre Jonas+ e Contestado- (PCoA: 35,66% + 15,50%) (Figura 6B).

Na combinação AFLP + S-SAP, as menores distâncias foram $d = 0,008$ entre Jonas+ e Caçador+ e $d = 0,009$ entre Quitéria+ e Esmeralda+; a maior foi $d = 0,087$ entre Ito+ e Contestado- (PCoA: 58,91% + 12,85%) (Figura 6C). As matrizes completas de distâncias encontram-se no Material Suplementar (Tabelas S6-S8).

Figura 6 - Análise de Coordenadas Principais (PCoA) a partir das matrizes de distância de Nei: (A) AFLP; (B) S-SAP; (C) AFLP + S-SAP.





CC = Caçador; CH = Chonan; CS = Contestado; ES = Esmeralda; IT = Ito; JN = Jonas; QT = Quitéria; SV = São Valentin; “+” = Plus; “-” = Minus. Fonte: Autor, 2025.

Os agrupamentos UPGMA (Figuras S9–S11) exibiram altos coeficientes cofenéticos, evidenciando considerável fidelidade das árvores às matrizes de distância (AFLP = 0,9609; S-SAP = 0,8316; AFLP + S-SAP = 0,9581).

No conjunto, observou-se proximidade entre as cultivares, com padrões de agrupamento coerentes entre os três sistemas. As árvores derivadas dos dados de AFLP e da matriz combinada reproduziram o que foi demonstrado pela PCoA e pela AMOVA: predominância de variação dentro das cultivares e ausência de clados amplamente segregados. Verificou-se, ainda, a aproximação entre **Quitéria-** e **Contestado-**, sugerindo afinidade genética e possível compartilhamento clonal.

A correlação de Mantel entre as matrizes de distância de AFLP e S-SAP foi significativa ($r = 0,8732$; $p = 0,0001$; 9.999 permutações) (Figura S12), indicando concordância robusta entre os sistemas e descrição consistente da estrutura genética de todas as cultivares e seleções analisadas.

Interpretação do cenário

O painel completo, reunindo todas as cultivares e seleções, reforçou, o padrão já observado nos cenários anteriores: predominância de variação dentro das cultivares, com pequena diferenciação entre grupos fenotípicos (Plus e Minus). A AMOVA indicou, que mesmo com a ampliação do conjunto amostral, a fração atribuída às seleções foi de apenas 1-5%, enquanto 79-94% da variância permaneceu concentrada dentro de cultivares, reafirmando que o material analisado mantém estrutura geneticamente compartilhada.

As distâncias genéticas e os agrupamentos UPGMA mostraram que as cultivares Quitéria e Contestado continuam formando núcleos de similaridade genética, um padrão recorrente nos três cenários.

A PCoA e os dendrogramas combinados (AFLP + S-SAP) também confirmaram alta similaridade entre a maioria das cultivares, com apenas pequenas separações associadas a materiais específicos (como Ito+ e Contestado-). Esse comportamento é típico de espécies propagadas vegetativamente, nas quais mutações somáticas e modificações epigenéticas podem gerar contrastes morfológicos perceptíveis sem provocar divergência genética.

A correlação de Mantel alta, reafirma a coerência entre os marcadores e a estabilidade do padrão de estrutura genética ao longo dos cenários.

De modo geral, o cenário III demonstra que a estrutura genética global das cultivares e seleções é contínua e pouco estratificada, refletindo o modo de propagação clonal.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com os marcadores AFLP, S-SAP e com a matriz combinada demonstram que a maior variação genética nas cultivares de alho roxo nobre ocorre dentro das próprias cultivares.

Esse padrão confirma que, mesmo sob propagação vegetativa, há variabilidade genética em espécies assexuadas. Decorrente de mutações somáticas e variações somaclonais acumuladas ao longo sucessivos ciclos de cultivo, o que garante diferenciação mínima, mas mensurável, dentro do germoplasma analisado (Kıraç *et al.*, 2022; Shaaf *et al.*, 2014; Volk; Henk; Richards, 2004). Além disso, a alta proporção de elementos transponíveis (transposons e retrotransposons) no genoma do alho (Anandhan *et al.*, 2015; Arvas *et al.*, 2023; El-Saadony *et al.*, 2024) pode ser um importante fator gerando diversidade genética entre indivíduos. A alta diversidade genética capturada pelos marcadores S-SAP é uma forte evidência desta hipótese, uma vez que esses marcadores são ancorados na região conservada de retrotransposons LTR. A estrutura genética encontrada é semelhante à relatada para coleções internacionais e nacionais de *A. sativum*, nas quais a variação intragrupo supera amplamente a intergrupar (Hamrigk; Godt, 1996; Huang *et al.*, 2020; Kamenetsky *et al.*, 2005).

A homogeneidade genética observada entre as cultivares do Planalto Catarinense reflete sua origem comum. O germoplasma local deriva majoritariamente da cultivar Chonan,

considerada a pioneira do alho roxo nobre no Brasil, e ao longo do tempo multiplicada e selecionada por agricultores locais, resultou nas demais cultivares conhecidas atualmente (Lucini, 2008; Resende; Nassur; Haber, 2017). Essa base genética historicamente compartilhada reduz a possibilidade de formação de clados amplamente segregados e explica a alta similaridade entre os materiais com nomes distintos. Essa configuração é reforçada por evidências de alta similaridade entre cultivares regionais e ocorrência de sinonímias, como San Valentim no RS, que corresponde aos materiais conhecidos como Esmeralda em Santa Catarina e Caxiense no Paraná (Resende; Nassur; Haber, 2017; Vieira; Nodari, 2007).

Nessa lógica, também se espera que diferenças fenotípicas dentro de um mesmo fundo clonal sejam discretas e mais relacionadas ao estado fitossanitário, ao ambiente e à seleção agronômica do que a ampla divergência genômica. Em consonância, as seleções “Plus” e “Minus” apresentaram alta similaridade genética, confirmando que pertencem ao mesmo pool clonal. As “Plus”, contudo, exibiram valores ligeiramente superiores de *PLP* e *Hj*, indicando maior diversidade detectável. No primeiro momento esse incremento pode estar associado à presença de bandas raras e à seleção empírica de plantas mais vigorosas e saudáveis, e não uma diferenciação genética efetiva entre os dois subconjuntos (Mehra *et al.*, 2020; Pasupula *et al.*, 2024). Contudo, não se descarta a possibilidade de um foco de erosão clonal, o que demanda monitoramento contínuo, especialmente diante das mudanças climáticas e da substituição por cultivares ocorrentes (Khoury *et al.*, 2022; Yaregal; Sime, 2024).

A comparação entre os sistemas de marcadores mostrou abordagens complementares. O AFLP capturou maior dispersão entre indivíduos, enquanto o S-SAP, ancorado em retrotransposons LTR, refletiu regiões mais conservadas do genoma (Gimenez *et al.*, 2016; Kalendar *et al.*, 2011). A alta correlação entre as matrizes ($r = 0,69-0,87$) confirma a robustez das inferências e demonstra que, mesmo acessando compartimentos genômicos distintos, os dois sistemas descrevem a mesma estrutura de relações. Parte das pequenas diferenças entre cenários decorre da natureza amostral dos marcadores multilocus, em que a inclusão ou exclusão de determinados genótipos altera o conjunto de fragmentos detectados (Bonin; Ehrlich; Manel, 2007; Meudt; Clarke, 2007).

A diversidade detectada é compatível com a natureza altamente repetitiva do genoma de *A. sativum*, estimado em cerca de 15,9 Gb (Egea *et al.*, 2017; Khar *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020). Além disso, mecanismos epigenéticos podem contribuir para a diferenciação fenotípica em sistemas clonais. Como não há recombinação meiótica no alho cultivado, a multiplicação

vegetativa tende a preservar combinações heterozigóticas e marcas epigenéticas ao longo dos ciclos de cultivo. Marcas de metilação e modificações de histonas, frequentes em regiões com retrotransposons, podem modular a expressão gênica e sustentar variações estáveis entre plantas geneticamente próximas (Bisognin, 2011; Jablonka; Raz, 2009; Latutrie; Gourcilleau; Pujol, 2019), como já observado em germoplasmas de alho brasileiro (Gomes-Viana *et al.*, 2016, 2021).

Embora os marcadores dominantes utilizados não permitam identificar heterozigotos nem a associar diretamente alelos a caracteres agrônômicos, o conjunto de dados obtido oferece um retrato genético representativo do material efetivamente cultivado na região, sob condições praticamente uniformes de clima, temperatura e manejo. Assim, além dos pontos já discutidos, a ausência de agrupamentos amplamente diferenciados reflete esse fundo ecofisiológico comum, sendo que padrões de estruturação mais evidentes na literatura geralmente decorrem de diferenças contrastantes nas exigências de temperatura, fotoperíodo e duração de ciclo, que promovem processos de seleção adaptativas entre grupos (Gowd *et al.*, 2023; Kumar *et al.*, 2019; Mota *et al.*, 2004; Papadopoulou *et al.*, 2025; Resende; Nassur; Haber, 2017).

Por fim os resultados constituem uma base de conhecimento essencial para as ações de gestão e a valorização do alho roxo nobre catarinense, pretendido de forma participativa. Pois, a investigação da estrutura genética permite a otimização de coleções e conservação *in vivo* ou *ex situ*, enquanto a definição de um núcleo genético comum dá suporte técnico a estratégias de rastreabilidade e certificação de origem (Barboza *et al.*, 2020; Poljuha *et al.*, 2021).

Nesse sentido, investigações futuras poderão ampliar a resolução e aplicabilidade dos resultados com a incorporação de marcadores codominantes (SSR, SNPs) e plataformas de genotipagem de alto rendimento (GBS), possibilitando análises funcionais e estudos de associação com características agrônômicas de interesse de forma mais eficaz.

CONCLUSÃO

Este estudo estabelece a linha de base da dinâmica genética do alho roxo do Planalto Catarinense. Evidenciando variabilidade intra-clonal e alta similaridade entre cultivares, reflexo da origem comum e fundo ecofisiológico compartilhado, mas confirmando diversidade intravarietal legítima. A partir desse referencial, recomenda-se avançar com abordagens direcionadas à produtividade, adaptabilidade e resiliência a estresses, orientando ações de conservação, seleção e manejo frente os desafios recentes enfrentados pelos agricultores.

REFERÊNCIAS

- AL JBAWI, E. Effect of Climate Change on Agriculture. **International Journal of Environment**, [s. l.], v. 9, n. 1, 2020. Disponível em: <https://34.22.156.254/index.php/IJE/article/view/27653>. Acesso em: 12 set. 2025.
- ANANDHAN, S. *et al.* Retrotransposon based TRAP marker displays diversity among onion (*Allium cepa* L.) genotypes. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 190, p. 123–127, 2015.
- ARAÚJO, N. M. de *et al.* A cultura. In: NICK, C.; BORÉM, A. (org.). **Alho: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2017. p. 9–14.
- ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Reporter**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 208–218, 1991.
- ARVAS, Y. E. *et al.* The power of retrotransposons in high-throughput genotyping and sequencing. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 14, p. 1174339, 2023.
- AVIELLO, G. *et al.* Garlic: Empiricism or Science?. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 4, n. 12, 2009.
- BARBOZA, K. *et al.* Assessment of genetic diversity and population structure in a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection varying in bulb content of pyruvate, phenolics, and solids. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 261, 2020.
- BATZER, M. A. Mobile DNA: Finding Treasure in Junk. **American Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 5, 2013.
- BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. de. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 27, p. 513–520, 1997.
- BISOGNIN, D. A. Breeding vegetatively propagated horticultural crops. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, [s. l.], v. 11, p. 35–43, 2011.
- BONIN, A.; EHRICH, D.; MANEL, S. Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 16, n. 18, p. 3737–3758, 2007.
- CHEN, S. *et al.* Analysis of the genetic diversity of garlic (*Allium sativum* L.) by simple sequence repeat and inter simple sequence repeat analysis and agro-morphological traits. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s. l.], v. 55, p. 260–267, 2014.
- CHUONG, E. B.; ELDE, N. C.; FESCHOTTE, C. Regulatory activities of transposable elements: from conflicts to benefits. **Nature Reviews. Genetics**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 71–86, 2017.
- COLÍN-GONZÁLEZ, A. L. *et al.* The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcysteine-induced protection. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], 2012. Disponível em: Acesso em: 14 fev. 2024.

DA CUNHA, C. P. **Desenvolvimento de marcadores microsatélites e caracterização da diversidade genética de acessos de alho (*Allium sativum* L.)**. 2011. - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2011.

DE VAHL, E.; SVANBERG, I. Traditional uses and practices of edible cultivated *Allium* species (fam. Amaryllidaceae) in Sweden. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 14, 2022.

DJANIE, A.; HARPER, S.; CAVE, R. The Effect of Heat Treatments and Drip Line Placements on The Yield and Quality of Garlic. *In*: INTERNATIONAL TROPICAL AGRICULTURE CONFERENCE (TROPAG), 2020. **The Third International Tropical Agriculture Conference (TROPAG 2019)**. [S. l.]: MDPI, 2020. p. 120. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2504-3900/36/1/120>. Acesso em: 12 set. 2025.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. **Focus**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 13–15, 1990.

DUTILH, J. H. A. Amaryllidaceae. *In*: WANDERLEY, M. G. L. *et al.* (org.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2005. v. 4, p. 244–256.

EGEA, L. A. *et al.* Assessment of genetic diversity and structure of large garlic (*Allium sativum*) germplasm bank, by diversity arrays technology “genotyping-by-sequencing” platform (DArTseq). **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 8, n. JUL, p. 272084, 2017.

EL-SAADONY, M. T. *et al.* Garlic bioactive substances and their therapeutic applications for improving human health: a comprehensive review. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 15, p. 1277074, 2024.

EL-SAYED, H. S. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of garlic essential oils evaluated in organic solvent, emulsifying, and self-microemulsifying water based delivery systems. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 221, p. 196–204, 2017.

ELSHARKAWY, G. A. *et al.* Assessment of genetic diversity among Egyptian garlic landraces based on morphological characteristics and ISSR markers. **European Journal of Horticultural Science**, [s. l.], v. 86, n. 6, p. 579–589, 2021.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, [s. l.], v. 131, n. 2, p. 479–491, 1992.

EZEORBA, T. P. C. *et al.* Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent findings and future prospects. **Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine**, [s. l.], v. 3, p. 100075, 2022.

FAGUNDES, M. H. Análise Mensal: Alho, novembro de 2023. **Conab - Companhia Nacional de Abastecimento**, Brasília, DF, 2023.

FALEIRO, G. Caracterização de variedades clonais de *Theobroma cacao* L. com base em marcadores moleculares RAPD, AFLP e microsatélites. [s. l.], v. 13, p. 79–86, 2001.

FAO. **Work on climate change. Food and agriculture organization of the United Nations.** [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.fao.org/climate-change/en>. Acesso em: 30 maio 2024.

FAOSTAT. **FAOSTAT statistical database – Green garlic production, World, 2023 (estimated).** [S. l.]: FAO, 2025. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 16 jul. 2025.

FERREIRA, M. E; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética.** [S. l.]: [s. d.], 1998.

FLAVELL, A. J. *et al.* Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. **Plant Journal**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 643–650, 1998.

GARCIA-LAMPASONA, S. *et al.* Molecular Markers: Are They Really Useful to Detect Genetic Variability in Local Garlic Collections?. **The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology**, [s. l.], 2010.

GHALI, R. *et al.* LC-MS profiling and antioxidant, antifungal, and anticancer potentials of Tunisian *Allium sativum* L. extracts. **PLOS One**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. e0325227, 2025.

GIEHL, A. L. *et al.* **Hortaliças. Alho. in BOLETIM AGROPECUÁRIO Nº 131.** Florianópolis: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), 2024. Disponível em: <https://cepa.epagri.sc.gov.br>. .

GIMENEZ, M. D. *et al.* Assessment of genetic and epigenetic changes in virus-free garlic (*Allium sativum* L.) plants obtained by meristem culture followed by in vitro propagation. **Plant Cell Reports**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 129–141, 2016.

GOMES-VIANA, J. P. *et al.* Divergência genética em germoplasma de alho. **Ciencia Rural**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 203–209, 2016.

GOMES-VIANA, J. P. *et al.* Do the importations of crop products affect the genetic diversity from landraces? A study case in garlic (*Allium sativum* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 68, n. 3, p. 1199–1211, 2021.

GOWD, T. Y. M. *et al.* Deployment of Intron Length Polymorphic (ILP) markers in dissipating diversity of *Allium* species. **South African Journal of Botany**, [s. l.], v. 160, p. 157–165, 2023.

GRUENWALD, J. B. T.; JAENICKE, C. PDR for herbal medicines. *In*: [S. l.]: Medical Economics Co, 2000. p. 327–331.

GUGEL, J. T. Boletim Agropecuária: Alho. *In*: Florianópolis, SC: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), 2024.

GUGEL, J. T. Boletim agropecuário Nº 14- Junho/2025. **Boletim Agropecuário**, [s. l.], n. 145, p. 39–40, 2025.

GUGEL, J. T. Hortaliças. Alho. *In*: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – Epagri. Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola – Cepa. Epagri/Cepa. *In*: BOLETIM AGROPECUÁRIO. Florianópolis, SC: [s. d.], 2020. Disponível em: Acesso em: 26 jan. 2024.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, Galway, Ireland, 2001. Disponível em: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.

HAMRIGK, J. L.; GODT, M. J. W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 351, n. 1345, p. 1291–1298, 1996.

HAZEN, S. P.; LEROY, P.; WARD, R. W. AFLP in *Triticum aestivum* L.: Patterns of genetic diversity and genome distribution. **Euphytica**, [s. l.], v. 125, n. 1, p. 89–102, 2002.

HUANG, Q. R. *et al.* Species discrimination of mountain garlic based on the nrDNA ITS region sequence. **Indian Journal of Horticulture**, [s. l.], v. 77, n. 2, p. 293, 2020.

IPEK, M.; IPEK, A.; SIMON, P. W. Comparison of AFLPs, RAPD Markers, and Isozymes for Diversity Assessment of Garlic and Detection of Putative Duplicates in Germplasm Collections. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 128, n. 2, p. 246–252, 2003.

IPEK, M.; IPEK, A.; SIMON, P. W. Rapid characterization of garlic clones with locus-specific DNA markers. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 357–362, 2008.

JABLONKA, E.; RAZ, G. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Prevalence, Mechanisms, and Implications for the Study of Heredity and Evolution. **The Quarterly Review of Biology**, [s. l.], v. 84, n. 2, p. 131–176, 2009.

JIANG, S. *et al.* Primitive Genepools of Asian Pears and Their Complex Hybrid Origins Inferred from Fluorescent Sequence-Specific Amplification Polymorphism (SSAP) Markers Based on LTR Retrotransposons. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. e0149192, 2016.

JONES, M. G. *et al.* Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic. 2004. **Journal of Experimental Botany**. [S. l.]: [s. d.], 2004. p. 1903–1918.

JUNG, M. *et al.* Climate change impacts on *Allium* crop production: Insights from long-term observations in South Korea. **Heliyon**, [s. l.], v. 10, n. 14, p. e34749, 2024.

KALE, R. B. *et al.* Efficiency dynamics among onion growers in Maharashtra: a comparative analysis of drip irrigation adopters and non-adopters. **BMC Plant Biology**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 237, 2024.

KALENDAR, R. *et al.* Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers. **Heredity** **2011 106:4**, [s. l.], v. 106, n. 4, p. 520–530, 2011.

KALENDAR, R. *et al.* IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. **Theoretical and Applied Genetics**, [s. l.], v. 98, n. 5, p. 704–711, 1999.

KALIA, R. K. *et al.* Microsatellite markers: An overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, [s. l.], v. 177, n. 3, p. 309–334, 2011.

- KAMENETSKY, R. *et al.* Diversity in fertility potential and organo-sulphur compounds among garlics from Central Asia. **Biodiversity & Conservation**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 281–295, 2005.
- KAUSHIK, S. *et al.* Study of Genetic Diversity in Garlic (*Allium Sativum* L.) by Using Morphological Characters. **Progressive Agriculture**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 204, 2016.
- KHAR, A. *et al.* Breeding and Genomic Approaches for Climate-Resilient Garlic. In: KOLE, C. (org.). **Genomic Designing of Climate-Smart Vegetable Crops**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 359–383. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-97415-6_8. Acesso em: 25 jun. 2024.
- KHOURY, C. K. *et al.* Crop genetic erosion: understanding and responding to loss of crop diversity. **New Phytologist**, [s. l.], v. 233, n. 1, p. 84–118, 2022.
- KIRAC, H. *et al.* Morphological and molecular characterization of garlic (*Allium sativum* L.) genotypes sampled from Turkey. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 69, n. 5, p. 1833–1841, 2022.
- KUMAR, M. *et al.* Genetic diversity and population structure analysis of Indian garlic (*Allium sativum* L.) collection using SSR markers. **Physiology and molecular biology of plants : an international journal of functional plant biology**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 377–386, 2019.
- LAMPASONA, S. G.; MARTINEZ, L.; BURBA, J. L. Genetic diversity among selected Argentinean garlic clones (*Allium sativum* L.) using AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). [s. l.], p. 115–119, 2003.
- LATUTRIE, M.; GOURCILLEAU, D.; PUJOL, B. Epigenetic variation for agronomic improvement: an opportunity for vegetatively propagated crops. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 106, n. 10, p. 1281–1284, 2019.
- LLORENS, C. *et al.* The Gypsy Database (GyDB) of mobile genetic elements: release 2.0. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 39, n. Database, p. D70–D74, 2011.
- LOPES, W. A. *et al.* Produção de alho submetido a períodos de vernalização e épocas de plantio em região de clima semiárido. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 34, p. 249–256, 2016.
- LUCINI, M. A. **Alho Roxo no Brasil: Um pouco da história dos números desse nobre**. Brasília, DF: Anapa - Associação Nacional de Produtores de Alho, 2008.
- LYNCH, M.; MILLIGAN, B. G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 91–99, 1994.
- MA, K.-H. *et al.* Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci from the genome of garlic (*Allium sativum* L.). **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 122, n. 3, p. 355–361, 2009.
- MA, K. H. *et al.* Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci from the genome of garlic (*Allium sativum* L.). **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 122, n. 3, p. 355–361, 2009.

MALIK, G.; DHATT, A. S.; MALIK, A. A. A Review of Genetic Understanding and Amelioration of Edible Allium Species. **Food Reviews International**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 415–446, 2021.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer research**, [s. l.], 1967. Disponível em: <https://www.scienceopen.com/document?vid=78d3af35-cb11-4efe-b531-f407df1ec6b5>. Acesso em: 24 jan. 2025.

MAPA. Produção e Comércio Mundial de Alho. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/capadr/apresentacoes-em-eventos/audiencias-publicas-2019/audiencia-publica-25-de-abril-de-2019-mapa>.

MARCHESE, A. *et al.* Antifungal and antibacterial activities of allicin: A review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 52, p. 49–56, 2016.

MEHRA, R. *et al.* Transcriptome analysis of Snow Mountain Garlic for unraveling the organosulfur metabolic pathway. **Genomics**, [s. l.], v. 112, n. 1, p. 99–107, 2020.

MEUDT, H. M.; CLARKE, A. C. Almost Forgotten or Latest Practice? AFLP applications, analyses and advances. **Trends in Plant Science**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 106–117, 2007.

MOTA, J. H. *et al.* Diversidade genética de cultivares de alho (*Allium sativum* L.) por meio de marcador molecular rapd. **Ciência e Agrotecnologia**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 764–770, 2004.

MOTA, J. H. *et al.* Similaridade genética de cultivares de alho pela comparação de caracteres morfológicos, físico-químicos, produtivos e moleculares. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 156–160, 2006.

NADEEM, M. A. *et al.* DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 261–285, 2018.

OKORO, B. C. *et al.* The ethnobotanical, bioactive compounds, pharmacological activities and toxicological evaluation of garlic (*Allium sativum*): A review. **Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine**, [s. l.], v. 8, p. 100273, 2023.

OKSANEN, J. *et al.* Vegan: Community Ecology Package. **R Package Version 2.2-1**, [s. l.], v. 2, p. 1–2, 2015.

OLIVA, A. F. *et al.* ANÁLISE DE CUSTOS E LUCRATIVIDADE DA CULTURA DO ALHO. **Colloquium Agrariae**, [s. l.], v. 13, p. 1809–8215, 2017.

OVESNÁ, J.; MITROVÁ, K.; KUČERA, L. Garlic (*A. sativum* L.) alliinase gene family polymorphism reflects bolting types and cysteine sulphoxides content. **BMC Genetics**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–10, 2015.

PANTHEE, D. R. *et al.* Diversity analysis of garlic (*Allium sativum* L.) germplasms available in Nepal based on morphological characters. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 205–212, 2006.

PAPADOPOULOU, A. *et al.* Phenotypic, Biochemical, and Molecular Diversity Within a Local Emblematic Greek *Allium sativum* L. Variety. **Horticulturae**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 304, 2025.

PAPAIIOANNOU, C. *et al.* Evaluation of the Genetic Diversity of Greek Garlic (*Allium sativum* L.) Accessions Using DNA Markers and Association with Phenotypic and Chemical Variation. **Agriculture (Switzerland)**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1408, 2023.

PARREÑO, R. *et al.* Turning Garlic into a Modern Crop: State of the Art and Perspectives. **Plants**, [s. l.], v. 12, n. 6, 2023.

PASUPULA, K. *et al.* Morphological, biochemical and molecular characterization of short-day tropical Indian garlic (*Allium sativum* L.). **Heliyon**, [s. l.], v. 10, n. 18, p. e37553, 2024.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 28, n. 19, p. 2537, 2012.

PEÑA-IGLESIAS, A. El ajo: virosis, fisiopatías y selección clonal y sanitaria. I Parte teóricodescriptiva. **Bol. Sanid. Veg.**, [s. l.], v. 14, p. 461–483, 1988.

PEŠKA, V. *et al.* Comparative Dissection of Three Giant Genomes: *Allium cepa*, *Allium sativum*, and *Allium ursinum*. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 733, 2019.

PETROVSKA, B. *et al.* Extracts from the History and Medical Properties of Garlic. **Pharmacognosy Review**, [s. l.], v. 4, n. 7, p. 106–110, 2010.

POLJUHA, D. *et al.* Genetic diversity and structure analysis of Croatian garlic collection assessed by SSR markers. **Folia Horticulturae**, [s. l.], v. 0, n. 0, 2021. Disponível em: Acesso em: 21 jun. 2021.

RESENDE, F. V. *et al.* A CULTURA DO ALHO. **Embrapa Hortaliças**, [s. l.], 2020. Disponível em: Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/alho/cultivares>. Acesso em: 26 jan. 2024.

RESENDE, J. T. V. *et al.* Caracterização morfológica, produtividade e rendimento comercial de cultivares de alho. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 31, p. 157–162, 2013.

RESENDE, F. V.; NASSUR, R. de C. M. R.; HABER, Lenita. L. Cultivares recomendados. *In*: ALHO: DO PLANTIO À COLHEITA. 1. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. p. 68–90.

RESENDE, Francisco Vilela; NASSUR, R. de C. M. R.; HABER, L. L. Cultivares recomendados. *In*: NICK, C.; BORÉM, A. (org.). **Alho: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2017. p. 67–90.

RIVLIN, R. S. Historical Perspective on the Use of Garlic. **The Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 131, n. 3, p. 951S-954S, 2001.

SAHIDUR, M. R.; ISLAM, S.; JAHURUL, M. H. A. Garlic (*Allium sativum*) as a natural antidote or a protective agent against diseases and toxicities: A critical review. **Food Chemistry Advances**, [s. l.], v. 3, p. 100353, 2023.

SAMBROOK J; RUSSELL D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. **Cold Spring Harboc Laboratory Press**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 999, 2001.

SCHULMAN, A. H. *et al.* The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. **Methods in Molecular Biology**, [s. l.], v. 859, p. 115–153, 2012.

SHAAF, S. *et al.* Genetic structure and eco-geographical adaptation of garlic landraces (*Allium sativum* L.) in Iran. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 61, n. 8, p. 1565–1580, 2014.

SILVA, N. ANÁLISE DO RESULTADO FINANCEIRO DO CULTIVO DE ALHO: ESTUDO EM PROPRIEDADES RURAIS DE PEQUENO PORTE DE SANTA CATARINA. **Revista do CCEI**, [s. l.], v. 22, n. 37, p. 19–36, 2017.

SINGH, L.; KAUL, V.; GOHIL, R. N. Analysis of morphological variability in the Indian germplasm of *Allium sativum* L. **Plant Systematics and Evolution**, [s. l.], v. 300, n. 2, p. 245–254, 2014.

STAVĚLÍKOVÁ, H. Morphological characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) genetic resources collection - Information. **Horticultural Science**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 130–135, 2008.

SUN, X. *et al.* A Chromosome-Level Genome Assembly of Garlic (*Allium sativum*) Provides Insights into Genome Evolution and Allicin Biosynthesis. **Molecular Plant**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 1328–1339, 2020.

TAHA, N. M.; ABD-ELRAHMAN, S. H.; HASHEM, F. A. Improving yield and quality of garlic (*Allium sativum* L.) under water stress conditions. [s. l.], 2019.

TOSCANO, S. *et al.* Effect of Preharvest Abiotic Stresses on the Accumulation of Bioactive Compounds in Horticultural Produce. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 10, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.01212/full>. Acesso em: 30 maio 2024.

VAVILOV, N. I. **The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants**. [S. l.]: Chronica Botanica, 1951. v. 13

VEKEMANS, X. *et al.* Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 139–151, 2002.

VIEIRA, R. L.; NODARI, R. O. Diversidade genética de cultivares de alho avaliada por marcadores RAPD. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 51–57, 2007.

VOLK, G. M.; HENK, A. D.; RICHARDS, C. M. Genetic Diversity among U.S. Garlic Clones as Detected Using AFLP Methods. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 129, n. 4, p. 559–569, 2004.

VOS, P. *et al.* AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. [s. l.], v. 23, n. 21, p. 4407–4414, 1995.

WAQAS, M. A. *et al.* Potential Mechanisms of Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants Induced by Thiourea. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 10, 2019. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.01336/full>. Acesso em: 17 ago. 2024.

WAUGH, R. *et al.* Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP). **Molecular & general genetics: MGG**, [s. l.], v. 253, n. 6, p. 687–694, 1997.

YAREGAL, Y.; SIME, G. Traditional home garden agro-biodiversity dynamics, agro-ecosystem services, and management practices in smallholder farmers setting, South-Central Ethiopia. **Food and Energy Security**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. e569, 2024.

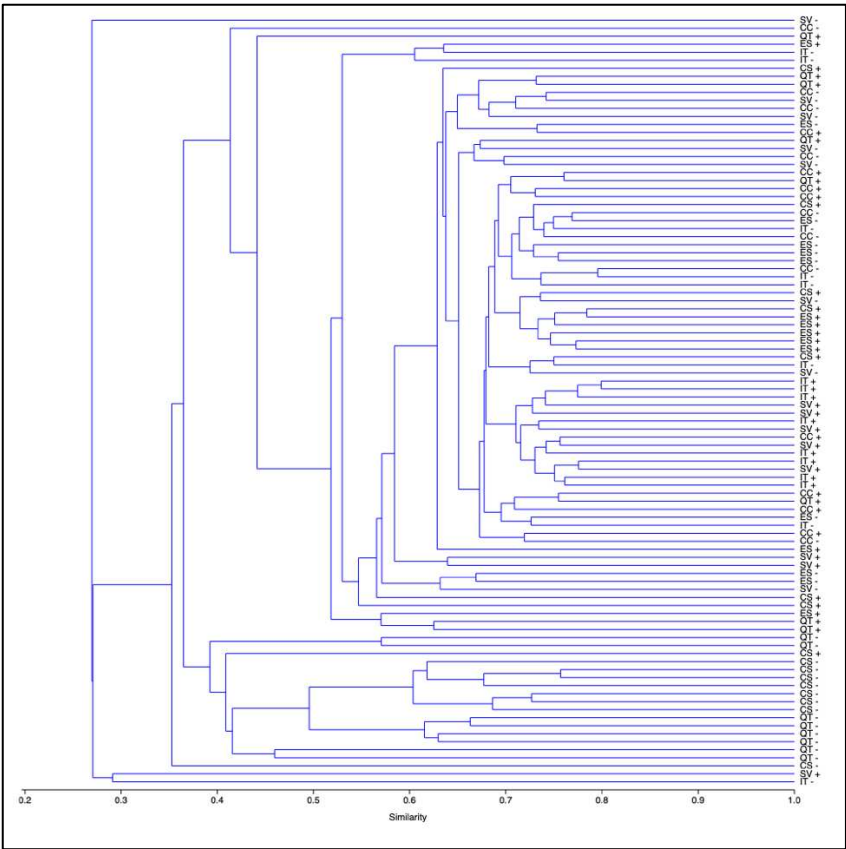
ZHANG, H.; LANG, Z.; ZHU, J.-K. Dynamics and function of DNA methylation in plants. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 19, n. 8, p. 489–506, 2018.

ZOHARY, D.; HOPF, M.; WEISS, E. **Domestication of Plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin**. [S. l.]: Oxford University Press, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/book/11300>. Acesso em: 10 set. 2025.

0,018	0,017	0,010	0,023	0,000								QT +
0,022	0,018	0,018	0,021	0,018	0,000							SV +
0,016	0,018	0,018	0,019	0,021	0,026	0,000						CC -
0,088	0,058	0,065	0,091	0,066	0,058	0,075	0,000					CS -
0,019	0,021	0,020	0,030	0,023	0,030	0,021	0,074	0,000				ES -
0,023	0,014	0,016	0,029	0,015	0,017	0,019	0,051	0,017	0,000			IT -
0,077	0,050	0,052	0,079	0,056	0,043	0,067	0,021	0,070	0,041	0,000		QT -
0,022	0,012	0,013	0,025	0,018	0,018	0,016	0,062	0,024	0,015	0,046	0,000	SV -

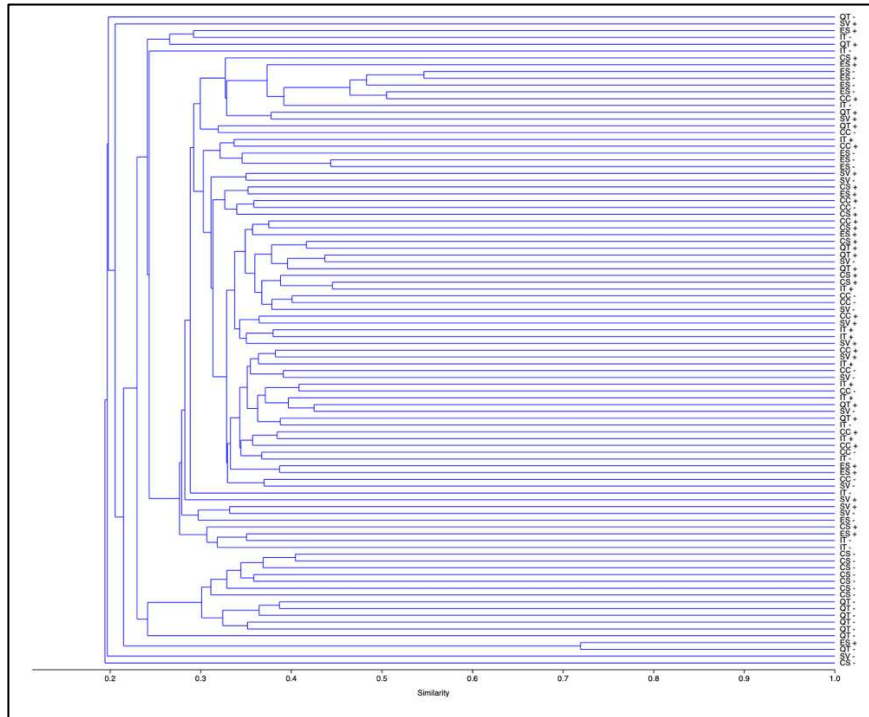
CC = Caçador; CS = Contestado; ES = Esmeralda; IT = Ito; QT = Quitéria; SV = San Valentin; “+” = Plus; “-” = Minus. Fonte: Autor, 2025.

Figura S1 - Dendrograma UPGMA gerado a partir do coeficiente de Jaccard entre os indivíduos das populações clonais (PCs), usando **AFLP**.



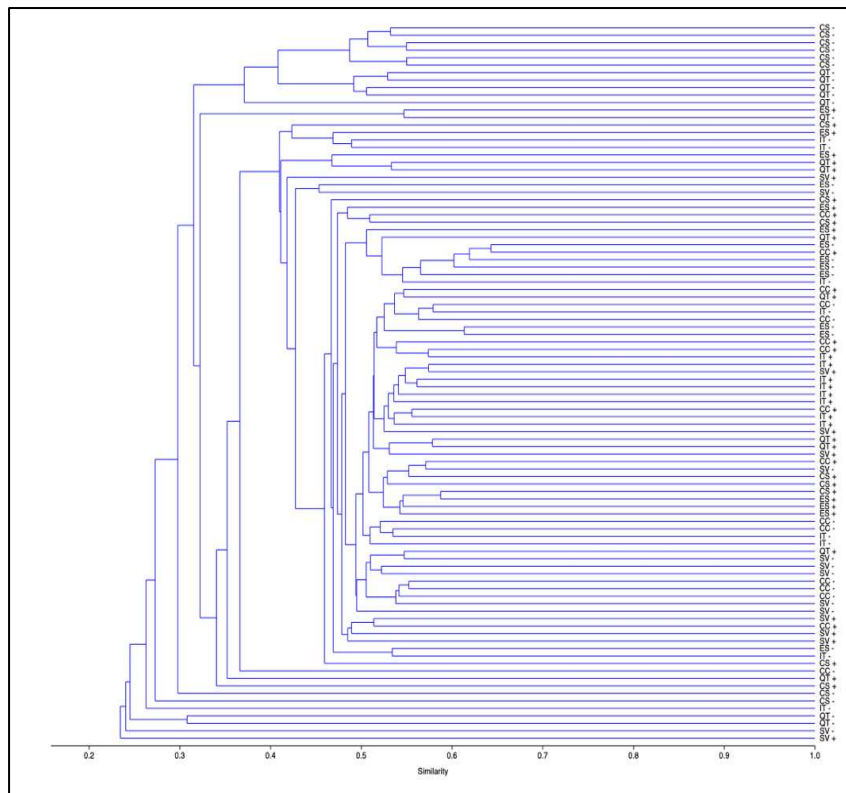
Fonte: Autor, 2025.

Figura S2 - Dendrograma UPGMA gerado a partir do coeficiente de Jaccard entre os indivíduos das populações clonais (PCs), usando **S-SAP**.



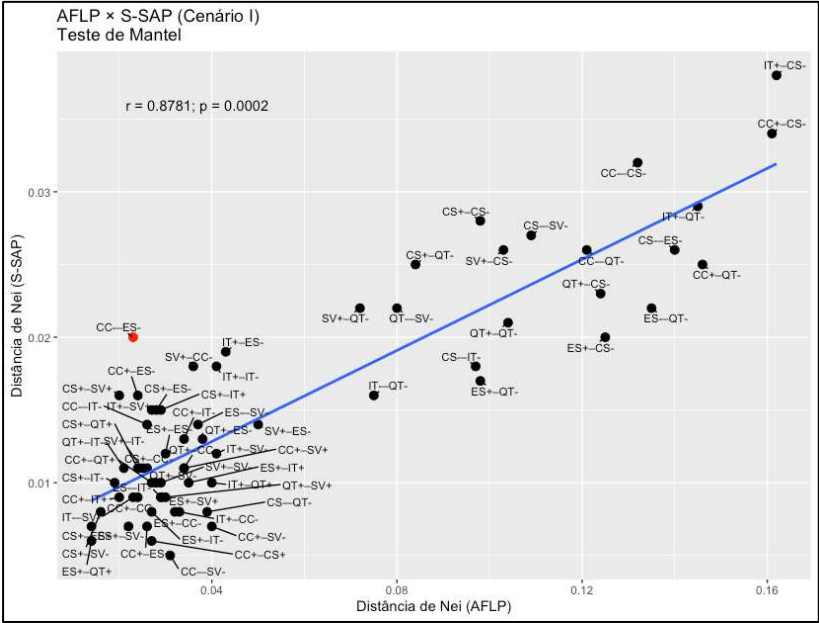
Fonte: Autor, 2025.

Figura S3 - Dendrograma UPGMA gerado a partir do coeficiente de Jaccard entre os indivíduos das populações clonais (PCs), usando AFLP + S-SAP.



Fonte: Autor, 2025.

Figura S4 - Correlação entre as matrizes de distância genética (Nei) obtidas com AFLP (eixo x) e S-SAP (eixo y) para o Cenário 1 (cultivares com seleções Plus e Minus).



Fonte: Autor, 2025.

Cenário II - apenas cultivares Plus

Tabela S4 - Matriz de distância genética de Nei entre as cultivares Plus de *Allium sativum* L., com base nos marcadores AFLP.

CH +	SV +	IT +	QT +	JN +	CC +	ES +	CS +	
0,000								CH +
0,015	0,000							SV +
0,047	0,026	0,000						IT +
0,044	0,028	0,038	0,000					QT +
0,070	0,044	0,028	0,025	0,000				JN +
0,058	0,033	0,020	0,026	0,009	0,000			CC +
0,036	0,027	0,033	0,013	0,032	0,025	0,000		ES +
0,028	0,019	0,028	0,023	0,029	0,026	0,013	0,000	CS +

CH = Chonan; SV = São Valentin; IT = Ito; QT = Quitéria; JN = Jonas; CC = Caçador; ES = Esmeralda; CS = Contestado; “+” = Plus. Fonte: Autor, 2025.

Tabela S5 - Matriz de distância genética de Nei entre as cultivares Plus de *Allium sativum* L., com base nos marcadores S-SAP.

CH +	SV +	IT +	QT +	JN +	CC +	ES +	CS +	
0,000								CH +
0,007	0,000							SV +
0,016	0,014	0,000						IT +
0,013	0,009	0,009	0,000					QT +
0,022	0,016	0,011	0,012	0,000				JN +

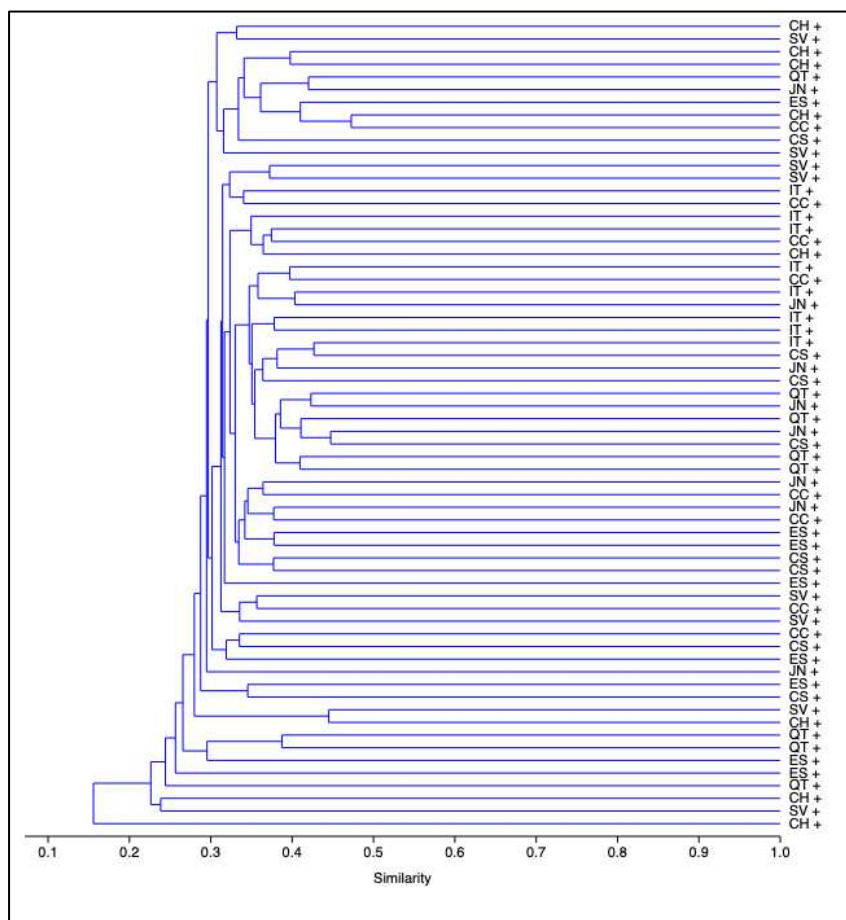
0,018	0,011	0,009	0,010	0,007	0,000			CC +
0,012	0,009	0,009	0,006	0,011	0,007	0,000		ES +
0,021	0,015	0,014	0,011	0,006	0,006	0,007	0,000	CS +

CH = Chonan; SV = São Valentin; IT = Ito; QT = Quitéria; JN = Jonas; CC = Caçador; ES = Esmeralda; CS = Contestado; “+” = Plus. Fonte: Autor, 2025.

Tabela S6 - Matriz de distância genética de Nei entre as cultivares Plus de *Allium sativum* L., com base nos marcadores **AFLP + S-SAP**.

CH +	SV +	IT +	QT +	JN +	CC +	ES +	CS +	
0,000								CH +
0,010	0,000							SV +
0,030	0,020	0,000						IT +
0,026	0,018	0,022	0,000					QT +
0,043	0,029	0,019	0,018	0,000				JN +
0,036	0,021	0,014	0,017	0,008	0,000			CC +
0,023	0,017	0,020	0,009	0,020	0,015	0,000		ES +
0,024	0,017	0,020	0,016	0,016	0,015	0,010	0,000	CS +

CH = Chonan; SV = São Valentin; IT = Ito; QT = Quitéria; JN = Jonas; CC = Caçador; ES = Esmeralda; CS = Contestado; “+” = Plus. Fonte: Autor, 2025.



Fonte: Autor, 2025.

Figura S7 - Dendrograma UPGMA gerado a partir do coeficiente de Jaccard para as cultivares Plus, usando AFLP + S-SAP.

0,022	0,016	0,011	0,012	0,000													JN +
0,018	0,011	0,009	0,010	0,007	0,000												CC +
0,012	0,009	0,009	0,006	0,011	0,007	0,000											ES +
0,021	0,015	0,014	0,011	0,006	0,006	0,007	0,000										CS +
0,011	0,010	0,012	0,010	0,012	0,007	0,007	0,008	0,000									SV -
0,020	0,017	0,008	0,010	0,012	0,009	0,007	0,010	0,005	0,000								CC -
0,012	0,011	0,017	0,010	0,016	0,013	0,007	0,010	0,008	0,012	0,000							IT -
0,015	0,014	0,017	0,012	0,019	0,015	0,012	0,014	0,013	0,018	0,009	0,000						ES -
0,020	0,022	0,027	0,021	0,028	0,024	0,016	0,024	0,021	0,024	0,016	0,022	0,000					QT -
0,025	0,025	0,034	0,023	0,035	0,033	0,019	0,027	0,026	0,030	0,018	0,027	0,007	0,000				CS -

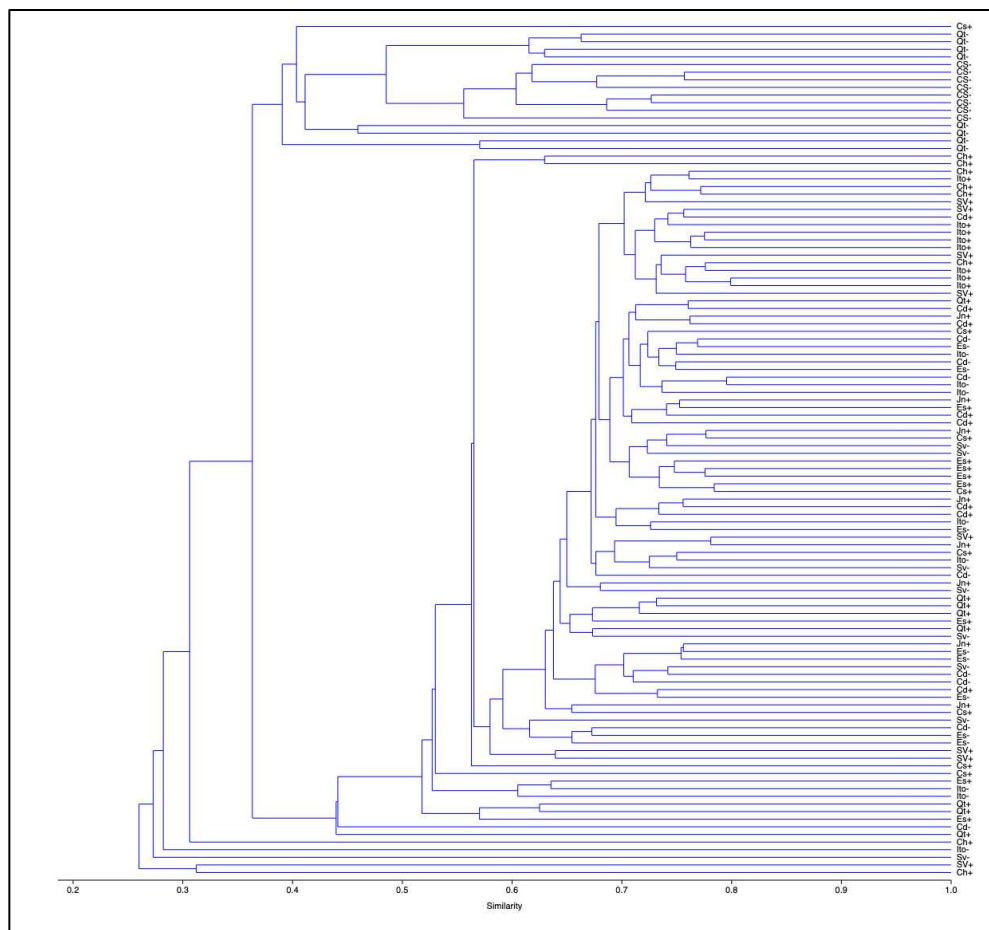
CH = Chonan; SV = São Valentin; IT = Ito; QT = Quitéria; JN = Jonas; CC = Caçador; ES = Esmeralda; CS = Contestado; “+” = Plus; “-” = Minus. Fonte: Autor, 2025.

Tabela S9 - Matriz de distância genética de Nei entre todas as cultivares de *Allium sativum* L., com base nos marcadores AFLP + **S-SAP**.

CH +	SV +	IT +	QT +	JN +	CC +	ES +	CS +	SV -	CC -	IT -	ES -	QT -	CS -	
0,000														CH +
0,010	0,000													SV +
0,030	0,020	0,000												IT +
0,026	0,018	0,022	0,000											QT +
0,043	0,029	0,019	0,018	0,000										JN +
0,036	0,021	0,014	0,017	0,008	0,000									CC +
0,023	0,017	0,020	0,009	0,020	0,015	0,000								ES +
0,024	0,017	0,020	0,016	0,016	0,015	0,010	0,000							CS +
0,020	0,017	0,024	0,018	0,024	0,021	0,013	0,012	0,000						SV -
0,040	0,029	0,018	0,021	0,015	0,013	0,018	0,019	0,018	0,000					CC -
0,022	0,016	0,027	0,015	0,023	0,022	0,015	0,013	0,014	0,020	0,000				IT -
0,036	0,029	0,028	0,023	0,023	0,019	0,019	0,020	0,023	0,018	0,017	0,000			ES -
0,034	0,042	0,076	0,054	0,078	0,075	0,050	0,048	0,045	0,077	0,040	0,069	0,000		QT -
0,050	0,056	0,087	0,063	0,084	0,086	0,062	0,056	0,060	0,084	0,050	0,073	0,020	0,000	CS -

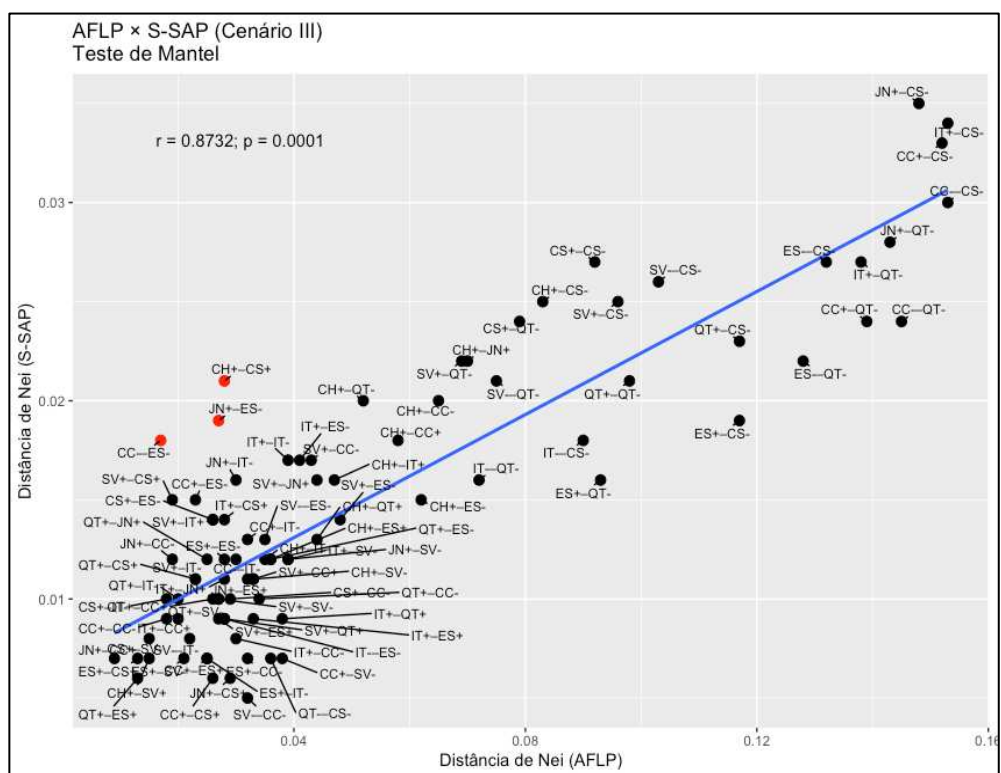
CH = Chonan; SV = São Valentin; IT = Ito; QT = Quitéria; JN = Jonas; CC = Caçador; ES = Esmeralda; CS = Contestado; “+” = Plus; “-” = Minus. Fonte: Autor, 2025.

Figura S9 - Dendrograma UPGMA gerado a partir do coeficiente de Jaccard para todas as cultivares, usando AFLP.



Fonte: Autor, 2025.

Figura S10 - Dendrograma UPGMA gerado a partir do coeficiente de Jaccard para todas as cultivares, usando S-SAP.



6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

A presente tese integrou diferentes abordagens de caracterização (bibliográfica, química, morfológica e genético-molecular) para compreender a base de diversidade e o valor estratégico das cultivares de alho roxo nobre do Planalto Catarinense. Os resultados obtidos evidenciam que a singularidade do alho catarinense decorre de uma combinação de fatores genéticos, ecofisiológicos e sociotécnicos, os quais sustentam tanto a identidade regional do produto quanto sua relevância como patrimônio agrícola brasileiro.

A revisão integrativa (capítulo I) revelou avanços metodológicos e lacunas no uso de marcadores moleculares em *Allium sativum* L., destacando a transição de estudos descritivos para análises integrativas, capazes de associar dados genéticos, químicos e funcionais. Também demonstrou que a adoção de abordagens multi-marcadores e o uso de tecnologia de genotipagem de alto rendimento representam o próximo passo para refinar a compreensão da diversidade genética e a dinâmica somaclonal da espécie.

O artigo publicado na *Pesquisa Agropecuária Brasileira* (capítulo II) confirmou por meio de marcadores SSR, que o alho roxo do Planalto Catarinense mantém base genética comum ao cultivado no Centro-Oeste e Sudeste, mas expressa singularidades fenotípicas e químicas consistente com o conceito de *terroir*. As diferenças colorimétricas e na concentração de compostos sulfurados reforçam o potencial do produto para reconhecimento por Indicação Geográfica (IG), ao mesmo tempo em que validam o papel das condições edafoclimáticas e do tradicional manejo familiar na construção da identidade local.

No capítulo III, as análises com os marcadores dominantes (AFLP e S-SAP) revelaram que a variabilidade genética se concentra dentro das próprias cultivares, com ausência de diferenciação marcante entre as seleções fenotípicas e cultivares nomeadas. Esse padrão é coerente com a propagação clonal e com a origem comum do germoplasma regional. As pequenas variações refletem mutações somáticas, modificações epigenéticas e trocas de material entre agricultores (fatores que mantêm diversidade funcional dentro de um mesmo fundo genético).

Em conjunto, os resultados reafirmam que o alho nobre catarinense constitui um grupo varietal coeso e de base genética compartilhada, cuja diferenciação se expressa predominante e nível fenotípico e adaptativo. Essa constatação tem implicações diretas para o manejo do germoplasma, delineamento de bancos de conservação e auxílio para estruturação para políticas em prol da cadeia produtiva do alho, como reconhecimento da qualidade e tradição do produto catarinense.

Do ponto de vista, prático, a tese fornece uma linha de base genética para o programa participativo de melhoramento do alho catarinense, servindo como referência inicial para seleção clonal, monitoramento da diversidade e o desenvolvimento de estratégias de conservação. Ademais, ao evidenciar a coerência entre identidade genética e atributos de qualidade, o estudo oferece suporte técnico-científico à obtenção da Denominação de Origem pretendida para o “Alho Roxo do Planalto Catarinense”.

Para o futuro, recomenda-se:

- ampliar o número de genótipos e ciclos de amostragem, incorporando análises temporais de diversidade e avaliando possíveis efeitos de deriva clonal;
- integrar marcadores codominantes e genotipagem de alto rendimento, permitindo associar variantes genéticas a características agronômicas e bioquímicas de interesse;
- explorar abordagens epigenéticas e transcriptômicas, visando compreender os mecanismos moleculares subjacentes às diferenças fenotípicas entre clones;
- fortalecer o diálogo já existente entre comunidade e universidade (ciência e território), na busca de soluções e principalmente valorização da cultura local.

REFERÊNCIAS

- AL JBAWI, E. Effect of Climate Change on Agriculture. **International Journal of Environment**, [s. l.], v. 9, n. 1, 2020. Disponível em: <https://34.22.156.254/index.php/IJE/article/view/27653>. Acesso em: 12 set. 2025.
- ANANDHAN, S. *et al.* Retrotransposon based TRAP marker displays diversity among onion (*Allium cepa* L.) genotypes. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 190, p. 123–127, 2015.
- ARAÚJO, N. M. de *et al.* A cultura. In: NICK, C.; BORÉM, A. (org.). **Alho: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2017. p. 9–14.
- ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Reporter**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 208–218, 1991.
- ARVAS, Y. E. *et al.* The power of retrotransposons in high-throughput genotyping and sequencing. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 14, p. 1174339, 2023.
- AVIELLO, G. *et al.* Garlic: Empiricism or Science?. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 4, n. 12, 2009.
- BARBOZA, K. *et al.* Assessment of genetic diversity and population structure in a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection varying in bulb content of pyruvate, phenolics, and solids. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 261, 2020.
- BATZER, M. A. Mobile DNA: Finding Treasure in Junk. **American Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 5, 2013.
- BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. de. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 27, p. 513–520, 1997.
- BISOGNIN, D. A. Breeding vegetatively propagated horticultural crops. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, [s. l.], v. 11, p. 35–43, 2011.
- BONIN, A.; EHRICH, D.; MANEL, S. Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 16, n. 18, p. 3737–3758, 2007.
- CHEN, S. *et al.* Analysis of the genetic diversity of garlic (*Allium sativum* L.) by simple sequence repeat and inter simple sequence repeat analysis and agro-morphological traits. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s. l.], v. 55, p. 260–267, 2014.
- CHUONG, E. B.; ELDE, N. C.; FESCHOTTE, C. Regulatory activities of transposable elements: from conflicts to benefits. **Nature Reviews. Genetics**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 71–86, 2017.
- COLÍN-GONZÁLEZ, A. L. *et al.* The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcysteine-induced protection. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], 2012. Disponível em: Acesso em: 14 fev. 2024.

DA CUNHA, C. P. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização da diversidade genética de acessos de alho (*Allium sativum* L.)**. 2011. - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2011.

DE VAHL, E.; SVANBERG, I. Traditional uses and practices of edible cultivated *Allium* species (fam. Amaryllidaceae) in Sweden. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 14, 2022.

DJANIE, A.; HARPER, S.; CAVE, R. The Effect of Heat Treatments and Drip Line Placements on The Yield and Quality of Garlic. *In*: INTERNATIONAL TROPICAL AGRICULTURE CONFERENCE (TROPAG), 2020. **The Third International Tropical Agriculture Conference (TROPAG 2019)**. [S. l.]: MDPI, 2020. p. 120. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2504-3900/36/1/120>. Acesso em: 12 set. 2025.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. **Focus**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 13–15, 1990.

DUTILH, J. H. A. Amaryllidaceae. *In*: WANDERLEY, M. G. L. *et al.* (org.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2005. v. 4, p. 244–256.

EGEA, L. A. *et al.* Assessment of genetic diversity and structure of large garlic (*Allium sativum*) germplasm bank, by diversity arrays technology “genotyping-by-sequencing” platform (DArTseq). **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 8, n. JUL, p. 272084, 2017.

EL-SAADONY, M. T. *et al.* Garlic bioactive substances and their therapeutic applications for improving human health: a comprehensive review. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 15, p. 1277074, 2024.

EL-SAYED, H. S. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of garlic essential oils evaluated in organic solvent, emulsifying, and self-microemulsifying water based delivery systems. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 221, p. 196–204, 2017.

ELSHARKAWY, G. A. *et al.* Assessment of genetic diversity among Egyptian garlic landraces based on morphological characteristics and ISSR markers. **European Journal of Horticultural Science**, [s. l.], v. 86, n. 6, p. 579–589, 2021.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, [s. l.], v. 131, n. 2, p. 479–491, 1992.

EZEORBA, T. P. C. *et al.* Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent findings and future prospects. **Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine**, [s. l.], v. 3, p. 100075, 2022.

FAGUNDES, M. H. Análise Mensal: Alho, novembro de 2023. **Conab - Companhia Nacional de Abastecimento**, Brasília, DF, 2023.

FALEIRO, G. Caracterização de variedades clonais de *Theobroma cacao* L. com base em marcadores moleculares RAPD, AFLP e microssatélites. [s. l.], v. 13, p. 79–86, 2001.

FAO. **Work on climate change. Food and agriculture organization of the United Nations.** [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.fao.org/climate-change/en>. Acesso em: 30 maio 2024.

FAOSTAT. **FAOSTAT statistical database – Green garlic production, World, 2023 (estimated).** [S. l.]: FAO, 2025. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 16 jul. 2025.

FERREIRA, M. E; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética.** [S. l.]: [s. d.], 1998.

FLAVELL, A. J. *et al.* Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. **Plant Journal**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 643–650, 1998.

GARCIA-LAMPASONA, S. *et al.* Molecular Markers: Are They Really Useful to Detect Genetic Variability in Local Garlic Collections?. **The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology**, [s. l.], 2010.

GHALI, R. *et al.* LC-MS profiling and antioxidant, antifungal, and anticancer potentials of Tunisian *Allium sativum* L. extracts. **PLOS One**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. e0325227, 2025.

GIEHL, A. L. *et al.* **Hortaliças. Alho. in BOLETIM AGROPECUÁRIO Nº 131.** Florianópolis: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), 2024. Disponível em: <https://cepa.epagri.sc.gov.br>. .

GIMENEZ, M. D. *et al.* Assessment of genetic and epigenetic changes in virus-free garlic (*Allium sativum* L.) plants obtained by meristem culture followed by in vitro propagation. **Plant Cell Reports**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 129–141, 2016.

GOMES-VIANA, J. P. *et al.* Divergência genética em germoplasma de alho. **Ciencia Rural**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 203–209, 2016.

GOMES-VIANA, J. P. *et al.* Do the importations of crop products affect the genetic diversity from landraces? A study case in garlic (*Allium sativum* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 68, n. 3, p. 1199–1211, 2021.

GOWD, T. Y. M. *et al.* Deployment of Intron Length Polymorphic (ILP) markers in dissipating diversity of *Allium* species. **South African Journal of Botany**, [s. l.], v. 160, p. 157–165, 2023.

GRUENWALD, J. B. T.; JAENICKE, C. PDR for herbal medicines. *In*: [S. l.]: Medical Economics Co, 2000. p. 327–331.

GUGEL, J. T. Boletim Agropecuária: Alho. *In*: Florianópolis, SC: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), 2024.

GUGEL, J. T. Boletim agropecuário Nº 14- Junho/2025. **Boletim Agropecuário**, [s. l.], n. 145, p. 39–40, 2025.

GUGEL, J. T. Hortaliças. Alho. *In*: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – Epagri. Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola – Cepa. Epagri/Cepa. *In*: BOLETIM AGROPECUÁRIO. Florianópolis, SC: [s. d.], 2020. Disponível em: Acesso em: 26 jan. 2024.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, Galway, Ireland, 2001. Disponível em: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.

HAMRIGK, J. L.; GODT, M. J. W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 351, n. 1345, p. 1291–1298, 1996.

HAZEN, S. P.; LEROY, P.; WARD, R. W. AFLP in *Triticum aestivum* L.: Patterns of genetic diversity and genome distribution. **Euphytica**, [s. l.], v. 125, n. 1, p. 89–102, 2002.

HUANG, Q. R. *et al.* Species discrimination of mountain garlic based on the nrDNA ITS region sequence. **Indian Journal of Horticulture**, [s. l.], v. 77, n. 2, p. 293, 2020.

IPEK, M.; IPEK, A.; SIMON, P. W. Comparison of AFLPs, RAPD Markers, and Isozymes for Diversity Assessment of Garlic and Detection of Putative Duplicates in Germplasm Collections. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 128, n. 2, p. 246–252, 2003.

IPEK, M.; IPEK, A.; SIMON, P. W. Rapid characterization of garlic clones with locus-specific DNA markers. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 357–362, 2008.

JABLONKA, E.; RAZ, G. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Prevalence, Mechanisms, and Implications for the Study of Heredity and Evolution. **The Quarterly Review of Biology**, [s. l.], v. 84, n. 2, p. 131–176, 2009.

JIANG, S. *et al.* Primitive Genepools of Asian Pears and Their Complex Hybrid Origins Inferred from Fluorescent Sequence-Specific Amplification Polymorphism (SSAP) Markers Based on LTR Retrotransposons. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. e0149192, 2016.

JONES, M. G. *et al.* Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic. 2004. **Journal of Experimental Botany**. [S. l.]: [s. d.], 2004. p. 1903–1918.

JUNG, M. *et al.* Climate change impacts on *Allium* crop production: Insights from long-term observations in South Korea. **Heliyon**, [s. l.], v. 10, n. 14, p. e34749, 2024.

KALE, R. B. *et al.* Efficiency dynamics among onion growers in Maharashtra: a comparative analysis of drip irrigation adopters and non-adopters. **BMC Plant Biology**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 237, 2024.

KALENDAR, R. *et al.* Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers. **Heredity** **2011 106:4**, [s. l.], v. 106, n. 4, p. 520–530, 2011.

KALENDAR, R. *et al.* IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. **Theoretical and Applied Genetics**, [s. l.], v. 98, n. 5, p. 704–711, 1999.

KALIA, R. K. *et al.* Microsatellite markers: An overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, [s. l.], v. 177, n. 3, p. 309–334, 2011.

KAMENETSKY, R. *et al.* Diversity in fertility potential and organo-sulphur compounds among garlics from Central Asia. **Biodiversity & Conservation**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 281–295, 2005.

KAUSHIK, S. *et al.* Study of Genetic Diversity in Garlic (*Allium Sativum* L.) by Using Morphological Characters. **Progressive Agriculture**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 204, 2016.

KHAR, A. *et al.* Breeding and Genomic Approaches for Climate-Resilient Garlic. In: KOLE, C. (org.). **Genomic Designing of Climate-Smart Vegetable Crops**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 359–383. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-97415-6_8. Acesso em: 25 jun. 2024.

KHOURY, C. K. *et al.* Crop genetic erosion: understanding and responding to loss of crop diversity. **New Phytologist**, [s. l.], v. 233, n. 1, p. 84–118, 2022.

KIRAC, H. *et al.* Morphological and molecular characterization of garlic (*Allium sativum* L.) genotypes sampled from Turkey. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 69, n. 5, p. 1833–1841, 2022.

KUMAR, M. *et al.* Genetic diversity and population structure analysis of Indian garlic (*Allium sativum* L.) collection using SSR markers. **Physiology and molecular biology of plants : an international journal of functional plant biology**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 377–386, 2019.

LAMPASONA, S. G.; MARTINEZ, L.; BURBA, J. L. Genetic diversity among selected Argentinean garlic clones (*Allium sativum* L.) using AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). [s. l.], p. 115–119, 2003.

LATUTRIE, M.; GOURCILLEAU, D.; PUJOL, B. Epigenetic variation for agronomic improvement: an opportunity for vegetatively propagated crops. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 106, n. 10, p. 1281–1284, 2019.

LLORENS, C. *et al.* The Gypsy Database (GyDB) of mobile genetic elements: release 2.0. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 39, n. Database, p. D70–D74, 2011.

LOPES, W. A. *et al.* Produção de alho submetido a períodos de vernalização e épocas de plantio em região de clima semiárido. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 34, p. 249–256, 2016.

LUCINI, M. A. **Alho Roxo no Brasil: Um pouco da história dos números desse nobre**. Brasília, DF: Anapa - Associação Nacional de Produtores de Alho, 2008.

LYNCH, M.; MILLIGAN, B. G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 91–99, 1994.

MA, K.-H. *et al.* Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci from the genome of garlic (*Allium sativum* L.). **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 122, n. 3, p. 355–361, 2009.

MA, K. H. *et al.* Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci from the genome of garlic (*Allium sativum* L.). **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 122, n. 3, p. 355–361, 2009.

MALIK, G.; DHATT, A. S.; MALIK, A. A. A Review of Genetic Understanding and Amelioration of Edible Allium Species. **Food Reviews International**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 415–446, 2021.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer research**, [s. l.], 1967. Disponível em: <https://www.scienceopen.com/document?vid=78d3af35-cb11-4efe-b531-f407df1ec6b5>. Acesso em: 24 jan. 2025.

MAPA. Produção e Comércio Mundial de Alho. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/capadr/apresentacoes-em-eventos/audiencias-publicas-2019/audiencia-publica-25-de-abril-de-2019-mapa>.

MARCHESE, A. *et al.* Antifungal and antibacterial activities of allicin: A review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 52, p. 49–56, 2016.

MEHRA, R. *et al.* Transcriptome analysis of Snow Mountain Garlic for unraveling the organosulfur metabolic pathway. **Genomics**, [s. l.], v. 112, n. 1, p. 99–107, 2020.

MEUDT, H. M.; CLARKE, A. C. Almost Forgotten or Latest Practice? AFLP applications, analyses and advances. **Trends in Plant Science**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 106–117, 2007.

MOTA, J. H. *et al.* Diversidade genética de cultivares de alho (*Allium sativum* L.) por meio de marcador molecular rapd. **Ciência e Agrotecnologia**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 764–770, 2004.

MOTA, J. H. *et al.* Similaridade genética de cultivares de alho pela comparação de caracteres morfológicos, físico-químicos, produtivos e moleculares. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 156–160, 2006.

NADEEM, M. A. *et al.* DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 261–285, 2018.

OKORO, B. C. *et al.* The ethnobotanical, bioactive compounds, pharmacological activities and toxicological evaluation of garlic (*Allium sativum*): A review. **Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine**, [s. l.], v. 8, p. 100273, 2023.

OKSANEN, J. *et al.* Vegan: Community Ecology Package. **R Package Version 2.2-1**, [s. l.], v. 2, p. 1–2, 2015.

OLIVA, A. F. *et al.* ANÁLISE DE CUSTOS E LUCRATIVIDADE DA CULTURA DO ALHO. **Colloquium Agrariae**, [s. l.], v. 13, p. 1809–8215, 2017.

OVESNÁ, J.; MITROVÁ, K.; KUČERA, L. Garlic (*A. sativum* L.) alliinase gene family polymorphism reflects bolting types and cysteine sulphoxides content. **BMC Genetics**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–10, 2015.

PANTHEE, D. R. *et al.* Diversity analysis of garlic (*Allium sativum* L.) germplasms available in Nepal based on morphological characters. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 205–212, 2006.

PAPADOPOULOU, A. *et al.* Phenotypic, Biochemical, and Molecular Diversity Within a Local Emblematic Greek *Allium sativum* L. Variety. **Horticulturae**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 304, 2025.

PAPAIIOANNOU, C. *et al.* Evaluation of the Genetic Diversity of Greek Garlic (*Allium sativum* L.) Accessions Using DNA Markers and Association with Phenotypic and Chemical Variation. **Agriculture (Switzerland)**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1408, 2023.

PARREÑO, R. *et al.* Turning Garlic into a Modern Crop: State of the Art and Perspectives. **Plants**, [s. l.], v. 12, n. 6, 2023.

PASUPULA, K. *et al.* Morphological, biochemical and molecular characterization of short-day tropical Indian garlic (*Allium sativum* L.). **Heliyon**, [s. l.], v. 10, n. 18, p. e37553, 2024.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 28, n. 19, p. 2537, 2012.

PEÑA-IGLESIAS, A. El ajo: virosis, fisiopatías y selección clonal y sanitaria. I Parte teóricodescriptiva. **Bol. Sanid. Veg.**, [s. l.], v. 14, p. 461–483, 1988.

PEŠKA, V. *et al.* Comparative Dissection of Three Giant Genomes: *Allium cepa*, *Allium sativum*, and *Allium ursinum*. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 733, 2019.

PETROVSKA, B. *et al.* Extracts from the History and Medical Properties of Garlic. **Pharmacognosy Review**, [s. l.], v. 4, n. 7, p. 106–110, 2010.

POLJUHA, D. *et al.* Genetic diversity and structure analysis of Croatian garlic collection assessed by SSR markers. **Folia Horticulturae**, [s. l.], v. 0, n. 0, 2021. Disponível em: Acesso em: 21 jun. 2021.

RESENDE, F. V. *et al.* A CULTURA DO ALHO. **Embrapa Hortaliças**, [s. l.], 2020. Disponível em: Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/alho/cultivares>. Acesso em: 26 jan. 2024.

RESENDE, J. T. V. *et al.* Caracterização morfológica, produtividade e rendimento comercial de cultivares de alho. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 31, p. 157–162, 2013.

RESENDE, F. V.; NASSUR, R. de C. M. R.; HABER, Lenita. L. Cultivares recomendados. *In*: ALHO: DO PLANTIO À COLHEITA. 1. ed. Viçosa, MG: UFV, 2017. p. 68–90.

RESENDE, Francisco Vilela; NASSUR, R. de C. M. R.; HABER, L. L. Cultivares recomendados. *In*: NICK, C.; BORÉM, A. (org.). **Alho: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2017. p. 67–90.

RIVLIN, R. S. Historical Perspective on the Use of Garlic. **The Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 131, n. 3, p. 951S-954S, 2001.

SAHIDUR, M. R.; ISLAM, S.; JAHURUL, M. H. A. Garlic (*Allium sativum*) as a natural antidote or a protective agent against diseases and toxicities: A critical review. **Food Chemistry Advances**, [s. l.], v. 3, p. 100353, 2023.

SAMBROOK J; RUSSELL D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. **Cold Spring Harboc Laboratory Press**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 999, 2001.

SCHULMAN, A. H. *et al.* The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. **Methods in Molecular Biology**, [s. l.], v. 859, p. 115–153, 2012.

SHAAF, S. *et al.* Genetic structure and eco-geographical adaptation of garlic landraces (*Allium sativum* L.) in Iran. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s. l.], v. 61, n. 8, p. 1565–1580, 2014.

SILVA, N. ANÁLISE DO RESULTADO FINANCEIRO DO CULTIVO DE ALHO: ESTUDO EM PROPRIEDADES RURAIS DE PEQUENO PORTE DE SANTA CATARINA. **Revista do CCEI**, [s. l.], v. 22, n. 37, p. 19–36, 2017.

SINGH, L.; KAUL, V.; GOHIL, R. N. Analysis of morphological variability in the Indian germplasm of *Allium sativum* L. **Plant Systematics and Evolution**, [s. l.], v. 300, n. 2, p. 245–254, 2014.

STAVĚLÍKOVÁ, H. Morphological characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) genetic resources collection - Information. **Horticultural Science**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 130–135, 2008.

SUN, X. *et al.* A Chromosome-Level Genome Assembly of Garlic (*Allium sativum*) Provides Insights into Genome Evolution and Allicin Biosynthesis. **Molecular Plant**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 1328–1339, 2020.

TAHA, N. M.; ABD-ELRAHMAN, S. H.; HASHEM, F. A. Improving yield and quality of garlic (*Allium sativum* L.) under water stress conditions. [s. l.], 2019.

TOSCANO, S. *et al.* Effect of Preharvest Abiotic Stresses on the Accumulation of Bioactive Compounds in Horticultural Produce. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 10, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.01212/full>. Acesso em: 30 maio 2024.

VAVILOV, N. I. **The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants**. [S. l.]: Chronica Botanica, 1951. v. 13

VEKEMANS, X. *et al.* Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 139–151, 2002.

VIEIRA, R. L.; NODARI, R. O. Diversidade genética de cultivares de alho avaliada por marcadores RAPD. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 51–57, 2007.

VOLK, G. M.; HENK, A. D.; RICHARDS, C. M. Genetic Diversity among U.S. Garlic Clones as Detected Using AFLP Methods. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 129, n. 4, p. 559–569, 2004.

VOS, P. *et al.* AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. [s. l.], v. 23, n. 21, p. 4407–4414, 1995.

WAQAS, M. A. *et al.* Potential Mechanisms of Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants Induced by Thiourea. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 10, 2019. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.01336/full>.
Acesso em: 17 ago. 2024.

WAUGH, R. *et al.* Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP). **Molecular & general genetics: MGG**, [s. l.], v. 253, n. 6, p. 687–694, 1997.

YAREGAL, Y.; SIME, G. Traditional home garden agro-biodiversity dynamics, agro-ecosystem services, and management practices in smallholder farmers setting, South-Central Ethiopia. **Food and Energy Security**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. e569, 2024.

ZHANG, H.; LANG, Z.; ZHU, J.-K. Dynamics and function of DNA methylation in plants. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 19, n. 8, p. 489–506, 2018.

ZOHARY, D.; HOPF, M.; WEISS, E. **Domestication of Plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin**. [S. l.]: Oxford University Press, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/book/11300>. Acesso em: 10 set. 2025.