

## Caracterização citogenética, viabilidade de pólen e hibridação artificial em gérbera

Raquel DL Cardoso<sup>1</sup>; Magali F Grando<sup>2</sup>; Simone MS-Basso<sup>2</sup>; Monique Inês Segeren<sup>3</sup>; Lizete Augustin<sup>4</sup>; Marilei Suzin<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pós-Graduanda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da Universidade de Passo Fundo (UPF), C. Postal 611, 99001-970 Passo Fundo-RS; <sup>2</sup>UPF, PPGAgro, Fac. de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV); <sup>3</sup>ProClone Comércio de Mudas e Matrizes, C. Postal 157, 13825-000 Holambra-SP; <sup>4</sup>UPF, FAMV, Laboratório de Biotecnologia Vegetal; raqueldlcardoso@bol.com.br; magali@upf.br

### RESUMO

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de confirmar o número de cromossomos em cultivares de *Gerbera hybrida* Hort., determinar o número de cromossomos em acessos não comerciais de *Gerbera* sp., avaliar a viabilidade de pólen e a possibilidade de cruzamentos entre cultivares e acessos não comerciais. Foram coletados ápices de raízes e pólen de seis cultivares e de sete acessos não comerciais. O material coletado foi corado com carmin acético a 45%. A contagem dos cromossomos foi realizada em células metafásicas intactas e a estimativa de viabilidade de pólen realizada por meio da contagem do número de grãos de pólen viáveis e não viáveis. A possibilidade de cruzamento entre as cultivares e entre as cultivares e acessos não comerciais foi avaliada por meio da hibridação entre os genitores femininos, cv. Terra Fame e acesso A8, e masculinos, cvs. Cariba e Azteca. Todos os acessos contiveram cinquenta cromossomos, indicando que a variação morfológica nos capítulos (simples, semidobrado e dobrado) não é devida a mutações cromossômicas numéricas ou a poliploidia. A viabilidade do pólen variou de 87,67% a 99,27%. A formação de sementes foi de 4,46% nos cruzamentos entre cultivares, e de 50% entre o A8 e as cultivares. A compatibilidade genômica entre os acessos, a alta viabilidade do pólen e o sucesso na obtenção de sementes entre acessos comerciais e não comerciais, revela a possibilidade de produção de híbridos com novas combinações alélicas e transferência de caracteres desejáveis dos acessos não comerciais para os comerciais.

**Palavras-chave:** *Gerbera* sp., citogenética, melhoramento de ornamentais, polinização.

### ABSTRACT

#### Chromosome number, pollen viability and gerbera hybridization

This work was conducted to confirm the chromosomes number of *Gerbera hybrida* Hort. cultivars, to determine the chromosomes number in the non commercial accessions of *Gerbera* sp., and to estimate the pollen viability and the possibility of crossings among different accessions. Root-tip and pollen were collected from six cultivars and seven non commercial accessions. The collected material was stained with acetic carmin at 45%. The chromosome counting was performed in metaphasic intact cells and the pollen viability estimated by counting the number of viable and non viable pollen grains. The crossing possibility among cultivars and among cultivars and non commercial accessions was evaluated through the hybridization between the feminine cv. Terra Fame and A8 and masculine genitors, cvs. Cariba and Azteca. All accessions presented fifty chromosomes, indicating that the morphological variation in the capitulum (simple, semidouble and double) is not due to the chromosome number mutation or polyploidy. The evaluated accessions displayed high pollen viability, varying from 87.67% to 99.27. The seed formation was 4.46% in the crossings among cultivars, and 50% among cultivar and non commercial accession of gerbera. The genomic compatibility among the accessions, the high pollen viability and the success in the seed formation among commercial and non-commercial accessions, reveal the possibility of hybrid production with new allelic combination and transference of desirable traits from the non-commercial to the commercial accessions.

**Keywords:** *Gerbera* sp., cytogenetic, ornamental breeding, pollination.

(Recebido para publicação em 27 de novembro de 2007; aceito em 27 de fevereiro de 2009)

(Received in November 27, 2007; accepted in February 27, 2009)

A gérbera (*Gerbera* spp.) é uma planta perene, herbácea, da Família Asteraceae. O gênero compreende cerca de trinta espécies distribuídas pela África, Madagascar, Ásia tropical, e uma espécie originada nos Andes do Peru, América do Sul (Barroso, 1991). As cultivares modernas da gérbera híbrida (*Gerbera hybrida* Hort), são, na sua maioria, originadas do cruzamento artificial entre *G. jamesonii* H. Bolus ex Hook e *G. viridifolia* Schultz Bip. Híbridos es-

pontâneos destas duas espécies não foram encontrados (Kloss *et al.*, 2005; Sane & Gowda, 2005).

A maioria dos programas de melhoramento genético é realizada por empresas da Holanda, Dinamarca, França, Alemanha, Japão e Israel (Kloss *et al.*, 2005), com enfoque para gérbera de corte, não sendo de conhecimento público os materiais genéticos e os métodos de melhoramento utilizados na obtenção destes híbridos, os quais seriam suposta-

mente diplóides ( $2n=50$ ) (Reynoird *et al.*, 1993; Sane & Gowda, 2005).

A gérbera híbrida apresenta grande variabilidade morfológica dos capítulos, que são classificados comercialmente em simples, semidobrados e dobrados. Além dos híbridos comerciais, são encontradas em jardins residenciais, gérberas de origem desconhecida, das quais não se sabe o número de cromossomos. Esta informação é importante para viabilizar cruzamentos com

cultivares, pois estes materiais podem consistir fontes de variabilidade, principalmente, para a obtenção de plantas mais adaptadas às condições climáticas regionais. Além disso, para se ter sucesso nos cruzamentos é necessário avaliar a viabilidade do pólen e verificar a compatibilidade do genoma em nível cromossômico.

O número de cromossomos é uma das informações mais utilizadas para a caracterização de uma espécie e para a determinação de estratégias a serem empregadas no melhoramento genético. Já, o estudo da viabilidade de pólen permite evidenciar a potencialidade reprodutora masculina contribuindo para o planejamento do melhoramento (Souza *et al.*, 2004). Em gérbera, não foram encontrados trabalhos relacionados à viabilidade de pólen, mas há estudos relacionados à taxonomia (Wodehouse, 1929), morfologia (Lin *et al.*, 2005) e desenvolvimento da exina em *G. jamesonii* (Southworth, 1983). Apesar de a cultura da gérbera ser conhecida mundialmente pelo amplo número de cultivares disponíveis no mercado, há reduzidas informações sobre a espécie, suas técnicas de cultivo e adubação (Ludwig *et al.*, 2008).

Objetivou-se neste trabalho confirmar o número de cromossomos em gérbera híbrida, determinar o número de cromossomos em acessos não comerciais, avaliar a taxa de viabilidade do pólen e a possibilidade de cruzamentos entre cultivares e acessos não comerciais mediante a hibridação artificial.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para análise cromossômica e da viabilidade do pólen foram utilizados treze acessos de gérbera, incluindo seis cultivares e sete acessos não comerciais coletados em jardins do Rio Grande do Sul e Espírito Santo (Tabela 1). Os clones das cultivares foram cedidos pela empresa Proclone Comércio de Mudanças e Matrizes-ME. Junto ao Herbário da Universidade de Passo Fundo (RSPF-11.315), A8 (RSPF-11.316), A9 (RSPF-11.325), A10 (RSPF-11.326), A11 (RSPF-11.327), A12 (RSPF-11.318) e A13 (RSPF-11.317).

As plantas foram cultivadas em vasos de polietileno com diâmetro de 25 cm e capacidade para cinco litros de substrato, sendo este composto por uma mistura de Rendimax Floreira (turfa+vermiculita) e casca de arroz carbonizada, em igual proporção. Esse substrato conteve densidade de 345 g, 70% de porosidade, pH 6,4 e condutividade elétrica de 0,66 mS. O experimento foi implementado em Passo Fundo, entre outubro/05 e abril/06. O clima da região é subtropical úmido (Cfa), segundo Köppen (Moreno, 1961). As temperaturas médias ocorridas durante o período experimental e registradas no interior do ambiente de cultivo, bem como as normais regionais, estão contidas na Figura 1. O cultivo das plantas ocorreu em ambiente semi-protégido, constituído por uma cobertura impermeável (filme de polietileno de baixa densidade leitoso, de 0,15 mm de espessura) e nas laterais, malha de sombreamento a 50% fixa, com cortinas móveis de plástico transparente, a qual permitia uma média de transmitância de radiação solar global de 30%. As plantas foram mantidas sem restrição hídrica, mediante irrigação manual, com auxílio de regador. Foram aplicados fertilizantes líquidos, semanalmente, alternando duas soluções; solução A, contendo 0,8 g L<sup>-1</sup> de nitrato de cálcio, 0,4 g L<sup>-1</sup> de nitrato de amônia, 0,01 g L<sup>-1</sup> de Tenso Ferro e 0,001 g L<sup>-1</sup> de Bórax; e solução B, contendo 0,7 g L<sup>-1</sup> de nitrato de potássio, 0,6 g L<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio, 0,15 g L<sup>-1</sup> de MAP e 0,01 g L<sup>-1</sup> de Tenso Cocktail (Guiseline, 2002).

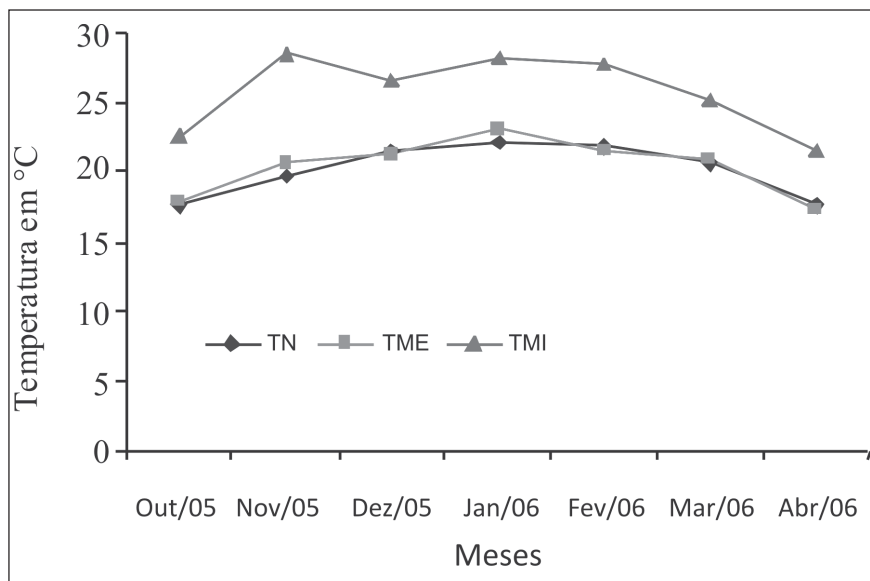
Durante o experimento, foram aplicadas soluções de fungicida (tebuconazole a 0,5 mL L<sup>-1</sup>) para o controle de oídio (*Erysiphe* sp.), acaricida (abamectin a 0,25 mL L<sup>-1</sup>) para controle do ácaro rajado (*Tetranychus* sp.) e inseticida (parathion methyl a 0,7 mL L<sup>-1</sup>) para controle do pulgão e tripses (*Frankliniella* sp.).

As análises de viabilidade de pólen e contagem do número de cromossomos foram realizadas no laboratório da Universidade de Passo Fundo. Para determinar o número de cromossomos foram utilizadas três repetições para os acessos comerciais e duas para os acessos não comerciais. Cada repetição consti-

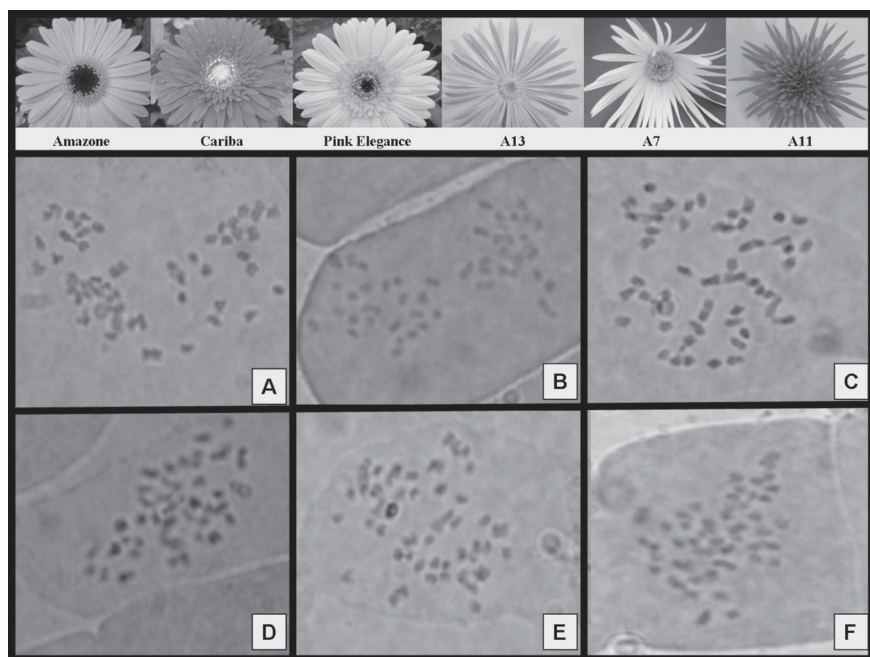
tiu-se de um vaso, com um clone da planta-mãe. Ápices de raízes foram coletados de cada uma das repetições e pré-tratados com gelo por 24 h, fixados em uma mistura de álcool etanol e ácido acético (3:1 v/v) por 24 h, seguindo da hidrólise com HCl a 1N a 60°C por 13 minutos e coloração com carmim acético a 45%. Foram preparadas três lâminas para cada acesso e avaliadas dez células metafásicas com núcleo intacto por lâmina, totalizando trinta células avaliadas por acesso. As análises foram realizadas em microscópio óptico com aumento de 1000X, e as metáfases registradas no computador, por meio do “software” PixelView, com aumento de 1000X.

Para a estimativa da viabilidade de pólen foi coletado pólen de quatro capítulos de cada acesso durante a antese. A coloração dos grãos de pólen foi realizada com carmim acético a 45%, com posterior observação em microscópio óptico. Foram preparadas quatro lâminas por acesso, avaliando-se 1.000 grãos de pólen por lâmina, totalizando 4.000 grãos de pólen por acesso. Considerou-se como pólen viável aquele com tamanho visivelmente normal, protoplasma corado e com exina intacta. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

Após a obtenção dos dados referentes ao número de cromossomos e viabilidade de pólen, foram realizados os cruzamentos, entre maio e junho/07. As temperaturas médias obtidas nestes meses no interior do ambiente semi-protégido foram respectivamente de 17,5 e 18,8°C. Foram utilizados como genitores femininos dois acessos de capítulo simples (cv. Terra Fame e o A8), ambos cruzados com duas cultivares (cv. Cariba e cv. Azteca), utilizadas como genitores masculinos. Foram polinizados quatro capítulos de cada um dos genitores femininos. A escolha dos genitores masculinos foi feita em função de, visualmente, serem os de maior produção de pólen, comparado com os demais acessos, e por terem apresentado alta viabilidade do mesmo. Já os genitores femininos, ambos com capítulos simples, foram selecionados em virtude da facilidade de manuseio e observação da receptividade



**Figura 1.** Temperaturas médias externas (TME), internas (TMI) ocorridas durante o período experimental e as normais regionais (TN) (outside and inside temperature average during the experimental period and the regional normal temperature). Passo Fundo, UPF, 2005-2006.



**Figura 2.** Aspecto dos capítulos de gérbera e das células para contagem de cromossomos: A) cromossomos da cultivar Amazone; B) Cariba; C) Pink Elegance; D) Acesso não comercial A13; E) A7 e F) A11. Aumento das células 1000x (aspect of gerbera capitulum and cells for chromosomes counting: A) chromosome of Amazone cultivar; B) Cariba; C) Pink Elegance; D) non commercial accession A13; E) A7 and F) A11. Cell Enlargement 1000x). Passo Fundo, UPF, 2005-2006.

do estigma, o que é dificultado em capítulos semidobrados e dobrado devido à sobreposição do lábio externo da corola das flores que encobrem os estigmas. Em estudo anterior, a cv. Terra Fame e o A8 não apresentaram indícios de geitonogamia no capítulo e apomixia,

não sendo necessária a emasculação (Cardoso, 2007). Antes de realizar os cruzamentos, quatro capítulos selecionados da cv. Terra Fame e do acesso A8 foram protegidos com papel manteiga, para evitar fecundação cruzada. A hibridação foi realizada na ocasião em

que os estigmas estavam receptivos, sinalizada pelos seus ramos abertos. O pólen foi levado ao estigma do genitor feminino com auxílio de pincel. A polinização foi realizada entre as 13 e 14 h, momento em que há a maior liberação de pólen (Souza *et al.*, 2005) e repetida em três dias consecutivos conforme recomendações de Kloss *et al.* (2004). Este procedimento visa maximizar a produção de sementes devido ao desenvolvimento centrípeto do capítulo de gérbera. A polinização foi realizada somente nas flores da periferia do capítulo, em virtude das flores do disco serem hermafroditas não funcionais na cv. Terra Fame (Cardoso, 2007) e pelo fato destas flores apresentarem desenvolvimento mais tardio.

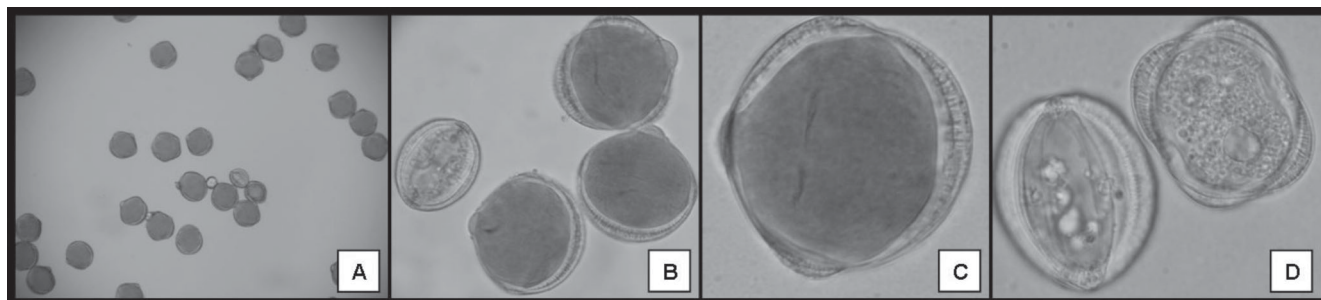
Após a polinização, os capítulos permaneceram protegidos com papel manteiga, sendo colhidos após trinta dias, para avaliação da formação e número de sementes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os acessos avaliados contiveram cinquenta cromossomos, indicando que a variação morfológica nos capítulos (simples, semidobrado e dobrado) não é devida a mutações cromossômicas numéricas ou poliploidia (Figura 2). Kloss *et al.* (2004), ao estudarem a herança dos genes que determinam o tipo de capítulo em gérbera, constataram que existe dominância incompleta e que gérberas homocigotas dominantes para este gene apresentaram capítulos dobrados; as heterocigotas, capítulos semidobrados e as homocigotas recessivas, capítulos simples.

A porcentagem média de viabilidade do pólen foi de 97,09%, apresentando variação entre os acessos ( $p < 0,05$ ). O acesso A11 conteve a menor frequência de pólen viável (Tabela 1). A Figura 3 mostra grãos de pólen viáveis e não viáveis observados neste estudo. A produção de pólen foi menor nos capítulos dobrados, sendo necessário abrir as anteras para realizar a coleta dos grãos de pólen, o que não foi necessário nos capítulos simples e semidobrados. Nestes tipos de capítulo, os grãos de pólen foram liberados pelo processo de “embolo” descrito por Cassini (1826-1834), facilitando a coleta com pincel. De acor-





**Figura 3.** Viabilidade dos grãos de pólen. A) Pólen viáveis (aumento de 100x), B) Pólen viáveis corados e pólen não viável (aumento de 400x), C) Pólen viável e D) Pólen não viável (aumento de 1000x) (viability of pollen grains. A) Viable pollen (enlargment of 100x), B) Viable pollen stained and non viable pollen, (enlargment of 400x), C) Viable pollen and D) Non viable pollen (enlargment 1000x)). Passo Fundo, UPF, 2005-2006.

do com Kloss *et al.* (2004), as flores do disco de capítulos simples normalmente produzem mais pólen que as flores do disco de capítulos semidobrados e dobrados.

A cv. Pink Elegance e o A11 exibiram anteras rosada e marrom claro na antese. Segundo Kloss *et al.* (2004), a coloração marrom e cinza observada em anteras de capítulos dobrados indica a deterioração das mesmas, que é ocasionada pelo acondicionamento comprimido das flores do disco neste tipo de capítulo, o que resulta na esterilidade, ausência ou baixa produção de grãos de pólen. Já, para os capítulos simples e semidobrados, as anteras revelaram coloração amarela, que está em consonância com a variação observada por Kloss *et al.* (2004) para anteras de gérberas com capítulo simples a qual variou de amarelo a alaranjado. O acesso A12 (capítulo dobrado) expressou anteras amarelas.

Durante os cruzamentos observou-se que após a polinização os estigmas tornaram-se escuros e em alguns dias a corola murchou, se desprendendo do receptáculo floral. Isso, geralmente, é indício de que houve a fertilização e que pode haver sucesso nos cruzamentos.

A frequência e o número de sementes formadas nos cruzamentos estão apresentados na Tabela 2. Em duas repetições dos cruzamentos entre acessos comerciais e entre acessos comerciais e não comerciais não ocorreu formação de sementes. Esta ausência de formação de sementes deveu-se à ocorrência de fungos saprofíticos (*Botrytis* sp.), que surgiram durante a senescência dos capítulos. Em decorrência, estas quatro repetições foram excluídas para evitar inconsistência dos resultados. No cruza-

**Tabela 1.** Frequência de pólen viável em cultivares (*Gerbera hybrida* Hort.) e acessos não comerciais (*Gerbera* sp.) de gérbera (viable pollen frequency in cultivar and non commercial accessions of gerbera). Passo Fundo, UPF, 2005-2006.

Acessos	Origem	Classificação comercial do tipo de capítulo	Coloração	Viabilidade de pólen (%)
cv. Cariba	comercial	semidobrado	vermelho	98,775 a
cv. Amazone	comercial	simples	amarelo-alaranjado	96,825 a
cv. Pink Elegance	comercial	dobrado	rosa claro	98,200 a
cv. Terra Fame	comercial	simples	amarelo	98,350 a
cv. Azteca	comercial	simples	vermelho	97,175 a
cv. Tennessee	comercial	simples	salmão	99,275 a
A7	Vila Velha - ES	semidobrado	amarelo	98,450 a
A8	Vila Velha - ES	simples	rosa	96,050 a
A9	Casca - RS	simples	rosa	97,925 a
A10	Passo Fundo - RS	simples	rosa	96,875 a
A11	Casca - RS	dobrado	salmão-avermelhado	87,675 b
A12	Passo Fundo - RS	dobrado	branco	97,725 a
A13	Vila Velha - ES	simples	salmão	98,825 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste Tukey em 5% de probabilidade (means followed by the same letter did not differ by Tukey' test at 5% of probability).

**Tabela 2.** Número de flores (NF), número de sementes (NS) e frequência de formação de sementes obtidas de cruzamentos entre acessos de gérbera (number of flowers (NF), number of seeds (NS) and frequency of seed formation obtained by crossing between gerbera accessions). Passo Fundo, UPF, 2005-2006.

Cruzamento	NF (flor do raio + trans)*	NS	F (NS/NF) 100
Terra Fame x Cariba	92 + 48 = 140	1	0,71%
Terra Fame x Azteca	101 + 50 = 151	12	7,94%
Total	291	13	4,46%
A8 x Cariba	63 + 37 = 100	62	62 %
A8 x Azteca	62 + 34 = 96	36	37,5%
Total	196	98	50 %

\* Ambas as flores são femininas, as do raio localizadas no raio externo do capítulo, enquanto que as *trans* localizam-se no raio interno do capítulo.

mento da cv. Terra Fame com Cariba e Azteca, a formação de sementes foi de 4,46% e no cruzamento do acesso A8 x Cariba e A8 x Azteca, a frequência foi de

50% (Tabela 2). A produção de sementes nos cruzamentos revela que as flores femininas eram férteis e que os acessos eram compatíveis, demonstrando a

possibilidade de cruzar híbridos comerciais com acessos não comerciais. Por sua vez, a baixa frequência de formação de sementes no cruzamento entre as cultivares comerciais indica a existência de algum tipo de incompatibilidade devido, provavelmente, ao alto grau de parentesco entre genitores. Cardoso (2007) estudou a divergência genética entre cultivares de gérbera e verificou alto grau de similaridade entre as cultivares Terra Fame, Cariba e Azteca. A dificuldade na obtenção de sementes poderia em parte, explicar o elevado custo das sementes de gérbera híbrida no mercado.

A auto-incompatibilidade é um mecanismo bastante comum em angiospermas, impondo barreiras fisiológicas entre a polinização e fertilização (Ascher, 1976) o que induz à alogamia. Na família Asteraceae, o girassol (*Helianthus* sp.) mostra variação quanto a esse aspecto, em que a auto-incompatibilidade varia de completa a ausente. São relatados problemas com endogamia em gérbera híbrida, pois a autofecundação reduz seu rendimento (Huang *et al.*, 1995), ocasiona degeneração da progênie, malformações e esterilidade (Miyoshi & Asakura, 1996).

Outro fator observado, que pode ter contribuído para a baixa formação de sementes nos acessos comerciais, e que merece futuros estudos, foi a condição do escape floral. Esse caule revelou coloração amarelo-escura e textura seca, denotando ocorrência de problemas na translocação de água e nutrientes, o que pode ter comprometido a formação das sementes, pois nos cruzamentos entre os acessos não comerciais e comerciais, onde houve formação de sementes, o escape permaneceu verde.

Desta forma, sugere-se a realização de cruzamentos em maior escala (ou utilizando maior número de acessos e cultivares) para verificar a percentagem de sementes e a variabilidade para este caractere. Além disso, é importante ava-

liar a possibilidade de formação de sementes nas flores do disco naqueles acessos que possuem essas flores hermafroditas férteis (com óvulos), utilizando os acessos não comerciais como genitores femininos.

A compatibilidade genômica entre os acessos (2n=50), a alta fertilidade do pólen e o sucesso na obtenção de sementes entre acessos comerciais e não comerciais, e também entre acessos comerciais, revela a possibilidade de produção de híbridos com novas combinações alélicas e transferência de caracteres desejáveis dos acessos não comerciais para os comerciais.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UPF pela concessão de recursos para a pesquisa e pela bolsa auxílio mestrado, e à prof. Dra. Maria Irene Baggio, ao funcionário do laboratório, Clarício Machado dos Santos, e às acadêmicas do curso de Ciências Biológicas, Caroline Chitolina e Carla Kurle, pela colaboração e auxílio nos experimentos.

### REFERÊNCIAS

ASCHER PD. 1976. Self-incompatibility systems in floriculture crops. *Acta Horticultura* 63: 205-215.

BARROSO GM. 1991. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Vol. 3. Viçosa: UFV. 386p.

CARDOSO RDL. 2007. *Caracterização morfológica e citológica de gérbera: subsídios para o melhoramento genético*. Passo Fundo: UPF. 174p (Tese mestrado).

GUISELINI C. 2002. *Microclima e produção de gérbera em ambientes protegidos com diferentes tipos de cobertura*. Piracicaba: USP-ESALQ. 53p (Tese mestrado).

HUANG H; HARDING J; BYRNE T; FAMULA T. 1995. The effects of inbreeding on cut-flower yield in gerbera. *Euphytica* 81: 157-161.

LIN N; WANG H; LI D; BLACKMORE S. 2005. Pollen morphology of eight genera of the subtribe *Mutisiinae* Less. sensu Bremer (Compositae) from Asia. *Journal of Integrative Plant Biology* (Formerly *Acta Botanica Sinica*) 47: 1036-1046.

KLOSS WE; GEORGE CG; SORGE LK. 2004. Inheritance of the flower types of *Gerbera hybrida*. *The Journal of the American Society for Horticultural Science* 129: 802-810.

KLOSS WE; GEORGE CG; SORGE LK. 2005. Dark disk color in the flower of *Gerbera hybrida* is determined by a dominant gene. *Dc. HortScience* 40: 1992-1994.

LUDWIG F; FERNANDES DM; MOTA PRD; BÔAS RLV. 2008. Macronutrientes em cultivares de gérbera sob dois níveis de fertirrigação. *Horticultura Brasileira* 26: 68-73.

MIYOSHI K; ASAKURA N. 1996. Callus induction, regeneration of haploid plants and chromosome doubling in ovule cultures of pot gerbera (*Gerbera jamesonii*). *Plant Cell Reports* 16: 1-5.

MORENO JA. 1961. *Clima do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura.

REYNOIRD J; CHRQUI D; NOIN M; BROWN S; MARIE D. 1993. Plant regeneration from *in vitro* leaf culture of several *Gerbera* species. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 33: 203-210.

SANE A; GOWDA JVN. 2005. Characterization of gerbera (*Gerbera jamesonii*) genotypes using morphological characters. *Plant Genetic Research Newsletter*. Disponível em [http://www.bioversityinternational.org/publications/pgrnewsletter/article.asp?lang=em&id\\_article=36&id\\_issue=12864](http://www.bioversityinternational.org/publications/pgrnewsletter/article.asp?lang=em&id_article=36&id_issue=12864) a 67 128fao.org. Acessado em 5 de dezembro de 2005.

SOUTHWORTH D. 1983. Exine development in *Gerbera jamesonii* (Asteraceae: Mutisiaceae). *American Journal of Botany* 70: 1038-1047.

SOUZA MM; PEREIRA TNS; VIANA AP; PEREIRA MG; AMARAL JUNIOR AT. 2004. Flower receptivity and fruit characteristics associated to time of pollination in yellow passion fruit. *Scientia Horticulturae* 101: 373-385.

SOUZA JC; MENEZES ACP; SILVA AF; PAZ CD; SÁ PG. 2005. Hibridação artificial e germinação de sementes de gérbera (*Gerbera jamesonii*) no Semi-árido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45, CONGRESSO BRAS. DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 15, CONG. BRAS. DE CULTURA DE TECIDOS, 2. *Resumos...* Fortaleza: SBH (CD-ROM), p. 547.

WODEHOUSE RP. 1929. Pollen grains in the identification and classification of plants. IV. The Mutisiaceae. *American Journal of Botany* 16: 297-313.