

Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavacão (*Ocimum officinalis* L.) visando o melhoramento genético

Obertal da Silva Almeida, Alisson Harley Brito da Silva, Anderson Barbosa Silva, Anderson Brito da Silva e Cláudio Lúcio Fernandes Amaral*

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Jequié, Rua José Moreira Sobrinho, s/n, Jequiezinho, 45240-410, Jequié, Bahia, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: cpjq@uesb.br

RESUMO. O Gênero *Ocimum*, da Família Lamiaceae, compreende plantas ricas em óleos essenciais destinados às indústrias para produção de fármacos, perfumes e cosméticos. O conhecimento do sistema reprodutivo é extremamente relevante, pois permite definir estratégias de seleção com base em cruzamentos intra e interpopulacionais. O objetivo deste trabalho foi estudar a biologia floral e os mecanismos reprodutivos do alfavacão com vistas ao melhoramento genético. A atividade floral compreendeu três estádios florais: primeiro, pré-antese, quando ocorreu a polinização; segundo, antese, quando aconteceu a abertura assincrônica de estames e, terceiro, pós-antese, quando houve a fecundação dos óvulos. O processo de antese está intimamente relacionado com as condições climáticas. Os acessos de *O. officinalis* do Banco de Germoplasma de Plantas Medicinais da UESB, apesar de se reproduzirem, predominantemente, por autofecundação, podem apresentar fecundação cruzada, o que evidencia a ampla versatilidade reprodutiva dessa espécie, acentuando a variabilidade genética, a qual é essencial para sua evolução.

Palavras-chave: planta medicinal, reprodução, cruzamentos.

ABSTRACT. Study of the floral biology and reproductive mechanisms of *Alfavacão* (*Ocimum officinalis* L.) aiming at genetic improvement. Some of the plants from *Ocimum* genus in *Lamiaceae* family are source of essential oils used in pharmacy, perfume and cosmetics industry. The knowledge of mate systems is extremely important because it allows to define selection strategies based on **intra and interpopulation crossbreeding**. The aim of this work was to study floral biology and reproductive mechanisms of *alfavacão* aiming at genetic improvement. The floral activity included three floral stages: first, pre-anthesis, when the pollination happened; second, anthesis, when the asynchronous opening of stamens happened; and third, pos-anthesis, when there was the fecundation of the ova. The anthesis process is intimately related to climatic conditions. The accesses of *O. officinalis* from *Banco de Germoplasma de Plantas Medicinais da UESB* (Medicinal Plants Germplasm Bank from UESB), in spite of reproducing, predominantly, by self crossing, may present outcrossing reproduction. This makes evident the wide reproductive versatility of this species, accentuating the genetic variability, which is essential for evolution.

Key words: medicinal plant, reproduction, mate systems.

Introdução

O Brasil apresenta uma das maiores biodiversidade vegetal da Terra, e pelo menos a metade das espécies vegetais pode apresentar alguma propriedade terapêutica útil à população, mas nem uma parte ínfima dessas plantas foi ainda estudada (Martins *et al.*, 1994), principalmente no que se refere à sua variabilidade genética. Entre as plantas medicinais de grande importância encontra-se o alfavacão (*Ocimum officinalis* L.), planta da família

Lamiaceae que ocorre freqüentemente nas Regiões Sudeste e Nordeste do país (Martins, 1998).

O Gênero *Ocimum*, pertencente à Família Lamiaceae, compreende plantas ricas em óleos essenciais destinados às indústrias para produção de fármacos, perfumes e cosméticos (Morales *et al.*, 1996). *O. officinalis*, por apresentar flores e folhas de sabor suave e picante, é utilizado também como condimento.

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 mais apropriadas a serem usadas (Allard, 1971). Torna-se necessário definir se o germoplasma reproduz por autogamia ou alogamia, pois os métodos de melhoramento usados são diferentes (Iuchi, 1994). As técnicas de manipulação devem ser escolhidas de acordo com as formas de reprodução, ou seja, se é sexual ou assexual ou a combinação das duas, a natureza das estruturas florais, a proporção de transferência de pólen, o grau e o tipo de auto-incompatibilidade e o efeito da segregação sobre o vigor (Frankel e Galun, 1977).

Este trabalho tem por objetivo estudar a biologia floral e os mecanismos reprodutivos do alfavacão que são essenciais para programas de melhoramento genético dos acessos de *Ocimum officinalis* do Banco de Germoplasma de Plantas Medicinais da UESB/Campus Jequié, Estado da Bahia.

Material e métodos

Local do Estudo - As investigações foram conduzidas em área experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), localizada no Campus Jequié - BA (13° 51' S e 40° 05' W).

Período de Realização dos Experimentos - Os dados foram obtidos entre outubro de 2002 e novembro de 2003, o que corresponde a um período total de 1000 horas de observações.

Obtenção das Plantas - As plantas foram obtidas dos acessos da coleção ativa do Banco de Germoplasma de Plantas Medicinais da UESB / Campus Jequié - BA. Foram cultivadas ao ar livre em canteiros de 5m (comprimento) x 1 m (largura).

Diagnose Floral - A descrição das flores e inflorescências de *O. officinalis* foi baseada em estudos de material vivo, e a exsicata encontra-se depositada no Herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (HUESB) identificada com o número HUESB363, situado no Campus Jequié, Estado da Bahia.

Eventos Florais

Fases de Desenvolvimento Floral - Para determinação da antese foram feitas observações diárias da abertura de 50 botões florais de 10 inflorescências, previamente, marcadas no período das 7h às 19h. 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, para serem utilizados nos cruzamentos artificiais, foi descrita a morfologia externa segundo a chave analítica proposta por Bentham (1832) para identificação das espécies do

gênero *Ocimum*, relacionando-a com as atividades internas: polinização, disponibilidade, viabilidade e germinação dos grãos de pólen.

Receptividade do Estigma - Esse parâmetro foi verificado pelo aspecto viscoso e umectante dos estigmas (Almeida, 1986) e testado utilizando peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% (Kearns e Inouye, 1993), ressaltando-se que as flores foram observadas nos estádios de pré-antese, antese e pós-antese.

Disponibilidade dos Grãos de Pólen - A disponibilidade polínica foi obtida por meio da contagem dos grãos de pólen após a deiscência das anteras.

Viabilidade dos Grãos de Pólen - Esse parâmetro foi analisado com os grãos de pólen retirados das anteras provenientes de flores de 10 indivíduos diferentes, corados com carmim acético, segundo a técnica de Linsley e Cazier (1963), Lawrence (1966), Almeida (1986) e Kearns e Inouye (1993), em diferentes estádios de desenvolvimento floral.

Germinação dos Grãos de Pólen - Esse parâmetro foi estimado pela maceração dos estigmas em presença de azul-de-amã, segundo a técnica de Johansen (1940), e ao microscópio óptico (microscopia de luz /aumento de 100 vezes) contados os pólenes germinados e os não germinados.

Polinização - A autopolinização (autogamia) natural foi estimada pelo ensacamento de 300 botões florais de 25 inflorescências, 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 qual foi visualmente determinada.

A autopolinização (autogamia) artificial foi estimada pelo ensacamento de 300 botões florais, que foram emasculados antes da deiscência das anteras e, posteriormente, polinizados manualmente com pólenes de flores de outras inflorescências no mesmo indivíduo, sendo logo após ensacados para não ocorrer contaminação.

A polinização cruzada (alogamia) natural foi testada em 300 botões, os quais, após emasculados, 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 300 botões florais, que foram totalmente emasculados antes da deiscência das anteras. Tanto os botões artificialmente polinizados quanto aqueles dos quais o pólen foi retirado foram protegidos com sacos de polietileno, a fim de evitar a contaminação

com o pólen de outras flores. Imediatamente após a emasculação, 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 a cada vez que era usada; em seguida, os botões florais foram novamente ensacados. Foram etiquetadas 50 flores, com o objetivo de estimar o percentual de frutos produzidos em condições naturais.

Foram contadas as sementes normais e as anormais dos frutos originários tanto da autogamia quanto da alogamia natural e artificial. Consideraram-se normais às sementes lisas e íntegras e como anormais as sementes que apresentaram-se enrugadas.

Visitantes Florais - Os visitantes florais foram estudados via observações in loco feitas entre 1º de setembro a 31 de novembro de 2003. Para serem taxonomicamente classificados, os insetos foram capturados por meio do uso de puçá ou rede entomológica, sendo que para a descrição do comportamento dos visitantes foram efetuados registros fotográficos.

Resultados

Diagnose Floral - O alfavacão é uma espécie anual, que floresce durante todo o ano. *O. officinalis* possui inflorescências terminais, plurifloras simples do tipo indefinida, racimosa, centrípeta ou monopodial, com flores situadas em pedicelos, saindo de diversos níveis no eixo primário e atingindo diferentes alturas, com pré-floração do tipo valvar induplicada. Na inflorescência em cada grupo de três flores há uma pequena folha. As flores têm coloração branca, sendo caracterizadas como completas, hermafroditas, cíclicas, hipóginas, diclamídeas e heteroclamídeas. O cálice é persistente, gamossépalo, pentâmero e zigomorfo com coloração esverdeada, com o labelo do cálice oposto ao labelo da corola. A corola é gamopétala, pentâmera, zigomorfa e caduca de coloração branca. O androceu é dialistêmone, oligostêmone, didínamo e epipétalo com quatro estames; as anteras são livres, dorsifixas, ditectas e extrosas, com deiscência rimosa ou longitudinal, sendo o filete branco e a antera amarela. O gineceu é gamocarpelar e bicarpelar, com estigma bifido, de coloração branca e com estilete ginobásico branco. O ovário é súpero, tetralobado, com um disco nectarífero na base. Os frutos são tetraquênios apresentando quatro sementes pequenas, amarronzadas e ligeiramente alongadas.

Eventos Florais

Fases de Desenvolvimento Floral - A atividade floral compreendeu três estádios florais: primeiro, pré-antese, quando ocorreu a polinização; segunda, antese, quando aconteceu a abertura assíncrona de flores e terceiro, pós-antese, quando houve a fecundação dos óvulos. O processo de antese está intimamente relacionado com as condições climáticas. Em dias ensolarados e de temperatura acima de 25°C, este processo tem início às 9h continuando ao longo da inflorescência durante todo o período luminoso. O clímax de floração, no decorrer de um dia, ocorre entre às 9h30min e 10h, coincidindo com períodos de temperaturas elevadas. Nos dias de temperaturas inferiores a 25°C, o horário de início da antese é alterado e pode começar depois das 10h.

Receptividade do Estigma - O período de receptividade do estigma ocorreu, predominantemente, entre às 7h e 16h, sendo que dos testes utilizados, o de atividade da catalase, com taxa de 90% de receptividade, mostrou-se mais eficiente do que o de verificação do aspecto viscoso e umectante, com taxa de 12% de receptividade.

Viabilidade dos Grãos de Pólen - Pela análise de viabilidade de grãos de pólen, obteve-se uma porcentagem média de viabilidade de 97% na pré-antese, 97% na antese e 98% na pós-antese (Tabela 1).

Tabela 1. Viabilidade do pólen de *O. officinalis* em três fases do desenvolvimento das flores.

Estádios Florais	Número Total de Grãos de Pólen	Média (%)	C.V. (%)
Pré-antese	3823	97 ± 27,24	59,20
Antese	8130	97 ± 53,70	26,80
Pós-antese	1710	98 ± 11,80	26,20

Germinação dos Grãos de Pólen - Pela análise de germinação dos grãos de pólen, foi observado uma porcentagem média de germinação em torno de 0%, 0,75% e 92%, respectivamente, na pré-antese, antese e pós-antese.

Sistema Reprodutivo - O alfavacão apresentou taxas de 96%, 15%, 25%, e 5% para, respectivamente, autopolinização natural e artificial, polinização cruzada natural e artificial, o que indica que a espécie é, preferencialmente, autógama (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados de cruzamentos naturais e artificiais em *O. officinalis*.

Sistema Reprodutivos (Modalidades)	Nº Total de Flores Utilizadas	Nº Total de Frutos Esperados	Nº de Frutos Observados	Sucesso Reprodutivo (%)
Autogamia (Natural)	300	1200	1152	96
Autogamia (Artificial)	300	1200	178	15
Alogamia (Natural)	300	1200	296	25
Alogamia (Artificial)	300	1200	59	5

Visitantes Florais - As espécies da família Lamiaceae têm uma estrutura floral favorável à polinização por abelhas (Khosla, 1986). Os insetos que visitaram as flores de *O. officinalis* são de hábito diurno e não apresentaram a mesma regularidade nas visitas. Dentre eles, destacam-se a *Apis mellifera*, que é o polinizador mais comum do gênero *Ocimum* (Darrah, 1980).

Discussão

A presença de menor número de flores e maior produção de frutos pode sugerir menor eficiência em atrair polinizadores, o que é ainda mais enfatizado pela coloração não-vistosa da corola, favorecendo a autogamia em detrimento da alogamia. Flores pequenas, com pouca quantidade de grãos de pólen e androceu e gineceu próximos são características de plantas autógamas (Koptur, 1984).

As flores de *O. officinalis* apresentam atributos florais relacionados à síndrome floral de Melitofilia (Faegri e Van der Pijl, 1980), tais como corola pouco tubulosa, odor doce, pequena distância entre a câmara nectarífera e os órgãos sexuais e antese diurna. Por outro lado, essas características nem sempre são suficientes para definir o polinizador da espécie.

Na pré-antese, o cálice envolve todo o botão floral, não oferecendo, portanto, possibilidade de acesso a nenhum agente polinizador, o que, segundo Almeida (1986), pode indicar autofecundação ou autogamia. Ocorre, ainda nesse estágio, a liberação dos grãos de pólen e a deposição destes sobre o estigma, que já se encontra receptivo, embora a flor permaneça fechada. Portanto, acontece, a polinização, mas não a germinação dos grãos de pólen.

Antes da antese, verifica-se que as bordas laterais do labelo do cálice dobram sobre si mesmas, a ponta se eleva e os lacínios laterais do cálice afastam-se do eixo central da corola, formando a abertura do cálice, liberando a corola e exteriorizando os órgãos reprodutores e assim se completa a antese.

O tempo de vida da flor se exaure após, aproximadamente, 24 horas de sua abertura. Entretanto, as flores não se abrem de maneira sincrônica na inflorescência, razão pela qual, em uma mesma planta, são encontradas flores em diferentes fases de desenvolvimento no decorrer de um dia.

Na pós-antese, há visita de insetos e é grande o número de tubos polínicos no estigma, que se encontra úmido, secretando substâncias viscosas que facilitam a aderência dos grãos de pólen. O estigma fica receptivo desde a fase da pré-antese a pós-antese. Além disso, foi observado que o estigma encontra-se receptivo antes da deiscência da antera, portanto, *O. officinalis* é protogínica, contrastando com os resultados obtidos por Sobti e Pushpangadan (1982) para a grande maioria das espécies do gênero *Ocimum* que são protândricas. A disponibilidade polínica variou ao longo dos estádios de desenvolvimento floral, sendo contabilizado, respectivamente, 3958, 8287 e 1740 pólenes na pré-antese, antese e pós-antese.

A. mellifera está presente na população de *O. officinalis* durante todos os meses do ano, pousando, em cada visita, em várias flores, permanecendo nelas de 5 a 10 segundos. Sendo que após o pouso na corola, o inseto agarra-se aos lacínios desta com o primeiro par de patas; com as outras, procura equilibrar-se sobre a flor, especialmente, sobre a pétala maior, ou, ainda, sobre o próprio cálice. Em seguida, introduz a cabeça no tubo da corola, o que lhe facilita o contato do aparelho bucal com o disco nectarífero situado na base do ovário. Ao fazer esse movimento em busca do néctar, a abelha pressiona as pétalas para baixo, balançando os estames de modo que o pólen se disperse, aderindo-se ao seu corpo. Quando a abelha deixa a flor, todas as peças florais que tiveram suas posições alteradas retornam à posição inicial.

O inseto, ao visitar outra flor, deixa o pólen, aleatoriamente, em seu estigma. As flores, embora cleistogâmicas, recebem, normalmente, pólen exógeno por meio dos polinizadores. Um bom polinizador visita grande número de plantas de uma mesma espécie, transportando, por sua vez, numerosos grãos de pólen em seus pêlos ramificados, requisito este que faz da *A. mellifera* um importante vetor de pólen para *O. officinalis*, garantido elevada produção de sementes e assegurando variabilidade genética da espécie.

Cabe enfatizar que, durante o experimento, foi observado, a presença de formigas por todo o vegetal. Suas visitas iniciam-se tão logo as plantas emitem a inflorescências do eixo principal,

independentemente de haver flores abertas ou se abrindo. Elas se deslocam aleatoriamente por todo o 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.

A autogamia permite a formação de sementes sem que haja necessidade de polinizadores (Parteniani, 1974). Nesse caso, a taxa de cruzamentos é importante, porque produz contaminação de materiais genéticos. Assim, devido a ocorrência de autogamia, pode-se inferir que a espécie *O. officinalis* é autocompatível, sendo alta a viabilidade das sementes originadas por autopolinização.

Espécies do gênero *Ocimum*, além de serem autocompatíveis, são alocompatíveis, pois cruzamentos interespecíficos resultam em híbridos férteis, a exemplo de *O. kilimandscharicum* x *O. americanum* e *O. gratissimum* x *O. sanctum* (Sobti e Pushpangadan, 1982). A alogamia possibilita a manutenção ou o aumento do vigor híbrido das espécies pela ocorrência de novas combinações de genes codificadores de caracteres de interesse agrônomo (Parteniani, 1974), como por exemplo, a produção de óleos essenciais que, por serem amplamente utilizados pelas indústrias farmacêuticas, têm alto valor no mercado nacional e internacional (Nation *et al.*, 1992).

Todas as flores do controle produziram frutos que tiveram crescimento e desenvolvimento normais. Esses frutos apresentaram sementes normais, tanto na autogamia quanto na alogamia, significando que a espécie em estudo pode-se reproduzir pelos dois sistemas. Na época da polinização, a flor encontra-se fechada, significando que os grãos de pólen são compatíveis e suficientes para fecundar os óvulos da flor. Assim, ocorre cleistogamia nas flores de *O. officinalis*.

Como a fecundação acontece na pós-antese com a flor já aberta, é possível ocorrerem pequenas taxas de fecundação cruzada, o que condiz com o estudo feito por Khosla (1986), Krishnan (1981) e Nation *et al.* (1992) e contradiz com o conduzido por Darrah (1974) e Torrey (1989) em diferentes espécies do gênero *Ocimum*. Na hibridação envolvendo plantas alógamas, cada grão de pólen leva consigo a herança genética conseqüente da heterozigose, fazendo com que essas plantas não transmitam para próxima geração genótipos e fenótipos em que os genes estejam fixados ou em homozigose, mas sim o próprio gameta, tamanha a probabilidade de diferentes associações alélicas (Souza *et al.*, 2002).

Em *O. officinalis*, a antese de cada flor ocorre em espaço de tempo muito curto, o que é justificado pela rápida senescência floral, mas, em razão do assincronismo e da intermitência da abertura das flores, a atividade floral, no decorrer de um dia, mantém-se intensa, promovendo o fluxo constante de recompensa aos insetos polinizadores.

Pelo exposto, verifica-se que, mediante eventual falha na cleistogamia, a flor tem a fecundação de seus óvulos efetivada, pois na fase de pós-antese o estigma ainda permanece receptivo, indicando que *O. officinalis* apresenta também capacidade de se reproduzir por fecundação cruzada, o que é confirmado pelo fato de se terem obtido frutos a partir de flores totalmente emasculadas.

Agradecimentos

A Fapesb pela Concessão da Bolsa de Iniciação Científica, à Coordenação de Pesquisa da UESB e ao PLANTGEN - Grupo de Pesquisa em Biotecnologia, Genética Vegetal e Melhoramento de Plantas.

Referências

- ALLARD, R. W. Sistemas reprodutivos e métodos de melhoramento de plantas. In: *Princípios do melhoramento genético de plantas*. Rio de Janeiro: Edgard Blucher, 1971. cap. 4, p. 25-40.
- ALMEIDA, E. C. de. Biologia floral e mecanismos de reprodução em *Crotaria mucrota*, *Revista Ceres*, Viçosa, v. 33, n.190, p.528-540, 1986.
- BENTHAM, G. *Ocimum*. In: *Labiatarum genera et species*. London: Ridgeway & Sons, 1832. p. 1-19.
- DARRAH, H. H. Investigations of the cultivars of basils (*Ocimum*). *Econ. Bot.*, New York, v. 28, p.63-67, 1974.
- DARRAH, H. H. 1980. *The cultivated basils*. Independence: Buckeye Printing, 1980.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The principles of pollination ecology*. Oxford: Pergamon Press, 1980.
- FRANKEL, R.; GALUN, E. *Pollination mechanisms, reproduction and plant breeding*. Berlin: Springer-Verlang Hiedelberg, 1977.
- IUCHI, V. L. *Morfologia, biologia floral, propagação e crescimento de "rainha do abismo" (Sinningia leucotrichia (Hoene) Moore)*. 1994. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.
- JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York: Mcgraw-Hill Book Company, 1940.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D.W. *Techniques for pollination biologists*. Niwot: University Press of Colorado, 1993.
- KHOSLA, M. K. Inter-relationship studies of different species of the genus *Ocimum*. *J. Plant Anat. Morphol.*, Jodhpur, n.3, p.157-167, 1986.
- KOPTUR, S. Outcrossing and pollinator limitation of fruit set: Breeding systems of neotropical *inga* trees

- (Fabaceae: Mimosoideae). *Evolution*, Vernon, v. 38, n. 5, p. 1130-1143, 1984.
- KRISHNAN, R. Natural outcrossing in sweet basil, *Ocimum basilicum* L. *Industrial Perfumer*, v. 25, n. 6, p. 74-77, 1981.
- LAWRENCE, G. H. *Taxonomy of vascular plants*. New York: McGraw-Hill Book Company, 1966.
- LINSLEY, E. C.; CAZIER, M. A. Further observation on bees which take pollen from plants of genus *Solanum*. *Pan - Pac. Entomol.*, San Francisco, v. 39, n.1, p. 1-18, 1963.
- MARTINS, E. R. et al. *Plantas Medicinais*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1994.
- MARTINS, E. R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C. *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: UNESP, 1998. p. 97-126.
- MORALES, R. M. et al. New basil selections with compact inflorescence of the ornamental market. p. 543 - 546. In: *J. Janick*. New crops: ASHS Press, 1996.
- NATION, G. R. et al. Estimation of outcrossing in basil. *HortScience*, Alexandria, v. 27, n. 11, p. 1221-1222, 1992.
- ORMOND, W. T.; PINHEIRO, M. C. B. Contribuição ao estudo biossintético e ecológico de *Petiveria alliaceae*. L. *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v. 34, n. 1, p. 123-142, 1974.
- PATERNIANI, E. Evolução dos sistemas dos vegetais. *Cienc. Cult.*, São Paulo, v. 26, n.5, p. 476-481, 1974.
- SOBTI, S.; PUSHANGADAN, P. Studies in the genus *Ocimum*: cytogenetics, breeding and production of new strains of economic importance. In: *Cultivation and Utilization of Aromatic Plants*. Kapur: C. K. Atal and B. M., 1982. p. 457-472.
- SOUZA M. M. et al. 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*, Campinas, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.
- TORREY, T. Breeding herbs of culinary and ornamental use. In: *Natural. Herb Growing and Marketing Conference*. San Jose: Proceedings Buehrle, 1989. p. 38-40.

Received on May 19, 2003.

Accepted on September 30, 2004.