

# Biologia floral e mecanismos reprodutivos do Mussambê (*Cleome spinosa* Jacq) com vistas ao melhoramento genético

**Douglas de Almeida Pereira**

**Ana Carla Brito**

**Cláudio Lúcio Fernandes Amaral\***

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)  
Rua José Moreira Sobrinho, s/n, CEP 45200-000, Jequié-BA

\* Autor para correspondência  
geneticamaraluesb@bol.com.br

Submetido em 29/11/2006  
Aceito para publicação em 20/08/2007

## Resumo

O Gênero *Cleome*, da família Capparaceae, compreende plantas economicamente utilizadas como medicinais e ornamentais. Foi objetivo deste trabalho estudar a biologia floral e os mecanismos reprodutivos de *C. spinosa* com vistas ao melhoramento genético. A antese ocorre entre 17h30 às 18h30 e está intimamente relacionado com as condições climáticas. Os principais polinizadores foram abelhas (*Apis*, *Bombus*), mariposas e morcegos (*Glossophaga*). *Cleome spinosa* apresenta sistema de cruzamento misto, o que pode evidenciar a ampla flexibilidade reprodutiva desta espécie e enfatizar a variabilidade genética que é essencial para sua evolução.

**Unitermos:** melhoramento genético, sistema reprodutivo, autofecundação e fecundação cruzada

## Abstract

**Floral biology and reproductive mechanisms of Mussambê (*Cleome spinosa* Jacq) aiming at the plant breeding.** Some plants from *Cleome* genus in Capparaceae family are used as medicinal and ornamental plants. The aim of this work was to study the floral biology and the reproductive mechanisms of *C. spinosa* to the plant breeding. Anthesis occurred between 17:30 to 18:30. The anthesis process is intimately related to climatic conditions. The main flower visitors were bees (*Apis*, *Bombus*), butterflies and bats (*Glossophaga*). *Cleome spinosa* presents mating system with predominance of outcrossing over the self-crossing, what it can evidences the wide reproductive flexibility of this species and emphasize the genetic variability, which is essential for evolution.

**Key words:** plant breeding, reproductive system, self-crossing, outcrossing and *Cleome spinosa*

## Introdução

A família Capparaceae compreende 50 gêneros e 700 espécies ocorrendo nos Trópicos e Subtrópicos dos hemisférios norte e sul e no Mediterrâneo. No Brasil, está representada por 9 gêneros e 46 espécies. O gênero *Cleome* é, comumente, formado por plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas e, raramente, lianas. Apresenta 28 espécies amplamente distribuídas, preferencialmente, em áreas abertas. Economicamente, são utilizadas como medicinais, ornamentais e na alimentação, como a alcaparra (*Capparis spinosa*, espécie asiática) (Ribeiro et al., 1999).

O estudo da biologia floral associado aos mecanismos reprodutivos das espécies vegetais é de fundamental importância para o melhoramento genético de plantas, pois auxilia na definição de técnicas de seleção e hibridação mais apropriadas a serem usadas (Allard, 1971). Assim, o sucesso do fitomelhoramento depende do entendimento do processo reprodutivo.

O tipo de sistema reprodutivo determina o modo de transmissão de genes de uma geração à outra (Brow, 1989) o que faz, conseqüentemente, com que as investigações sobre a dinâmica da mudança genética estejam concernidas, direta ou indiretamente, com o processo de cruzamento (Clegg, 1980). Desta forma, o sistema reprodutivo não somente determina as frequências genotípicas subseqüentes, mas também afeta os parâmetros genéticos populacionais, tais como, fluxo gênico e seleção (Hamrick e Godt, 1990).

Na efetivação de qualquer programa de conservação e melhoramento genético de uma espécie, é fundamental o conhecimento dos níveis de distribuição da variabilidade genética entre e dentro de suas populações. Por sua vez, a estrutura genética é o resultado da interação de vários fatores reprodutivos e evolutivos (seleção, deriva genética, mutação e fluxo gênico). De fundamental importância, é conhecer o sistema reprodutivo da espécie, dado ser este que determina como os genes são transmitidos de uma geração para a outra e como são reorganizados nos indivíduos, portanto, também determina sua estrutura genética espacial e temporal (Brow, 1989). Devido este fato, o mecanismo reprodutivo deve ser o primeiro passo a ser seguido para

o conhecimento genético de uma espécie, quando se objetiva sua conservação e seu melhoramento.

Apesar de existirem plantas medicinais que se hibridizam facilmente, há espécies em que a promoção da hibridação constitui-se em sério problema ao fitomelhoramento, portanto, o estudo da biologia floral e dos mecanismos reprodutivos torna-se a meta básica a ser alcançada (Nation et al., 1992).

Este trabalho teve como objetivo estudar a biologia floral e os mecanismos reprodutivos, objetivando fornecer subsídios para programas de melhoramento genético desta importante espécie.

## Material e Métodos

As investigações foram conduzidas em área experimental localizada no campus da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), situado em Jequié-BA (13°51'S e 40°05'W, altitude de 216m), em região de transição entre a Caatinga e a Mata Atlântica, no período de junho de 2005 a maio 2006. O material vegetal foi coletado do Banco de Germoplasma de Plantas Medicinais da UESB.

A descrição das flores e inflorescências de *C. spinosa* foi baseada em estudos de material vivo, sendo que a exsicata encontra-se depositada no Herbário da UESB, identificada pelo número HUESB913.

Para o estudo da biologia floral, foi registrado o período da antese por meio de observações diárias da abertura de 50 botões florais escolhidos ao acaso, a partir de 10 inflorescências, de 10 plantas previamente marcadas. Estas investigações foram conduzidas em intervalos regulares de uma hora ao longo de 15 dias não consecutivos. Para correlacionar os estádios de desenvolvimento da flor com a maturação dos órgãos sexuais, bem como determinar a fase ideal de coleta de grãos de pólen a serem utilizados nos cruzamentos artificiais, foi descrita a morfologia externa para identificação da espécie em estudo, relacionando-a com as atividades internas: disponibilidade, viabilidade, germinação dos grãos de pólen, receptividade dos estigmas, polinização e apomixia.

A disponibilidade polínica foi obtida por meio da quantificação em lâminas montadas com grãos de pó-

len de anteras maceradas ao longo dos estádios de desenvolvimento floral. Foi utilizado microscópio óptico na contagem do número de grãos de pólen por antera (microscopia de luz/aumento de 40 vezes).

Para analisar a viabilidade polínica, foram montadas lâminas com grãos de pólen retirados de anteras, em 10 inflorescências, de 10 indivíduos diferentes, corados com carmim acético, de acordo com a técnica de Linsley e Cazier (1963), Lawrence (1966), Almeida (1986) e Almeida et al. (2004), em diferentes estádios de desenvolvimento floral. A contagem do pólen foi realizada com auxílio de microscópio óptico (microscopia de luz/aumento 40 vezes) e os dados foram expressos em porcentagem. Os grãos de pólen foram classificados em viáveis (corados de vermelho) e inviáveis (não corados).

Para determinar a germinação dos grãos de pólen foram montadas lâminas com macerados de estigmas em presença de azul-de-Amã, conforme a técnica de Johansen (1940) e, ao microscópio óptico (microscopia de luz/aumento de 40 vezes), contados os grãos de pólen germinados e os não germinados. Foi considerado como grão de pólen germinado aquele cujo comprimento do tubo polínico tivesse ultrapassado o seu próprio diâmetro. Os dados foram expressos em porcentagem.

Receptividade dos estigmas foi determinada na pré-antese, antese e pós-antese por meio do aspecto viscoso e umectante dos mesmos de acordo com Almeida (1986), sendo também utilizado, segundo Kearns e Inouye (1993), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). A emissão de bolhas sobre a superfície estigmática foi considerada o critério adotado para estimar este parâmetro.

Na pré-antese, a autopolinização (autogamia) natural foi estimada pelo ensacamento de 100 botões florais de 20 inflorescências, que foram tomadas aleatoriamente de cada indivíduo. Os botões foram ensacados em sacos de polietileno providos de poros, segundo a técnica de Ormond e Pinheiro (1974), 24 horas antes de sua abertura, ou antese.

A autopolinização (autogamia) artificial foi estimada pelo ensacamento de 100 botões florais de 20 inflorescências, que foram emasculados antes da deiscência das anteras e, posteriormente, polinizados ma-

nualmente com grãos de pólen de flores de outras inflorescências do mesmo indivíduo, sendo logo depois de ensacados para não ocorrer contaminação.

A polinização cruzada (alogamia) natural foi testada em 100 botões, de 20 inflorescências os quais, depois de emasculados antes da deiscência, ficaram expostos ao meio ambiente sem proteção alguma e, 24 horas após, foram novamente ensacados, para evitar interferências externas e observados, diariamente, até a obtenção dos frutos.

A polinização cruzada (alogamia) artificial foi testada em 100 botões florais, de 20 inflorescências que, foram totalmente emasculados, na pré-antese. Logo após, as flores foram polinizadas e o pólen de uma planta foi conduzido até o estigma da flor de outra planta pertencente à outra população, por meio de uma agulha de dissecação, flambada cada vez que era usada; em seguida, os botões florais foram ensacados, a fim de evitar a contaminação com pólen de outras flores. Foram etiquetadas 100 flores, com o objetivo de estimar o percentual de frutos produzidos em condições naturais (controle).

A ocorrência de autogamia e alogamia tanto natural quanto artificial foi inferida a partir da presença ou ausência de frutos após, respectivamente, as autopolinizações e as polinizações cruzadas.

Foram contadas as sementes normais e anormais obtidas tanto na testemunha quanto nos ensaios de autogamia, alogamia e apomixia. Consideraram-se normais às sementes lisas e íntegras e anormais, as murchas. As sementes obtidas foram colocadas para germinar em placas de Petri, forradas com papel filtro saturado com água destilada e acondicionadas em câmaras de germinação do tipo B.O.D (Incubadora: 411 D/FPD). Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentaram 2mm de radícula (Juntilla, 1976) e o experimento foi finalizado quando todas as sementes já haviam germinado ou quando as remanescentes nas placas apresentavam-se deterioradas.

Visando minimizar possíveis influências nos resultados das polinizações, os sacos de polietileno foram retirados três dias após as polinizações manuais. Com isto, os frutos desenvolveram-se livremente.

Os óvulos foram contados abrindo-se o ovário, e com o auxílio de estereoscópio contou-se os óvulos de 40 flores aleatoriamente selecionadas. Foi calculada a proporção entre o número de grãos de pólen e óvulos (razão P:O), conforme Cruden (1977), procurando encontrar relação com o sistema reprodutivo apresentado pela população.

Para verificar a ocorrência de apomixia foram tomados 100 botões florais, de 20 inflorescências, os quais foram emasculados antes da deiscência das anteras e, logo após, ensacados para não ocorrer contaminação (Carneiro e Dusi, 2002). A presença de frutos indica a ocorrência de plantas apomíticas.

Para localizar as glândulas secretoras de aroma (osmóforos) foi utilizado, de acordo com o que foi proposto por Kearns e Inouye (1993), solução de vermelho-neutro (1:10.000). As flores frescas foram mergulhadas na solução durante 60 minutos, sendo, posteriormente, retiradas e lavadas com água destilada e dissecadas sob estereoscópio para identificação dos osmóforos, indicados pelas regiões coradas de vermelho intenso.

Os visitantes florais foram estudados por meio de observações *in loco* durante o mês de dezembro de 2005, totalizando 40 horas de observações em intervalos alternados entre 6 e 24h, em 12 plantas escolhidas ao acaso. As investigações foram limitadas a este intervalo porque as atividades florais e dos polinizadores tiveram intensidade reduzida antes e depois deste período. Registrou-se o comportamento dos visitantes, bem como o modo de exploração do recurso nas flores. Os visitantes florais foram capturados com o uso de rede entomológica ou diretamente em frascos coletores, para classificação taxonômica e constatação da presença de pólen.

## Resultados

O Mussambê é uma espécie herbácea, com folhas inteiras ou mais freqüentemente compostas (digitadas), alternas em geral com estípulas durante todo o ano. *C. spinosa* possui flores pouco vistosas de coloração branca, hermafroditas, cíclicas, hipóginas, diclamídias, heteroclamídia.

O cálice é persistente, dialissépalo, tetrâmero e zigomorfo com coloração esverdeada. A corola é dialipétala, tetrâmera, zigomorfa, caduca e de coloração branca. O androceu é dialistêmone, homodinamo e com seis estames; as anteras são basifixas, ditecas, com deiscência rimosa ou longitudinal, sendo o filete roxo e a antera amarela. O gineceu é gamocarpelar, bicarpelar, com estigma indiviso de coloração roxa. O gineceu apresenta um ginóforo que pode ser longo ou curto, caracterizando dois tipos florais: flores hermafroditas (ginóforo longo) e funcionalmente masculinas (ginóforo curto). O ovário é supero na extremidade de um longo ginóforo que ultrapassa o androceu apresentando muitos óvulos e os frutos são classificados como capsular.

Os frutos são simples, seco, do tipo capsular, com deiscência longitudinal; com média de 12,5cm de comprimento, 0,26cm de largura e 0,24cm de espessura; cor verde quando jovem e bege quando maduro; sua superfície externa é rugosa com textura seca; ocorre o afinamento na base e no ápice, havendo sutura do pedúnculo, que é persistente, até o ápice; a média do número de sementes por fruto é 213; a média do comprimento das sementes é 0,15cm, sendo que 1000 sementes pesam 17,47g.

As flores de *C. spinosa* apresentam atributos florais relacionados à síndrome floral de quiropterofilia, tais como corola pouco vistosa, antese crepuscular, grande produção de néctar e pólen.

A atividade floral englobou os estádios de pré-antese, em que não ocorreu polinização; antese, quando aconteceu a abertura assincrônica dos botões florais, e a pós-antese: quando houve a maior freqüência de óvulos fecundados.

A antese é crepuscular, iniciando por volta das 17h30, sendo caracterizada pela separação das pétalas e exteriorização dos órgãos reprodutivos, havendo grande variação na quantidade de flores que se abrem por dia. Nesta fase, os estigmas apresentam coloração roxa e estão receptivos e os grãos de pólen disponíveis. O amadurecimento do fruto, determinado pela mudança de coloração de verde para bege, ocorreu aos 23 dias após a polinização.

A temperatura e luminosidade influenciaram o processo da antese, de forma que, no decorrer de um dia luminoso com temperaturas acima de 25°C, o pico de abertura das flores acontece entre 17h30 e 18h30. Em dias nublados com temperatura abaixo de 25°C, o horário de início da antese foi alterado podendo ocorrer antes das 17h30. Neste estágio, há intensa atividade dos visitantes florais.

Na pós-antese, ocorrem visitas de mariposas, morcegos e detecta-se grande quantidade de grãos de pólen germinados no estigma maior que nos outros estádios, o qual se encontra úmido, secretando substâncias viscosas que podem facilitar a aderência dos mesmos.

O tempo de vida da flor se exaure após, aproximadamente, 72 horas de sua abertura. Entretanto, a espécie apresenta floração assincrônica, isto é, as flores não se abrem ao mesmo tempo nas inflorescências, motivo pelo qual na mesma planta são encontradas flores em diferentes fases de desenvolvimento no decorrer de um dia.

A disponibilidade polínica diminuiu ao longo dos estádios de desenvolvimento floral sendo verificado, respectivamente, 34,7%, 43,3% e 22% na pré-antese, antese e pós-antese. A alteração da cor da corola que se tornara levemente amarelada com o passar do tempo, constituem indicadores da redução da disponibilidade do recurso, semelhante ao observado em *Solanum lycocarpum* (Oliveira e Oliveira, 1988).

O Mussambê apresenta coeficientes de viabilidade polínica acima de 94%, demonstrando não existirem ou ocorrem poucos problemas reprodutivos dos gametas masculinos (Tabela 1). Os resultados concordam com os estudos de outros autores, já que muitas angiospermas produzem elevado percentual de pólen viável, embora, nem todo o pólen seja utilizado na fertilização (Mattos et al., 1999).

O Mussambê apresentou taxa de autogamia natural aproximadamente igual a de alogamia natural (Tabela 2), o que indica um sistema de cruzamento misto.

TABELA 1: Viabilidade do pólen (N\* = 36905 grãos de pólen) de *C. spinosa* em três fases do desenvolvimento das flores (Jequié-BA, Brasil - 2005/06).

Estádios Florais	Total de Grãos de Pólen Viáveis (%)	Coefficiente de Variação (%)
Pré-Antese	94,0	31,70
Antese	96,2	59,40
Pós-Antese	96,0	42,90

N\* = Tamanho Amostral

TABELA 2: Taxa de sucesso reprodutivo obtido a partir dos cruzamentos naturais e artificiais, controle e apomixia em *C. spinosa* (Jequié-BA, Brasil - 2005/06).

Sistema Reprodutivo (Modalidade)	Nº Total de Flores Utilizadas	Nº Total de Mesocarpos Esperados	Nº Total de Mesocarpos Observados	Sucesso Reprodutivo (%)
Controle	100	100	34	34
Autogamia (Natural)	100	100	10	10
Autogamia (Artificial)	100	100	24	24
Alogamia (Natural)	100	100	11	11
Alogamia (Artificial)	100	100	35	35
Apomixia	100	100	0	0

Houve grande variação no número de sementes formadas nos frutos que atingiram a maturidade tanto nas flores manipuladas quanto em flores mantidas sob condições naturais (Tabela 3).

de novas combinações de genes codificadores de caracteres de interesse agrônomo (Paterniani, 1974), como por exemplo, a produção de óleos essenciais que, por serem amplamente utilizados pelas indústrias farma-

TABELA 3: Número de sementes e frutos em função do sistema reprodutivo em *C. spinosa* (Jequié-BA, Brasil – 2005/06).

Sistema Reprodutivo (Modalidade)	Número de Frutos Formados (NF)	Número de Sementes Obtidas (NS)	NS/NF
Controle	34	2.736	80,47
Autogamia (Natural)	10	587	58,70
Autogamia (Artificial)	24	1.764	73,50
Alogamia (Natural)	11	728	66,19
Alogamia (Artificial)	35	3.541	101,17
Apomixia	0	0	0

## Discussão

A viabilidade polínica constitui-se em fator importante para o melhoramento de plantas, pois em algumas espécies, cada grão de pólen leva consigo o material genético consequência da heterozigose dos parentais, fazendo com que as  $F_{1s}$  não transmitam na próxima geração genótipos, em que os genes estejam fixados ou em homozigose, mas sim, o próprio gameta, tamanha a probabilidade de diferentes combinações entre alelos (Souza et al., 2002).

Foi observado a formação do tubo polínico nos três estádios de observação, sendo que 1,20% dos grãos germinaram na pré-antese, 1,70% na antese e, 9,33% na pós-antese. A baixa taxa de germinação do pólen pode ser explicada a provável ocorrência de auto-incompatibilidade parcial. O crescimento do tubo polínico é considerado por Biondo e Battistin (2001), como fator preponderante no pegamento dos frutos.

A autogamia que é comum em plantas invasoras herbáceas, permite à população adaptação a curto prazo às condições ambientais. Porém, a longo prazo, a alogamia garante maior flexibilidade adaptativa à espécie, por proporcionar maior variabilidade genética (Allard, 1971; Paterniani, 1974).

A alogamia possibilita a manutenção ou aumento do vigor híbrido em algumas espécies pela ocorrência

cêuticas, têm alto valor no mercado nacional e internacional (Nation et al., 1992).

Em um programa de melhoramento genético do Mussambê, sugere-se utilizar, na formação de linhagens, a autofecundação artificial e, na produção de híbridos, a fecundação cruzada manual, uma vez que os processos reprodutivos artificiais (35%) e os cruzamentos naturais (34%) apresentaram maiores taxas de sucesso reprodutivo que os naturais (11%).

O maior índice de germinação polínica e a receptividade do estigma ocorre na pós-antese, sendo este o melhor estágio para a realização de cruzamentos em *C. spinosa*.

A relação P: O para *C. spinosa* indica que a espécie é autógama obrigatória (cf Cruden, 1977), estando relacionado ao modo de polinização e ao sistema reprodutivo nesta espécie.

Houve diferenças na formação de sementes de *C. spinosa*, as quais podem estar relacionadas com a inadequada recepção de pólen pelo estigma, fenômeno comum em plantas (Burd, 1994), à limitação de pólen liberada pelas anteras ou por esta espécie ser pouco domesticada.

As flores do Mussambê foram visitadas, por abelhas dos gêneros *Apis*, *Bombus*, mariposas e morcegos.

Entre as abelhas, o comportamento foi semelhante. Todas as abelhas ao chegarem próximo a flor, pousam nas sépalas, caminham sobre os estames e coletam pólen ativamente permanecendo de 3 a 10 segundos nas flores. No processo, o pólen é depositado em suas patas e, em seguida, voam em direção a outras flores, onde contatam novamente com estigmas.

As observações de campo realizadas revelaram que a partir das 18:30h, nota-se uma grande presença de outros agentes polinizadores tais como: mariposas e morcegos. As mariposas são mais freqüentes, pousando nas pétalas e se utilizam da probóscide para retirar o néctar na região da base da flor, permanecendo na flor de 10 a 40 segundos. As visitas de morcegos iniciam por volta das 19:00, sendo o período de maior freqüência entre 19h30 e 24h. Os morcegos (*Glossophaga* sp) utilizam um comportamento bastante peculiar, sendo que ao tocar em uma flor e retirar o néctar, rapidamente voam em direção a outra flor conduzindo pólen na sua região ventral, entrando em contato com seu estigma. Os morcegos não chegam a se apoiar nas flores, pois as mesmas são frágeis. Eles utilizam a língua para coletar o néctar oferecido, permanecendo de 1 a 3 segundos nas flores.

Sazima et al. (1995) admitem a importância da utilização dos recursos florais pelos morcegos e reconhecem que um grande número de espécies de plantas tem recebido visitas constantes destes animais.

O vermelho neutro evidenciou padrões de coloração na antera e cálice. O odor presente nas flores, provavelmente, contribui para aumentar a transferência de pólen entre diferentes indivíduos, uma vez que o olfato é um dos sentidos mais importantes para os insetos e morcegos (Barth, 1985).

É válido enfatizar que, durante o experimento, foi detectada a presença de formigas por todo o vegetal. Suas visitas iniciam-se tão logo as plantas emitem as inflorescência do eixo principal, independente da presença de flores abertas ou se abrindo. Elas se deslocam aleatoriamente por todo indivíduo, detendo-se, principalmente, nos nectários extraflorais, de onde coletam o néctar. Muito raramente chegam até as flores e quando o fazem limitam-se a percorrer as pétalas, sem causar-lhes danos.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa concedida ao primeiro autor, à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), a Faculdade de Tecnologia e Ciências (FTC) e ao Grupo de Pesquisa em Biotecnologia, Genética Vegetal e Melhoramento de Plantas (PLANTGEN - UESB) e Plantas Medicinais (PLANTMED - FTC).

## Referências

- Allard, R. W. 1971. **Princípios do melhoramento genético de plantas**. Edgard Blucher, São Paulo, Brasil, 381pp.
- Almeida, E. C. 1986. Biologia floral e mecanismos de reprodução em *Crotalaria mucrota*, Desv. **Ceres**, **33** (190): 528-540.
- Almeida, O. S.; Silva, A. H. B.; Silva, A. B.; Silva, A. B.; Amaral, C. L. F. 2004. Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavacão (*Ocimum officinalis* L.) visando o melhoramento genético. **Revista Acta Scientiarum**, **26** (3): 343-348.
- Barth, F. G. 1985 **Insects and flowers: the biology of a partnership**. Princeton University Press, Princeton, USA, 297pp.
- Biondo, E.; Battistin, A. 2001. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) G. Don e *Rhynchosia* Lour. (Leguminosae – Faboideae) nativas na Região Sul do Brasil. **Bioikos**, **15** (1): 39-44.
- Brown, A. H. D. 1989. Genetic characterization of plant mating systems. In: Brow, A. H. D.; Clegg, M. T.; Kahler, A. L. & Weir, B. S. (ed.). **Plant populations genetics, breeding and genetics resources**. Sinauer, Sunderland, USA, p.145-162.
- Burd, M. 1994. Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. **The Botanical Review**, **60**: 83-139.
- Carneiro, V. T. C.; Dusi, D. M. A. 2002. Apomixia: em busca de tecnologias de clonagem de plantas por sementes. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, **25**: 1-11.
- Clegg, M. T. 1980. Measuring plant mating systems. **Bioscience**, **30** (12): 814-818.
- Cruden, R. W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, **31**: 32-46.
- Hamrick, J. L.; Godt, M. J. 1990. Allozyme diversity in plant species. In: Brow, A. H. D.; Clegg, M. T.; Kahler, A. L. & Weir, B. S. (ed.). **Plant populations genetics, breeding and genetics resources**. Sinauer, Sunderland, USA, p.43-63.
- Johansen, D. A. 1940. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill, New York, USA, 523pp.
- Juntilla, O. 1976. Seed and embryo germination in *Syringa vulgaris* and *S. reflexa* as affected by temperature during seed development. **Physiologia Plantarum**, **29**: 264-268.
- Kearns, C. A.; Inouye, D. W. 1993. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado, Niwot, USA, 523pp.

- Lawrence, G. H. 1966. **Taxonomy of vascular plants**. Mcgraw-Hill, New York, USA, 823pp.
- Linsley, E. C.; Cazier, M. A. 1963. Further observation on bees which take pollen from plants of genus *Solanum*. **Pan Pacific Entomologist**, **39** (1): 1-18.
- Mattos, A. C. F.; Battistin, A.; Biondo, E. 1998. Comportamento meiótico e estimativa da viabilidade de grãos de pólen em 10 genótipos de 3 espécies do gênero *Stylosanthes* Sw. Nativas do Sul do Brasil. **Genetics and Molecular Biology**, **21** (3): 194.
- Nation, G. R.; Janick, J.; Simon, E. J. 1992. Estimation of outcrossing in basil. **HotSiencence**, **27** (11): 1221-1222.
- Oliveira, A.T.; Oliveira, L.C.A. 1988. Biologia floral de uma população de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae) em Lavras, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, **11**: 23-32.
- Ormond, W. T.; Pinheiro, M. C. B. 1974. Contribuição aos estudos bioquímico e ecológico de *Petiveria alliaceae*. L. **Revista Brasileira de Biologia**, **34** (1): 123-142.
- Paterniani, E. 1974. Evolução dos sistemas dos vegetais. **Ciência e Cultura**, **26** (5): 476-481.
- Ribeiro, J. E. L. S. 1999. **Flora da reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta da terra-firme na Amazônia Central**. INPA, Manaus, Brasil, 799pp.
- Sazima, M.; Buzato, S.; Sazima, I. 1995. Polinização de *Vriesea* por morcegos no sudeste brasileiro. **Bromélia**, **2** (1): 29-37.
- Souza, M. M.; Pereira, T. N. S.; Martins, E. R. 2002. Microesporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em Maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener). **Ciência Agrotécnica**, **26** (6): 1209-1217.