

Similaridade genética entre cultivares de cebola de diferentes tipos e origens, baseada em marcadores AFLP

Carlos Antonio F Santos¹; Valter R Oliveira²; Marciane A Rodrigues¹; Hugo Leonardo C Ribeiro¹; Giovani O Silva³

¹Embrapa Semi-Árido, C. Postal 23, 56302-970 Petrolina-PE; ²Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70351-970 Brasília-DF; ³Embrapa Canoinhas, C. Postal 317, 84460-000 Canoinhas-SC; casantos@cpatsa.embrapa.br; valter@cnph.embrapa.br; marciane.rodrigues@cpatsa.embrapa.br; hugo.ribeiro@cpatsa.embrapa.br; giovaniologario@gmail.com

RESUMO

Foi estimada a similaridade genética entre cultivares de cebola de diferentes tipos e regiões geográficas, de forma a orientar programas de recursos genéticos e melhoramento da espécie no Nordeste brasileiro. Foram analisadas 41 cultivares, adotando-se para a visualização da similaridade genética o fenograma UPGMA gerado da matriz de distâncias genéticas estimadas pelo coeficiente de Jaccard e baseadas em 146 bandas polimórficas de *Pst*I e *Mse*I de AFLP. A correlação cofenética foi de 0,91, indicando boa confiabilidade da representação gráfica para a interpretação dos resultados. Foram observados dois grupos principais no fenograma, no ponto de corte de 0,55 de similaridade: 1) grupo formado por cultivares predominantemente brasileiras, com algumas inclusões de cultivares estrangeiras; e 2) grupo formado por três cultivares estrangeiras (Mercedes, Perfect e TEG 502 PRR). Rijnsburger Jumbo e IPA 8 apresentaram a maior similaridade (85%), enquanto Madrugada foi a mais divergente em relação às demais cultivares. As cultivares da série IPA se dividiram em subgrupos no grupo das cultivares brasileiras (IPA 8, IPA 10 e IPA 11; IPA 12, IPA 7, IPA 2 e IPA 6; IPA 3, IPA 4 e IPA 9), indicando haver variabilidade genética a ser explorada entre aquelas situadas em subgrupos distintos. Bola Precoce e BRS Cascata apresentaram a maior similaridade entre as cultivares de origem brasileira. Foi observada similaridade superior a 39%, refletindo a alta variabilidade genética da coleção de cebola estudada. A introdução de novos acessos deve considerar procedências outras que não norte americanas, para aumentar a variabilidade de germoplasma de cebola disponível no Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: *Allium cepa*, cultivares, dissimilaridade, índice de Jaccard, UPGMA.

ABSTRACT

Genetic similarity among onion cultivars of different types and origins, based on AFLP markers

The genetic similarity among onion cultivars of different origins was evaluated, in order to carry out genetic resources and breeding programs for this species on the Brazilian Northeast. Forty-one onion cultivars were analyzed for 146 polymorphic *Pst*I/*Mse*I AFLP bands, according to UPGMA phenogram, built with the Jaccard's similarity coefficient matrix. The phenogram co-phenetic value was estimated in 0.91 showing a good adequacy of the data. In the phenogram were observed two main onion groups at the cut point of 0.55 of similarity: 1) group composed of predominantly Brazilian cultivars, with some inclusion of foreigners; and 2) group with three foreign cultivars (Mercedes, Perfect and TEG 502 PRR). Rijnsburger Jumbo and IPA 8 presented the largest similarity (85%), while Madrugada presented the greatest dissimilarity to the other cultivars. The cultivars developed by IPA were split in sub-groups within the group 1: IPA 8, IPA 10 and IPA 11; IPA 12, IPA 7, IPA 2 and IPA 6; IPA 3, IPA 4 and IPA 9, suggesting that genetic variability could be explored by crosses among cultivars from different IPA subgroups. Bola Precoce and BRS Cascata presented the greatest similarity among the Brazilian cultivars. A similarity greater than 39% was observed, suggesting a high genetic variability of the analyzed onion collection. Introduction of new cultivars should take in consideration other origins than USA, in order to increase the genetic variability of onion germplasm in the Northeast Brazil.

Keywords: *Allium cepa*, cultivars, dissimilarity, Jaccard's coefficient, UPGMA.

(Recebido para publicação em 28 de maio de 2009; aceito em 25 de outubro de 2010)

(Received on May 28, 2009; accepted on October 25, 2010)

A cebola, *Allium cepa* L. (2n=16), é originária das regiões de clima temperado que compreendem o Afeganistão, o Irã e partes do sul da antiga União Soviética. Tem sido cultivada por mais de 5.000 anos e, provavelmente, não existe mais em estado silvestre. As espécies mais próximas são *A. galanthum* e *A. vavilovii*, as quais podem ser encontradas em estado silvestres em áreas da antiga União Soviética e no Afeganistão (Goldman *et al.*, 2000). Os europeus trouxeram a cebola para as Américas

logo no início do “descobrimento” e no século XIX a introduziram no leste da Ásia (Fritsch & Friesen, 2002).

No Brasil, a cultura da cebola teve início no século XVIII no Rio Grande do Sul (municípios de Mostardas, Rio Grande e São José do Norte), introduzida pelos açorianos (Barbieri & Medeiros, 2005). A partir de acessos de cebola introduzidos da Europa foram selecionadas duas populações principais: Baía Periforme no Rio Grande do Sul e Crioula em Santa Catarina (Buzar

et al., 2007). No Nordeste brasileiro a cebola amarela foi introduzida no final da década de 1940, nas regiões de Cabrobó e Belém do São Francisco, sendo predominantemente produzida no Vale do São Francisco. Seleções locais como Roxa do Barreiro e Roxinha de Belém, esta última *A. cepa* var. *aggregatum*, já eram cultivadas na região (Costa *et al.*, 1999).

As cultivares desenvolvidas pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) ocupam quase 90%

do total da área cultivada com cebola na região do Vale do São Francisco (Pereira *et al.*, 2000). Cultivares importadas do tipo “Grano” e híbridos tipo “Granex” são tradicionalmente cultivados no Nordeste e Sudeste do Brasil, sendo que no Nordeste dominaram o mercado até por volta de 1995. No Sul do Brasil predominam as cultivares dos tipos Baía Periforme e Crioula (Leite, 2005; Buzar *et al.*, 2007).

Relações genéticas entre cultivares de cebola têm sido estabelecidas com marcadores moleculares dominantes, como RAPD (Leite *et al.*, 2009), com marcadores moleculares codominantes, como microssatélites (Jakse *et al.*, 2005; Mahajan *et al.*, 2009) e com marcadores morfológicos e agrônômicos (Barbieri *et al.*, 2005; Buzar *et al.*, 2007). Aplicação de marcadores dominantes tipo AFLP não tem sido relatada na literatura especializada, sendo que sua aplicação na cebola está restrita no desenvolvimento de mapas preliminares de ligações genéticas (Heusden *et al.*, 2000) ou para o mapeamento de alelos do gene restaurador da fertilidade (Gokce *et al.*, 2002). A técnica do AFLP tem sido também usada na análise da influência da distância geográfica e altitude na divergência genética de três espécies de *Allium* silvestre no oeste norte americano (Phillips *et al.*, 2008).

Apesar da dominância, o marcador AFLP é considerado uma poderosa ferramenta para análises de diversidade, devido à reprodutibilidade, à robustez, à geração de poucos artefatos e à ampla cobertura do genoma, apresentando resultados congruentes em várias situações com marcadores microssatélites (Meudt & Clarke, 2007). Para Jaske *et al.*, 2005) um dos problemas da aplicação de AFLP em cebola está relacionado com o grande número de bandas produzidas, em especial pela combinação das enzimas *EcoR1* e *Mse1*, que não podem ser analisadas nos géis de poliacrilamida.

Este trabalho teve como objetivo estimar a similaridade genética, baseada em marcas de AFLP, entre cultivares de cebola de diferentes tipos e regiões geográficas, de forma a orientar programas de recursos genéticos e melhoramento da espécie para o Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

As 41 cultivares de cebola escolhidas para o presente estudo (Tabela 1) são parte da coleção de trabalho do programa de melhoramento de cebola da Embrapa Hortaliças e Semiárido. Além de originárias de regiões geográficas distintas, representam diferentes grupos agrônômicos (Baía Periforme, Crioula, Pêra, Grano, Granex e Gladalan) e possuem qualidades agrônômicas desejáveis para o melhoramento, bem como boa adaptação às condições de cultivo do Vale do Rio São Francisco.

O DNA total foi extraído de amostras foliares de cinco plantas em torno de 30 dias após a sementeira em Petrolina-PE, para constituir um ‘bulk’ de cada cultivar. A sementeira foi formada com 8 a 10 g de sementes/m², em sulcos transversais ao comprimento do canteiro. Foi incorporado 50 g/m² da mistura do adubo 6-24-12 antes da sementeira e uma complementação com adubação nitrogenada em cobertura, aos 20 dias após a sementeira, empregando-se 5 g de uréia/m². O protocolo para extração do DNA foi o CTAB 2x (Doyle & Doyle, 1990), modificado para 6.000 e 13.000 rpm na primeira e segunda centrifugação, respectivamente; beta-mercaptoetanol a 2% e incubação a 60°C durante 30 minutos para todas as amostras. Após a adição do tampão Tris-EDTA, a solução de DNA foi tratada com RNase para remover RNAs co-isolados. A quantificação e a integridade do DNA foram verificadas em gel de agarose 0,8%, seguido da diluição do DNA genômico para 50 ng µL⁻¹.

Aproximadamente 200 ng de DNA de cada cultivar foi duplamente digerido com 0,65 unidades das endonucleases *Pst1* e *Mse1*, por 2,5 horas em termociclador. A programação do termociclador para amplificações pré-seletivas consistiu de 20 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 56°C durante 1 minuto e 72°C durante 1 minuto. Cada reação foi então diluída 20 vezes em tampão TE. Foram realizadas reações seletivas de amplificação para um volume final de 10 µL de acordo com o protocolo: 0,2 µM do iniciador da *Pst1*, 0,3 µM do iniciador da *Mse1*, 0,2 mM de dNTPs, 1x tampão de PCR (100 mM Tris-HCl (pH

8,3), 500 mM KCl), 2,5 mM de MgCl₂, 0,5 unidades de Taq DNA Polimerase e 2 µL do DNA pré-amplificado. A programação do termociclador para as amplificações seletivas consistiu de um ciclo a 94°C, seguido de 65°C durante 30 segundos e de 72°C durante 1 minuto, repetidos 13 vezes e com a temperatura de anelamento de 65°C diminuindo de 0,7°C em todo ciclo subsequente; 23 ciclos a 94°C por 30 segundos, 56°C durante 30 segundos e 72°C durante um minuto. As reações foram aquecidas durante 3 minutos a 94°C na presença de formamida e imediatamente colocadas sob gelo antes da aplicação nos géis de poliacrilamida. Os géis foram corados com nitrato de prata conforme Creste *et al.* (2001). Todas as reações foram conduzidas no laboratório de genética da Embrapa Semi-Árido.

Foram consideradas para análises apenas as cultivares que apresentaram número de falhas inferior a 10% do total de bandas polimórficas, como discutido por Warburton & Crossa (2000). A partir dos dados de presença ou ausência de bandas foi construída a matriz de similaridade adotando-se o índice de Jaccard e confeccionado o fenograma pelo método de agrupamento UPGMA (Método de Agrupamento não Ponderado com base na Média Aritmética), disponível no programa NTSYS (Rohlf, 1989). A avaliação do ajuste do fenograma foi realizada pela correlação cofenética, ou seja, a correlação entre as distâncias reais e as representadas graficamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 146 fragmentos polimórficos e 38 monomórficos em 13 combinações de *primers* (CP) *EcoR1/Mse1* de AFLP, com média de 11,2 e 2,9 fragmentos polimórficos e monomórficos por CP, respectivamente. As CPs produziram os seguintes números de bandas: GGG_CCC (11), GGA_CTG (11), GGG_CTC (14), GGA_CTG (9), GAT_CAC (9), GGG_CAC (15), GGA_CCC (13), GGC_CTG (11), GGA_CAC (12), GGG_CTG (11), GCT_CTG (12), GAT_CTG (7) e GCC_CAG (11). A média de 15 fragmentos polimórficos de AFLP, com marcação com P³³, foi relatada por Vos *et al.*, 1995, a qual é

Tabela 1. País de origem, tipo (polinização livre ou híbrida) e descendência de 41 cultivares de cebola avaliadas com marcadores AFLP (origin, type (open pollinated or hybrid) and descendent of 41 onion cultivars analysed with AFLP markers). Petrolina, Embrapa Semi-Árido, 2007.

Populações	Origem	Tipo	Descendência
Alfa São Francisco	Brasil	P. livre	Alfa Tropical ¹
Alfa Tropical	Brasil	P. livre	Baia Periforme ²
Aurora	Brasil	P. livre	Baia Periforme ³
Baia Periforme Super Precoce	Brasil	P. livre	Baia Periforme ³
Beta Cristal	Brasil	P. livre	Dehydrator n°2 x Dehydrator n°5 x Dehydrator n°8 x Primero x White Creole ⁶
Bola Precoce ,(Empasc 352)	Brasil	P. livre	Baia Periforme ¹⁰
BRS Cascata	Brasil	P. livre	Pêra Norte ⁸
CNPH 6400	Brasil	P. livre	Baia Periforme x Valcatorce INTA ⁹
Conquista	Brasil	P. livre	Baia Periforme ³
Crioula Alto Vale (Epagri 362)	Brasil	P. livre	Crioula ¹⁰
Crioula Mercosul	Brasil	P. livre	Crioula ¹⁴
Excel	Itália	P. livre	Yellow Bermuda ¹¹
Henry's Special PRR	Estados Unidos	P. livre	Granex ¹²
IPA-10	Brasil	P. livre	Roxa IPA-3 x Red Creole ⁴
IPA-11	Brasil	P. livre	Roxa IPA-3 x Belém IPA-9 ⁴
IPA-12	Brasil	P. livre	Roxa IPA-3 x Texas Grano 1015Y ⁷
IPA-2	Brasil	P. livre	Baia Periforme ⁴
IPA-4	Brasil	P. livre	Baia Periforme ⁴
IPA-6	Brasil	P. livre	Baia Periforme ⁴
IPA-7	Brasil	P. livre	Pêra Norte ⁴
IPA-8	Moçambique	P. livre	Mutuali ⁶
IPA-9	Brasil	P. livre	Baia Periforme ⁴
Jubileu	Brasil	P. livre	S. I. ¹⁵ , mas provavelmente de 'Pêra Norte'
Madrugada	Brasil	P. livre	Baia Periforme ³
Mayon	S. I. ¹⁵	P. livre	S. I. ¹⁵
Mercedes	Estados Unidos	Híbrido	Granex ¹²
Norte 14	Brasil	P. livre	Pêra Norte ¹³
Optima	Austrália	Híbrido	Gladalan ¹⁴
Perfecta	Austrália	Híbrido	Gladalan ¹⁴
Pira Ouro	Brasil	P. livre	Baia Periforme ³
Primavera	Brasil	P. livre	Baia Periforme ⁵
Régia	Brasil	P. livre	Gladalan ¹³
Rijnsburger Jumbo	Holanda	P. livre	S. I. ¹⁵
Roxa 13	Brasil	P. livre	Texas Grano ⁹
Roxa do Barreiro	Brasil	P. livre	S. I. ¹⁵
Roxa IPA-3	Brasil	P. livre	Roxa do Barreiro ⁴
São Paulo	Brasil	P. livre	Texas Grano ⁶
Serrana	Brasil	P. livre	Baia Periforme ³
TEG 502	Estados Unidos	P. livre	Grano – Espanha ¹¹
TEG 502 PRR	Estados Unidos	P. livre	Texas Early Grano 502 ¹¹
Yellow Granex	Estados Unidos	Híbrido	Granex ¹¹

¹Costa *et al.* (2005); ²Araújo & Rodrigues (1998); ³Melo & Boiteux (2001); ⁴Costa *et al.* (1999); ⁵Garcia (1992); ⁶Pereira *et al.* (2000); ⁷Candeia *et al.* (2005); ⁸Choer (2005); ⁹Populações do programa de melhoramento genético da Embrapa; ¹⁰Gandin (1995); ¹¹Goldman *et al.* (2000); ¹²Currah (2002); ¹³Garcia (1987); ¹⁴Informações obtidas com as empresas detentoras das cultivares; ¹⁵Sem informações.

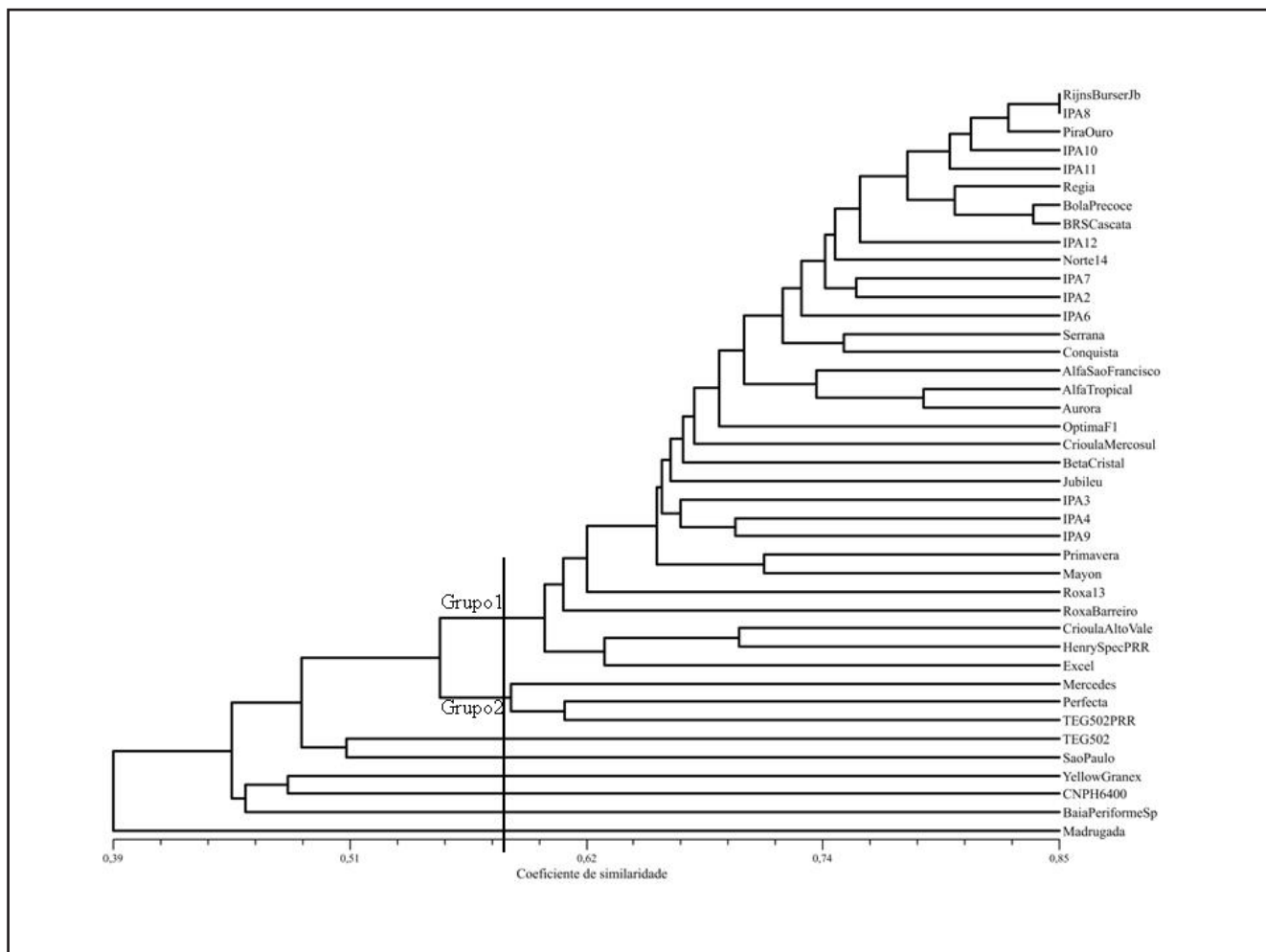


Figura 1. Fenograma UPGMA do coeficiente de similaridade de Jaccard de 41 cultivares de cebola, analisadas com 146 marcas de AFLP. Valor co-fenético = 0,91 (UPGMA phenogram of the Jaccard's similarity coefficient of 41 onion cultivars, analyzed with 146 AFLP bands. Co-phenetic value = 0.91). Petrolina, Embrapa Semi-Árido, 2007.

próxima do valor obtido neste trabalho, usando coloração com nitrato de prata.

A correlação co-fenética entre o procedimento SAHN com o coeficiente de similaridade da matriz de distâncias usando o procedimento MXCOMP do NTSYSpc (Rohlf, 1989) foi de 0,91, indicando que o fenograma produzido (Figura 1) representa adequadamente as reais distâncias estimadas com base nos 146 fragmentos de AFLP polimórficos.

Adotando-se o ponto de corte em torno de 0,55 de similaridade observa-se a formação de dois grupos principais, quais sejam: grupo 1) mais heterogêneo e formado por 32 cultivares (de Rijsburger Jumbo até Excel), sendo 23 brasileiras obtidas de Baia Periforme, Pêra, Crioula e Roxa do Barreiro ou do cruzamento destas com outros acessos introduzidos; três cultivares brasileiras essencialmente derivadas de acessos

introduzidos (Mutualli IPA 8, Régia e Beta Cristal) e três cultivares estrangeiras (Rijsburger Jumbo, Optima F1 e Mayon); grupo 2) mais homogêneo e formado por três cultivares estrangeiras (Mercedes, Perfecta e TEG 502 PRR). Outras seis cultivares (Yelow Granex, São Paulo, CNPH 6400, TEG 502, Baia Periforme e Madrugada) ficaram alocadas sozinhas, sugerindo maior diversidade em relação às outras cultivares analisadas. A cultivar Madrugada, de origem brasileira, apresentou a maior dissimilaridade em relação ao conjunto de cultivares avaliado (Figura 1). Rijsburger Jumbo, introduzida da Holanda, e IPA 8, derivada de Mutualli e introduzida da África (Tabela 1), foram as mais similares (85%) do fenograma.

As cultivares da série IPA, adaptadas às condições de clima e solo do Vale do Rio São Francisco, se dividiram em três

subgrupos no grupo das cultivares brasileiras: IPA 8, IPA 10 e IPA 11; IPA 12, IPA 7, IPA 2 e IPA 6; IPA 3, IPA 4 e IPA 9 (Figura 1), indicando que embora haja estreito relacionamento entre as 'IPAs' situadas dentro do mesmo subgrupo, há suficiente variabilidade genética a ser explorada entre aquelas situadas em subgrupos distintos. À exceção de IPA 3, IPA 7, IPA 8, IPA 10 e IPA 12, as demais 'IPAs' são derivadas de Baia Periforme (Tabela 1).

As cultivares Alfa Tropical e Alfa São Francisco, no grupo das cultivares brasileiras, posicionaram em ramos imediatos no fenograma (Figura 1) refletindo o relacionamento próximo, pois a Alfa São Francisco é derivada da Alfa Tropical (Tabela 1). Norte 14 e IPA 7, esta derivada de Norte 14 (Tabela 1), também posicionaram-se próximas no fenograma, indicando que a seleção

em Norte 14 em condições de cultivo nas latitudes 8-9°, ou seja, sob condições de dias curtos e calor constante predominantes na região do Vale do São Francisco, não foi suficiente para proporcionar elevada dissimilaridade entre as cultivares.

Bola Precoce, uma cultivar do tipo Baía Periforme (Gandin, 1995) exibiu similaridade de 82% com BRS Cascata, do tipo Pêra, sendo essa similaridade a maior observada entre as cultivares brasileiras. A cultivar Crioula Mercosul, do tipo Crioula e as cultivares do tipo Pêra (BRS Cascata, Norte 14, IPA 7 e Jubileu) posicionaram-se próximas das cultivares de Baía Periforme, indicando a origem comum dos três tipos de cebola predominantes no Brasil, originalmente introduzidas pelos açorianos no Rio Grande do Sul (Buzar *et al.*, 2007). A exceção foi Crioula Alto Vale, também do tipo Crioula, que no presente estudo exibiu maior proximidade com as cultivares suaves e precoces provenientes dos Estados Unidos (Figura 1).

O grupo formado por Mercedes, Perfecta e TEG 502 PRR, no ponto de corte de 0,55 de similaridade, reflete um nível considerável de relacionamento entre elas, pois ambas são do tipo Grano. TEG 502 e TEG 502 PRR, embora posicionadas em ramos imediatos no fenograma, exibiram dissimilaridade maior que o esperado, indicando que as diferenças genéticas entre ambas possivelmente vão além da resistência a *Pyrenochaeta terrestris*, causador da raiz rosada, presente da TEG 502 PRR e ausente em TEG 502.

As cultivares revelaram similaridade superior a 39% (Figura 1), o que reflete a alta variabilidade genética da coleção de germoplasma de cebola estudada (Tabela 1). Ampla variabilidade também foi observada por Buzar *et al.* (2007) entre acessos de cebola avaliados com base em caracteres fenotípicos.

Os dois principais grupos formados refletem a origem das cultivares avaliadas: 1) grupo formado predominantemente por cultivares brasileiras, com origem na população 'Garrafal' introduzida pelos açorianos, que originou a Baía Periforme, enquanto Pêra Norte foi, provavelmente, introduzida do Norte da África (Barbieri & Me-

deiros, 2005); 2) grupo formado por cultivares introduzidas dos Estados Unidos da América, principalmente, que têm origem em introduções do tipo Grano realizadas da Espanha em 1925, tendo 'Valenciana' como a população base (Goldman *et al.*, 2000). Estudos com microssatélites ou marcadores de regiões conservadas de DNA dos cloroplastos devem ser realizados para elucidar resultados não esperados como o relativo distanciamento entre Régia, Optima F1 e Perfecta, todas do tipo Gladalan e a pequena similaridade entre Baía Periforme Super Precoce e, principalmente, de Madrugada com as demais populações de Baía Periforme (Figura 1).

Considerando as condições de cultivo do Vale do Rio São Francisco, para a obtenção de cultivares divergentes e com bom desempenho agrônomico e/ou para a formação de híbridos com boas expressões de heterose sugere-se cruzamentos entre as cultivares Alfa São Francisco ou IPA 11 ou IPA12 com cultivares do outro grupo, como TEG 502 PRR ou São Paulo, pois as mesmas formaram grupos distintos no fenograma (Figura 1). Recomenda-se, ainda, que introduções de novas cultivares devam considerar aspectos agrônomicos específicos, como tolerância às doenças predominantes na região, ou procedências outras que não os Estados Unidos da América, de forma a aumentar a variabilidade de germoplasma de cebola disponível no Brasil.

AGRADECIMENTOS

Ao BNB-Etene-Fundeci-Banco do Nordeste do Brasil e CNPq, pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO MT; RODRIGUES AG. 1998. Alfa Tropical: nova cultivar de cebola de verão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38. Resumos... Petrolina: SOB (CD-ROM).
- BARBIERI RL; MEDEIROS ARM. 2005. A cebola ao longo da história. In: BARBIERI, RL (ed). *Cebola: ciência, arte e evolução*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, p. 13-20.
- BARBIERI RL; LEITE DL; CHOER E; SINIGAGLIA, C. 2005. Divergência genética entre populações de cebola com base em marcadores morfológicos. *Ciência Rural* 35: 303-308.
- BUZAR AGR.; OLIVEIRA VR; BOITEUX LS. 2007. Estimativa da diversidade genética de germoplasma de cebola via descritores morfológicos, agrônomicos e bioquímicos. *Horticultura Brasileira* 25: 527-532.
- CANDEIA JA; LIMA MMA; LEMOS MCS; MENEZES JT; COSTA ND; MENEZES D; SANTOS CAF. 2005. Brisa IPA-12: Cultivar de cebola suave. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45. Resumos ... Fortaleza: SOB (CD-ROM).
- CHOER E. 2005. Variabilidade genética em cebola. In: BARBIERI RL (ed). *Cebola: ciência, arte e história*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, p. 73-78.
- COSTA ND; CANDEIA JA; ARAÚJO MT. 1999. Importância econômica da cebola no Nordeste. In: QUEIROZ MA; GOEDERT CO; RAMOS SRR (eds). *Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro*. Disponível em [HTTP://www.cpatsa.embrapa.br/catpub](http://www.cpatsa.embrapa.br/catpub). Acessado em 15 de fevereiro de 2009.
- COSTA ND; SANTOS CAF; QUEIROZ MA; ARAÚJO HM; OLIVEIRA, VR; MENDONÇA, JL; CANDEIA, JA. 2005. Alfa São Francisco: variedade de cebola para cultivo no verão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45. Resumos ... Fortaleza: SOB (CD-ROM).
- CRESTE S; TULMANN NETO A; FIGUEIRA A. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter* 19: 299-306.
- CURRAHL. 2002. Onions in the tropics: cultivars and country reports. In: RABINOWITCH HD; CURRAHL (eds). *Allium Crop Science: Recent Advances*. Wallingford: CAB International. p. 379-407.
- DOYLE JJ; DOYLE JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- FRITSCH RM; FRIESEN N. 2002. Evolution, Domestication, and Taxonomy. In: RABINOWITCH HD; CURRAHL L (eds). *Allium Crop Science: Recent Advances*. Wallingford: CAB International. p. 5-30.
- GANDIN CL. 1995. Cultivares. In: ENCONTRO TÉCNICO SOBRE SISTEMA DE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE CEBOLA EM SANTA CATARINA, 1. 1993, Ituporanga. Anais. Ituporanga: Epagri/Estação Experimental de Ituporanga, p. 25-30.
- GARCIA A. 1992. Cultivar Primavera: cebola para colheita em épocas de melhores preços. *HortiSul* 2: 32-37.
- GARCIA A. 1987. Cultivares. In: AMARAL AS; GARCIA A; CASTRO C; STUMPF CL; MORAES EC; MADAIL JCM; DYNIA JF; BICCALHF; CARVALHO RPL (eds). *Cultura da cebola para sementes no Rio Grande do Sul*. Pelotas: EMBRAPA-CNPFT. p. 14-16.
- GOKCE AF; MCCALLUM J; SATO Y; HAVEY MJ. 2002. Molecular tagging of the *Ms* locus in onion. *Journal of American Society for Horticulture Science* 127: 576-582.

- GOLDMAN IL; HAVEY MJ; SCHROECK G. 2000. History of public onion breeding programs and pedigree of public onion germplasm releases in the United States. *Plant Breeding Reviews* 20: 67-103.
- HEUSDEN AW; OOIJEN JW; GINKEL V.; VERBEEK WHJ; WIETSMA WA; KIK C. 2000. A genetic map of an interspecific cross in *Allium* based on amplified fragment length polymorphism (AFLPTM) markers. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 118-126.
- JAKSE J; MARTIN W; McCALLUM J; HAVEY MJ. 2005. Single nucleotide polymorphisms, indels, and simple sequence repeats for onion cultivar identification. *Journal of the American Society for Horticulture Science* 130: 912-917.
- MAHAJAN V; JAKSE J; HAVEY MJ; LAWANDE KE. 2009. Genetic fingerprinting of onion cultivars using SSR markers. *Indian Journal of Horticulture* 66: 62-68.
- LEITE DL. 2005. Melhoramento genético de cebola. In: BARBIERI RL (ed). *Cebola: ciência, arte e evolução*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, p. 81-118.
- LEITE DL; ANTHONISEN D; BARBIERI RL. 2009. *Divergência genética entre acessos do banco ativo de germoplasma de cebola da Embrapa Clima Temperado revelada por marcadores RAPD*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 7 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 81).
- MELO PCT; BOITEUX LS. 2001. Análise retrospectiva do melhoramento genético de cebola (*Allium cepa* L.) no Brasil e potencial aplicação de novas estratégias biotecnológicas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1. *Resumos ... Goiânia: SBMP (CD-ROM)*.
- MEUDT HM; CLARKE AC. 2007. Almost Forgotten or Latest Practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Science* 12: 107-117.
- PEREIRA W; VIEIRA JV; MENDONÇA JL. 2000. *Relatório do Workshop sobre cebolicultura no Brasil*. Brasília: EMBRAPA-CNPQ. 76 p. Embrapa Hortaliças. Documentos, 25.
- PHILLIPS NC; LARSON SR; DROST DT. 2008. Detection of genetic variation in wild populations of three *Allium* species using amplified fragment length polymorphisms. *HortScience* 43: 637-643.
- ROHLF FJ. 1989. *NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.80*. Setauket: Exeter Software.
- VOS P; HOGERS R; BLEEKER M; REIJANS M; DER LEE T; HORNES M; FRIJTERS A; POT J; PELEMAN J; KUIPIER M; ZABEAU M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- WARBURTON M; CROSSA J. 2000. *Data analysis in the CIMMYT applied biotechnology center for fingerprinting and genetic diversity studies*. Mexico, D.F.: CIMMYT. 23 p.