

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Geral

Cristina Costa Telhado Pereira

Assimetria Flutuante, Herbivoria e Polinização em
Melastomataceae

Belo Horizonte
2011

Cristina Costa Telhado Pereira

Assimetria Flutuante, Herbivoria e Polinização em
Melastomataceae

Dissertação apresentada ao departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para obtenção de título de Mestre em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre.

Orientadores: Dra. Tatiana G. Cornelissen
Dr. Geraldo Wilson Fernandes

Belo Horizonte
2011

EPIGRAFE

« Il ne sert de rien à l'homme de gagner la Lune s'il vient à
perdre la Terre »
“De nada serve ao homem conquistar a Lua se ele vier a
perder a Terra”

François Mauriac

AGRADECIMENTOS

De toda a dissertação a parte de agradecimentos é, em minha opinião, a mais difícil de ser feita. Não que eu seja ingrata a toda ajuda que recebi durante a construção deste trabalho, muito pelo contrário, é o medo de esquecer de agradecer alguém que torna essa tarefa árdua.

Primeiro gostaria de agradecer meus pais, António e Cida, que foram as pessoas que mais me incentivaram e também que mais possibilitaram a realização deste estudo. Além do famoso “paitrocínio”, eles me ajudaram a encontrar saídas para as situações difíceis, apoiaram minhas escolhas e me corrigiram quando acharam pertinente. Ajudantes incansáveis, eles participaram da elaboração das saídas de campo, da preparação dos lanches e várias vezes tiveram que colocar a mão na massa, virar estagiários e usar perneira!

Agradeço também ao meu irmão, Guilherme, que apesar de ter participado timidamente do estudo, sempre se preocupou comigo e sempre esteve presente.

Agradeço ao André, amigo, namorado e “marido” na Espanha, por ter me ajudado em cada etapa do mestrado, desde a prova de seleção até a correção da dissertação. Por ter dedicado seus feriados às minhas coletas, suas noites aos meus experimentos, e várias horas por dia para me auxiliar via gtalk. Sempre presente e acessível, foi a minha força e fraqueza durante esses anos.

Agradeço a participação em atividades de campo da minha afilhada Dani e da minha prima Priscila. Agradeço a minha tia Délzia por ter costurado milhares de saquinhos de voil para meus experimentos.

Agradeço a todos os meus familiares pelo carinho, compreensão, e especialmente pelos momentos de distração tão felizes e descontraídos.

Agradeço aos amigos João Carlos Pena, Renata Martins, Lelis Carlos, Thiago Monteiro, Natália Carvalho e Izabella Nery por tornarem meus dias de campo mais alegres e menos monótonos. Além disso agradeço ao João pelos desenhos, ao Lelis e ao Thiago pela ajuda em laboratório anotando as milhares de medidas.

Agradeço aos amigos do LEEB pelos conselhos, ajudas de última hora e especialmente pelas conversas informais que tornavam a atividade do dia-a-dia mais tranquila. Em especial agradeço ao Newton pela ajuda com a criação dos mapas, a Camila e a Soizig pelas inúmeras pequenas ajudas diárias, ao Milton pelas ajudas em campo e ao Marcel pelas críticas construtivas. Em particular gostaria de agradecer muito ao Lele por ser mais que um amigo e colega de laboratório, ser um colaborador de toda a dissertação tendo participado com várias idéias, caronas, ajudas em campo e correções.

Agradeço a Tati, minha amiga e orientadora, quem apesar de longe fisicamente me guiou durante todos esses anos como se estivesse ao meu lado. Ela foi como uma mãe ensinando seu filho a andar, atenciosa e cuidadosa, foi me dando liberdade e independência aos poucos para que sem eu perceber eu aprendesse a andar sem apoios.

Agradeço ao Ge, meu co-orientador, por ter despertado a minha curiosidade para a ecologia, ter me acolhido no laboratório e me apresentado os estudos de assimetria flutuante. Além disso, o agradeço pela amizade construída ao longo desses cinco anos e por todas as ajudas quase sempre em cima da hora.

Agradeço ao professor Eduardo Borba e sua aluna Ariane pela ajuda no estudo do sistema reprodutivo.

Agradeço aos professores Frederico Neves e Joaquin Hortal por participarem da banca avaliadora. Seus comentários serão, com certeza, de muita valia.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre pelo conhecimento adquirido durante esses anos, pelo apoio financeiro e pelo empréstimo de materiais.

Agradeço a FAPEMIG e US Fish & Wildlife Service pelo suporte financeiro e ao CNPq pela bolsa de mestrado.

Agradeço também aos meus colegas da pós, colegas das atividades acadêmicas, pelo carinho e compreensão que tornaram as aulas uma atividade mais prazerosa.

Agradeço aos colegas da graduação que não deixaram que o tempo ou a distância apagasse a amizade. Em especial agradeço a Anne Caroline,

Bráulio Lima, Elisa Donnard, Fernanda Nunes, João Carlos, Lelis Carlos, Luiza Coutinho, Marina Portugal, Rafael Polidoro por me ouvirem, apoiarem e ajudarem.

Agradeço às minhas amigas Áurea, Juliana, Marina e Natália pela enorme tolerância com minha ausência generalizada.

Agradeço as minhas amigas de CSA+agregadas, que já se acostumaram com meu ir e vir, por me fazerem sentir em casa a cada reencontro.

E por último e não menos importante, agradeço a todos que conviveram comigo nesses últimos 2 anos no ICB, na Serra do Cipó, em BH ou em Perpignan pelas conversas no corredor, pelas dicas, pelas festas, pela atenção e pelo carinho.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	4
ÍNDICE	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
3. SISTEMAS DE ESTUDO	17
4. ÁREA DE ESTUDO	18
5. METODOLOGIA.....	19
5.1 Assimetria flutuante em Melastomataceae.....	22
A. Assimetria flutuante em espécies de Melastomataceae	22
B. Assimetria flutuante e relações filogenéticas	23
C. Assimetria Flutuante e seleção direcional	23
D. Assimetria flutuante em folhas e flores de um mesmo indivíduo	23
5.2 Assimetria flutuante e Herbivoria.....	23
A. Assimetria dentre indivíduos e herbivoria	23
5.3 Assimetria Flutuante e Polinização.....	24
A. Sistema Reprodutivo de <i>Trembleya laniflora</i> e <i>Lavoisiera campos-portoana</i> 24	
B. Assimetria flutuante e frequência de visitação por polinizadores	25
6. RESULTADOS.....	26
6.1 Assimetria flutuante em Melastomataceae.....	27
A. Assimetria flutuante em espécies de Melastomataceae	27
B. Assimetria flutuante e relações filogenéticas	28
C. Assimetria Flutuante e seleção direcional	31
D. Assimetria flutuante em folhas e flores de um mesmo indivíduo	32
6.2 Assimetria flutuante e Herbivoria.....	33
A. Assimetria dentre indivíduos e herbivoria	33
6.3 Assimetria Flutuante e Polinização.....	35
A. Sistema Reprodutivo de <i>Lavoisiera campos-portoana</i> e <i>Trembleya laniflora</i> 35	
B. Assimetria flutuante e frequência de visitação por polinizadores	36
7. DISCUSSÃO	37
8. CONCLUSÃO	41
9. REFERÊNCIAS	42
ANEXO 1: FIGURAS DO ESTUDO DOS SISTEMAS REPRODUTIVOS.. Erro! Indicador não definido.	
ANEXO 2: FIGURAS COMPLEMENTARES	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização das populações das espécies estudadas	19
Figura 2: Medidas das larguras direita e esquerda de uma folha	20
Figura 3: Medidas dos comprimentos e das larguras (direita e esquerda) das pétalas de uma flor	21
Figura 4: Pares de folhas atacada e intacta	24
Figura 5: Nível de assimetria flutuante de cada espécie para cada caractere estudado	28
Figura 6: Diagramas de árvores de similaridade para assimetria flutuante das folhas, do comprimento e da largura das pétalas	29 e 30
Figura 7: Comparação do índice 1 de assimetria flutuante apresentado pelos caracteres (folha, comprimento e largura da pétala) de cada espécie	31
Figura 8: Relação entre o Índice 1 de assimetria flutuante das folhas e o Índice 1 de assimetria flutuante do comprimento das pétalas de cada espécie	32
Figura 9: Relação entre o Índice 1 de assimetria flutuantes das folhas e o Índice 1 de assimetria flutuante da largura das pétalas de cada espécie	33
Figura 10: Comparação dos níveis médios de assimetria flutuante apresentada pelas folhas atacadas e intactas das espécies estudadas	34
Figura 11: Comparação da média de assimetria flutuante apresentada pelo comprimento e pela largura das pétalas das flores visitadas por polinizadores e pelas flores não visitadas	36

RESUMO

A Assimetria Flutuante (AF) representa pequenas variações aleatórias em caracteres presumidamente com simetria bilateral e é amplamente utilizada como uma medida de instabilidade no desenvolvimento de plantas e de animais. A AF, por ser uma medida rápida, simples e barata, tem sido freqüentemente utilizada para o monitoramento dos níveis de estresse ecológico, sejam eles abióticos, bióticos ou ambos. Para plantas, a assimetria flutuante é normalmente medida através de desvios de um eixo de simetria, normalmente usando-se a nervura central ou distâncias entre nervuras periféricas como eixos de referência.

Além de ser um indicativo de estresse, vários estudos têm demonstrado uma relação positiva entre assimetria e abundância de insetos herbívoros, indicando que a AF pode servir como um preditor da susceptibilidade à herbivoria em comunidades naturais e artificiais. A assimetria flutuante também tem sido sugerida recentemente como um indicativo da qualidade de plantas para polinizadores podendo ser medida em características como guias de néctar, tamanhos de pétalas, estames e estiletos.

Neste estudo investigou-se o efeito da assimetria flutuante em interações negativas, como a herbivoria, e também em interações positivas, como relações mutualísticas entre plantas e polinizadores, em três escalas: espécies, gêneros e família.

Para isso 20 indivíduos de cinco espécies (1- *Trembleya laniflora*, 2- *T. parviflora*, 3- *Lavoisiera campos-portoana*, 4- *L. cordata* e 5- *Tibouchina heteromalla*) da família Melastomataceae foram marcados no campo e monitorados antes e durante o período de floração. Após terem a largura de suas folhas e a largura e comprimento de suas flores medidos, o Índice 1 de AF foi calculado como a média das diferenças entre os valores da largura/comprimento dos lados esquerdo e direito. O papel da assimetria flutuante nas variações das taxas de herbivoria e visitação de polinizadores dentre e entre essas plantas hospedeiras foi estudado.

Todas as espécies estudadas apresentaram assimetria nas folhas e flores, sendo que apenas as folhas de *L. campos-portoana* e de *L. cordata*, e as pétalas de *T. heteromalla* não exibiram assimetria flutuante. O maior nível de assimetria foi encontrado em *T. heteromalla* para folhas e em *L. campos-portoana* para

comprimento e largura de pétalas. As espécies *T. parviflora* e *T. heteromalla* têm as folhas com maior nível de assimetria que as flores (comprimento e largura), *L. campos-portoana* tem as flores (comprimento e largura) com maior nível de assimetria e *T. laniflora* tem o maior nível de assimetria na largura da pétala. Nenhuma das espécies estudadas apresentou uma relação positiva entre o nível de assimetria das folhas e flores por indivíduo. Todas as espécies apresentaram um maior nível de AF nas folhas atacadas por herbívoros do que nas intactas, sendo que para as espécies do gênero *Trembleya* essa diferença foi significativa. De forma semelhante, insetos polinizadores de *T. laniflora* preferiram as flores mais simétricas, talvez utilizando a AF como guia.

Para as espécies estudadas a assimetria flutuante não pode ser utilizada como um indicador de exposição ao estresse por não haver consistência entre as comparações dos níveis de assimetria flutuante das folhas e das flores entre as espécies. Bem como não pode ser utilizada como um preditor da instabilidade de desenvolvimento por não apresentar relação entre os níveis de assimetria flutuante das folhas e flores dos indivíduos da mesma espécie. Apesar disto este estudo mostrou que os insetos herbívoros que interagem com essas espécies em geral utilizam a assimetria flutuante como guia para sua escolha.

Palavras-chave: Assimetria Flutuante, Herbivoria, Polinização, Melastomataceae

ABSTRACT

Fluctuating Asymmetry (FA) represents small, random variations in characters presumably with bilateral symmetry and is a widely used measurement of developmental instability in plants and animals. Because AF is a quick, simple and reliable measure, it has been frequently used for monitoring levels of environmental stress, either abiotic, biotic or both. In plants, fluctuating asymmetry is usually measured by deviations of an axis of symmetry, primarily using the midrib or distances between peripheral veins as reference axes.

Besides being an indicator of stress, several studies have shown a positive relationship between asymmetry and abundance of herbivores, indicating that FA can serve as a reliable predictor of susceptibility to herbivory in natural and artificial communities. Recently, fluctuating asymmetry has also been suggested as a surrogate of plant quality for pollinators, and could be measured in features like nectar guides, petal size, stamens and pistils.

This study investigated the effects of fluctuating asymmetry in negative interactions such as herbivory, and also on positive interactions, such as mutualistic relationships between plants and pollinators at three levels: species, genera and family.

To achieve that aim 20 individuals of five species (1- *Trembleya laniflora*, 2- *T. parviflora*, 3- *Lavoisiera campos-portoana*, 4- *L. cordata* and 5- *Tibouchina heteromalla*) of the family Melastomataceae were marked in the field and monitored before and during the flowering season. After the width of their leaves and the width and length of their flowers were measured, the Index 1 of AF was calculated as the mean of the difference of the width/length between the left and right sides. The role of fluctuating asymmetry in herbivory rates and pollinator visitation variation within and among these host plants was studied.

All species studied exhibited asymmetry in the leaves and flowers, and only the leaves of *L. campos-portoana* and *L. cordata*, and the petals of *T. heteromalla* did not exhibit fluctuating asymmetry. The highest level of leaf asymmetry was found in *T. heteromalla* and of length and width of petals in *L. campos-portoana*. The species *T. parviflora* and *T. heteromalla* have leaves with greater degree of asymmetry than

flowers (length and width), *L. campos-portoana* has the flowers (length and width) with the highest level of asymmetry and *T. laniflora* has the highest degree of asymmetry in the petal width. None of the studied species exhibited a positive relationship between the level of asymmetry of the leaves and flowers at an individual basis. All species showed a higher degree of AF in leaves attacked by herbivores compared to intact leaves, and for the species of the genera *Trembleya* this difference was significant. Similarly, pollinators also seemed to use AF as guide, preferring the more symmetric flowers of *T. laniflora*.

For the studied species, fluctuating asymmetry may not be used as an indicator of stress exposure because there was no consistency in the comparisons of the degrees of FA of leaves and flowers within a species. Similarly, FA cannot be used as a predictor of development instability once no species exhibited a relationship between an individual degree of leaf and flower fluctuating asymmetry. However, this study showed that herbivores that interact with these species generally use fluctuating asymmetry as a guide for their choice.

Key words: Fluctuating asymmetry, Herbivory, Pollination, Melastomataceae

1. INTRODUÇÃO

A assimetria flutuante (AF) consiste em pequenas variações aleatórias dos lados direito e esquerdo de um caractere bilateral que se desviam da perfeita simetria, e é um parâmetro amplamente usado para medir a instabilidade de desenvolvimento de indivíduos (Graham *et al.* 2010). Esta instabilidade é a incapacidade de um genótipo em produzir o mesmo fenótipo em um ambiente particular ou em certas condições (Moller & Swaddle 1997), indicando uma interferência na estabilidade de desenvolvimento do caractere, devido a um estresse ambiental ou genético (Polak 2003, Graham *et al.* 2010). Além disto, a medida da AF reflete o estado de adaptação e coadaptação de uma população, o que a torna uma ferramenta importante para a biologia de populações (Graham *et al.* 2010) amplamente utilizada por ser simples, barata e rápida (Hódar 2002).

Em plantas, a assimetria flutuante é geralmente medida considerando a nervura central como o eixo de simetria ou usando as distâncias entre nervuras periféricas como eixos de referência. Acredita-se que os desvios do eixo de simetria bilateral sejam produzidos devido aos erros aleatórios que ocorrem durante o desenvolvimento de um organismo que não consegue corrigi-los por se desenvolver em um ambiente estressante (Freeman *et al.* 2004). As principais condições reconhecidas por influenciar a assimetria flutuante incluem tanto fatores ambientais como a temperatura, nutrientes e luminosidade, quanto genéticos como mutação, hibridização e endogamia (Parsons 1990, Moller & Swaddle 1997, Wilsey *et al.* 1998).

Exemplos de estudos que relacionam o aumento dos níveis de assimetria flutuante em espécies vegetais ao aumento de um estresse ambiental ou genético ajudam a afirmar o papel da AF como indicador da instabilidade de desenvolvimento. Em 2002 Mal e colaboradores relataram que a alta concentração de chumbo no ambiente levou a um aumento significativo da assimetria flutuante das folhas de *Lythrum salicaria* (Lythraceae). Assim como esse estudo, outros também demonstram que o aumento dos níveis de fatores abióticos como a perturbação do solo, poluição, altitude, excesso de nutrientes e radiação (Freeman *et al.* 2005, Kozlov *et al.* 1996, Zvereva *et al.* 1997, Kryazheva *et al.* 1996, Wilsey *et al.* 1998, Hagen *et al.* 2008, Moller 1995 e Moller 1998) e também de fatores bióticos como a competição intra e

interespecífica (Rettig *et al.* 1997) levam ao aumento de AF em plantas. O papel do estresse genético na instabilidade de desenvolvimento de plantas foi estudado por Waldmann (1999) que relacionou o aumento da assimetria flutuante em pétalas de *Silene diclinis* (Caryophyllaceae) a endogamia e hibridização interpopulacional. Seu resultado corroborou com os estudos anteriores de Sherry & Lord 1996 e Wilsey *et al.* 1998.

Apesar de estes estudos confirmarem a relação da AF com o estresse, com apenas uma exceção, todos consideraram somente uma espécie. Apenas Moller (1998) demonstrou que um mesmo estresse (radiação de césio 137) pode causar aumentos semelhantes nos níveis de assimetria flutuante em três espécies vegetais diferentes: *Robinia pseudoacacia* (Fabaceae), *Sorbus aucuparia* (Rosaceae) e *Matricaria perforata* (Asteraceae). Considerando a inconsistência dos resultados apresentados na literatura para a relação da AF com o estresse sofrido por diferentes espécies, Bjorksten *et al.* (2000) analisaram 21 estudos de manipulação experimental do estresse e ressaltaram para a possibilidade de que a resposta da AF ao estresse seja específica ao caractere, à espécie e ao estresse.

Analisando essa especificidade da assimetria flutuante ao caractere, vários estudos encontraram que os caracteres sexuais secundários de animais são mais sensíveis ao estresse do que os caracteres não sexuais. Possivelmente o desenvolvimento dos ornamentos sexuais é fracamente canalizado e altamente dependente da condição, e, portanto, a AF dos caracteres sexuais responderia mais fortemente a perturbações ambientais e genéticas. Além disto, haveria uma forte seleção direcional sofrida pelos caracteres sexuais que poderia ser vista como um estresse causando a inabilidade de controlar o desenvolvimento (Moller 1990 e Moller & Pomiankowski 1993).

Embora cada caractere de um mesmo indivíduo possa apresentar um nível diferente de AF, assume-se que, em uma comparação entre vários indivíduos, o indivíduo que apresente a maior AF em suas flores também apresente a maior AF em suas folhas, uma vez que a variação da AF entre os indivíduos representa apenas a diferença da capacidade de cada um de controlar o estresse durante o desenvolvimento. Corroborando com alguns outros experimentos que mostraram o contrário (veja Moller & Eriksson 1994 e Jennions 1996), Roy & Staton (1999) sugeriram a

existência de dois modelos de assimetria: o primeiro seria o modelo generalista, onde o estresse aplicado ao organismo em crescimento resultaria em AF em todos ou vários caracteres devido a anormalidades no desenvolvimento, e o segundo seria o modelo caractere-específico, onde um estresse específico afetaria o desenvolvimento de um caractere em particular em certo estágio do seu desenvolvimento. Cada modelo agiria em diferentes circunstâncias, o primeiro quando o estresse afetou o início do desenvolvimento, em casos de endogamia e outros casos genéticos onde muitos loci teriam sido afetados, e o segundo quando o estresse age em estágios finais do desenvolvimento.

Ainda que a causa genética e ambiental da assimetria flutuante não esteja totalmente elucidada, vários estudos demonstram que espécies de insetos herbívoros e polinizadores a usam para guiarem as suas escolhas durante a busca por recurso. Moller (1995) associou o nível de assimetria flutuante presente nas folhas de *Ulmus glabra* (Ulmaceae) com a incidência do besouro minador *Rhynchaenus rufus* (Curculionidae) nas mesmas, encontrando uma relação positiva. Lempa e colaboradores (2000) também encontrou uma relação positiva entre o nível de AF de folhas de bétula e a quantidade de biomassa consumida pela larva do geometrídeo *Epirrita autumnata* (Geometridae). Em 2005 Cornelissen & Stiling após encontrarem uma relação positiva entre a abundância de minas e tanto a frequência de folhas assimétricas quanto o nível de AF das folhas de indivíduos de *Quercus laevis* e *Q. geminata* (Fagaceae), sugeriram que insetos minadores usariam a assimetria como pista para a qualidade das folhas desses carvalhos.

Estudos semelhantes foram realizados para elucidar a preferência dos insetos polinizadores. Lehrer e colaboradores (1995) testaram a preferência inata de abelhas por diferentes padrões apresentados em cartões e uma de suas conclusões foi que os padrões mais simétricos são mais atrativos do que os padrões menos simétricos ou não simétricos. Experimento manuseando flores naturais de *Epilobium angustifolium* (Onagraceae) para obter flores simétricas e assimétricas foi realizado por Moller (1995). Neste estudo foram criadas flores assimétricas cortando 2,0mm de uma das duas pétalas inferiores, e flores simétricas cortando 1,0 e 2,0mm de ambas as pétalas inferiores. O número de visitas de *Bombus terrestris* (Apidae) a estes grupos foi comparado e os dois tipos de flores simétricas foram mais visitados

do que as flores assimétricas, demonstrando que *Bombus terrestris* usa a simetria da pétala e talvez também o tamanho como guia para sua escolha. Um terceiro tipo de experimento foi realizado por Giurfa e colaboradores (1996) no qual abelhas foram treinadas a diferenciarem padrões de simetria bilateral de padrões assimétricos através do recebimento de recompensas, também concluiu que a simetria é uma característica floral percebida pelos polinizadores.

Apesar desses estudos já terem avaliado o papel da simetria na preferência de insetos herbívoros e polinizadores, poucos estudos foram realizados em ambientes tropicais (veja Telhado *et al.* 2010 e Ishino *et al.* 2011). Portanto, várias questões relacionadas ao papel da assimetria flutuante nas interações negativas e positivas entre insetos-plantas permanecem abertas: As folhas e flores de espécies de Melastomataceae apresentam diferentes graus de assimetria flutuante, mas relacionados à filogenia do grupo? Insetos herbívoros e polinizadores utilizam a simetria de folhas e flores desta família para orientarem suas escolhas por recursos?

2. OBJETIVOS

Com o objetivo de responder a questões como estas, este estudo investigou para cinco espécies da família Melastomataceae (*Trembleya laniflora*, *Trembleya parviflora*, *Tibouchina heteromalla*, *Lavoisiera campos-portoana* e *Lavoisiera cordata*) o papel da assimetria flutuante nas variações das taxas de herbivoria e visitação de polinizadores.

Mais especificamente, este estudo testou as seguintes hipóteses:

Assimetria flutuante em Melastomataceae:

- I. Assimetria flutuante em espécies de Melastomataceae: se a assimetria flutuante é uma medida do nível de estresse em populações, influenciada por fatores genéticos e ambientais, as espécies estudadas devem apresentar níveis diferentes de assimetria flutuante nas suas folhas e flores.
- II. Assimetria flutuante e relações filogenéticas: se a expressão da assimetria flutuante ocorre por combinação de influências genéticas e ambientais, então os padrões de assimetria flutuante em flores e folhas não são influenciados pela filogenia dentro de uma mesma família de plantas hospedeiras.

- III. Assimetria Flutuante e seleção direcional: se existe forte seleção direcional no tamanho de flores devido à preferência de polinizadores, então os níveis de assimetria flutuante em flores devem ser maiores que os níveis de assimetria em folhas dentro de uma mesma espécie.
- IV. Assimetria flutuante em folhas e flores de um mesmo indivíduo: se a assimetria flutuante é uma medida do nível de estresse ao qual um indivíduo está submetido, há uma relação entre o nível de AF das folhas e o nível de AF das flores dos indivíduos de uma espécie.

Assimetria Flutuante e Herbivoria:

- V. Assimetria dentre indivíduos e herbivoria: se a assimetria flutuante é um preditor razoável dos níveis de herbivoria em um indivíduo, o grau de AF de uma folha atacada por insetos herbívoros deve ser maior que o grau de AF de uma folha não atacada do mesmo indivíduo.

Assimetria Flutuante e Polinização:

- VI. Assimetria flutuante e frequência de visitação por polinizadores: se as populações estudadas necessitam de polinizadores para se reproduzirem e se a assimetria flutuante é um indicativo da qualidade de caracteres sexuais como flores, insetos polinizadores visitam flores naturalmente simétricas mais frequentemente que flores assimétricas de uma mesma planta.

3. SISTEMAS DE ESTUDO

Melastomataceae é uma família composta por 4200-4500 espécies, distribuída pan tropicalmente, mas com grande presença na região tropical do Novo Mundo onde são encontradas quase 3000 espécies (Renner 1993). Suas espécies são prontamente reconhecidas pela presença de folhas decussadas com venação acródroma e estames geralmente falciformes (Drummond *et al.* 2007). Presente em algumas formações vegetais do Brasil, como a Floresta Amazônica, a Mata Atlântica, o Cerrado e os Campos rupestres (Oliveira-Rebouças & Gimenes 2004) a família Melastomataceae encontra-se particularmente bem representada nos campos rupestres do Brasil, com alguns gêneros restritos a determinadas regiões (Romero & Martins 2002).

A síndrome de melitofilia é predominante na família especialmente nas espécies onde o pólen é o único recurso floral (Melo & Machado 1996). Como a maioria das anteras das flores de Melastomataceae possui deiscência poricida, a retirada do pólen é feita através da vibração das anteras, ocorrendo a polinização vibrátil (“buzz pollination”, Goldenberg & Varassin 2001). Recentemente, muitos trabalhos têm demonstrado a ocorrência de casos de apomixia (formação de sementes sem ter ocorrido a fecundação) na família (Renner 1989, Borges 1991, Oliveira 1991, Goldenberg & Shepherd 1998, Melo et al, 1999 e Goldenberg & Varassin 2001). Porém esses estudos se concentram na tribo Miconieae, e estudos da biologia reprodutiva de espécies das tribos Microlicieae e Melastomeae são escassos (Renner 1989; Goldenberg & Shepherd 1998).

Além disto, poucos trabalhos foram realizados para compreender aspectos da herbivoria por insetos em espécies dessa família (veja Gonçalves-Alvim & Fernandes 2001, Lara *et al.* 2008) e nenhum estudo foi ainda desenvolvido para entender o papel da assimetria flutuante na herbivoria e na polinização.

Para a realização deste estudo foram avaliadas cinco espécies da família Melastomataceae (*Trembleya laniflora*, *T. parviflora*, *Lavoisiera campos-portoana*, *L. cordata* e *Tibouchina heteromalla* - anexo 2 Figuras 1 a 5), pertencentes às tribos Microlicieae e Melastomeae. A escolha dessas espécies vegetais deveu-se não somente ao fato de serem espécies representativas na área de estudo, mas por também apresentarem floração em épocas distintas, variação no arranjo floral com espécies de quatro a nove pétalas e apresentarem rica fauna de insetos mastigadores, sugadores, galhadores e minadores associados (observação pessoal).

4. ÁREA DE ESTUDO

Este estudo foi realizado na Serra do Cipó (19°12'-19°20'S e 43°30'-43°40'W), localizada na porção central do estado de Minas Gerais. A cobertura vegetal varia com a altitude e com o status nutricional do solo, e levantamentos florísticos listaram cerca de 1600 espécies nesta região (Giulietti *et al.* 1987).

As populações das espécies estudadas estão localizadas conforme a Figura 1:

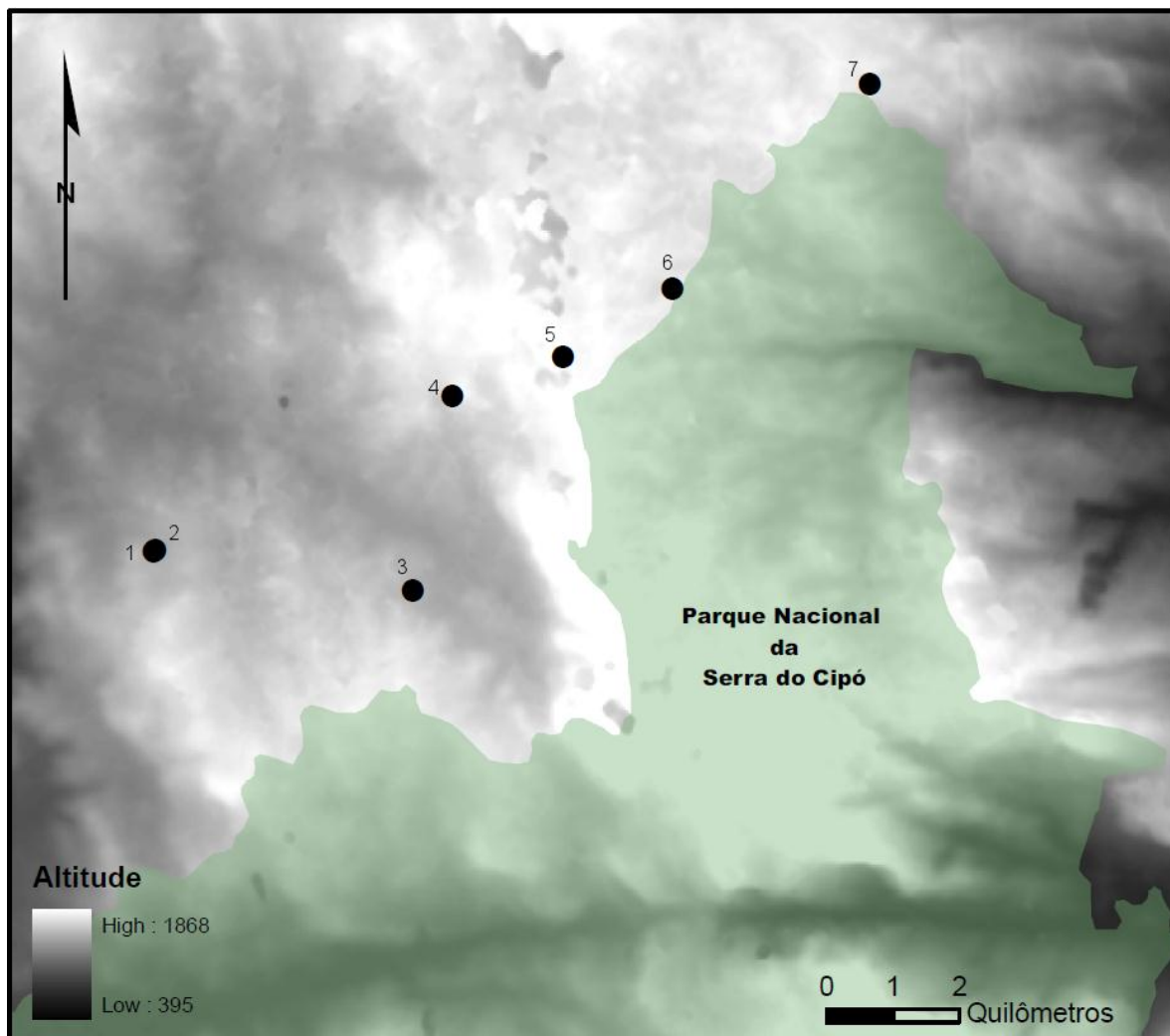


Figura 1: Mapa das localizações das populações das espécies estudadas. 1) *Lavoisiera cordata*, 2 e 4) *Trembleya laniflora*, 3 e 6) *Lavoisiera campos-portoana*, 5) *Tibouchina heteromalla*, e 7) *Trembleya parviflora*. Mapa criado no ArcGIS 10.

5. METODOLOGIA

Para investigar a relação entre a assimetria flutuante, herbivoria e polinização, as espécies de Melastomataceae *Trembleya laniflora*, *Trembleya parviflora*, *Tibouchina heteromalla*, *Lavoisiera campos-portoana* e *Lavoisiera cordata* tiveram 20 indivíduos marcados e monitorados ao longo do período de estudo (Junho/2009 à Setembro/2010). Estes indivíduos tiveram folhas coletadas e prensadas em campo e posteriormente secas em estufa a 45°C por três a quatro dias. No laboratório, todas

as folhas tiveram suas larguras direitas e esquerdas medidas através do uso de um paquímetro digital, conforme a figura abaixo:

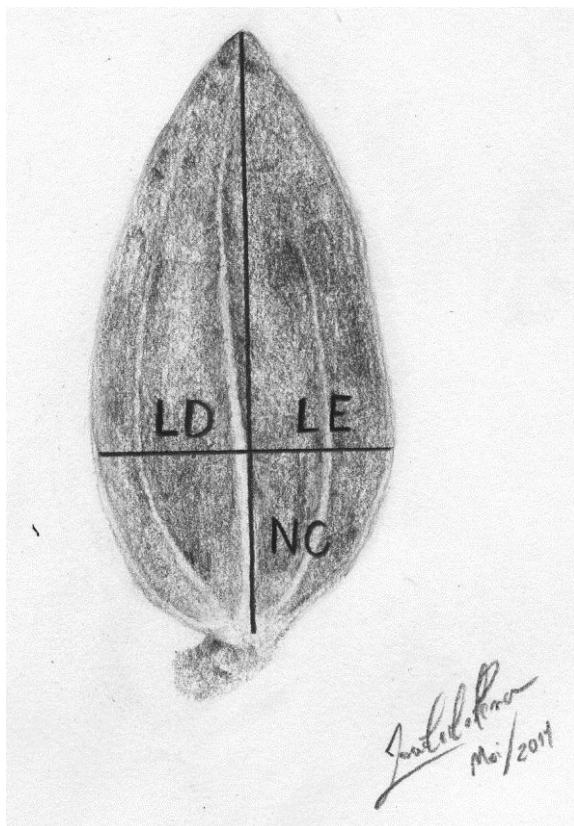


Figura 2: Medidas das larguras direita e esquerda de uma folha. Ilustração representando como as folhas tiveram as suas larguras direitas (LD) e esquerdas (LE) medidas. As medidas foram sempre feitas na maior largura da folha e a partir da nervura central (NC). Desenho feito por João Carlos Pena.

O Índice 1 de assimetria flutuante foi então calculado conforme Palmer & Strobeck, 1986:

$$\text{Índice } 1 = \frac{\sum |L_D - L_E|}{N}$$

Onde L_D é o valor da largura do lado direito, L_E é o valor da largura do lado esquerdo, e N é o número de medidas tomadas. A diferença absoluta do lado direito menos esquerdo é um bom estimador da variância de assimetria entre indivíduos assumindo-se que não há assimetria direcional (lado esquerdo ou direito)

consistentemente maior) ou anti-simetria (ausência de simetria, mas em nenhuma direção em particular). O Índice 1 foi utilizado por ser o índice absoluto de assimetria flutuante e o mais intuitivo (Roy & Stanton 1999). Além disto, foi confirmada a não dependência da assimetria flutuante ao tamanho do caractere, através da análise de gráficos ($L_D - L_E$) versus tamanho ($(L_D + L_E) / 2$), conforme recomendado por Palmer & Strobeck 1986.

Já para o cálculo de AF em flores, foram medidos, com o uso do paquímetro digital e em campo, o comprimento e a largura das pétalas das flores coletadas dos indivíduos marcados. As flores eram sempre recentes, com poucos dias de antese, e estavam completamente abertas. O comprimento da pétala foi definido como o comprimento central da pétala a partir da parte inferior da corola. A largura foi definida como a maior largura que a pétala apresenta perpendicularmente ao comprimento. Como todas as espécies estudadas apresentam flores com simetria bilateral, o índice de AF foi determinado como a diferença no comprimento ou na largura de pétalas opostas, de acordo com Moller & Eriksson 1994 e conforme ilustrado na Figura 3:

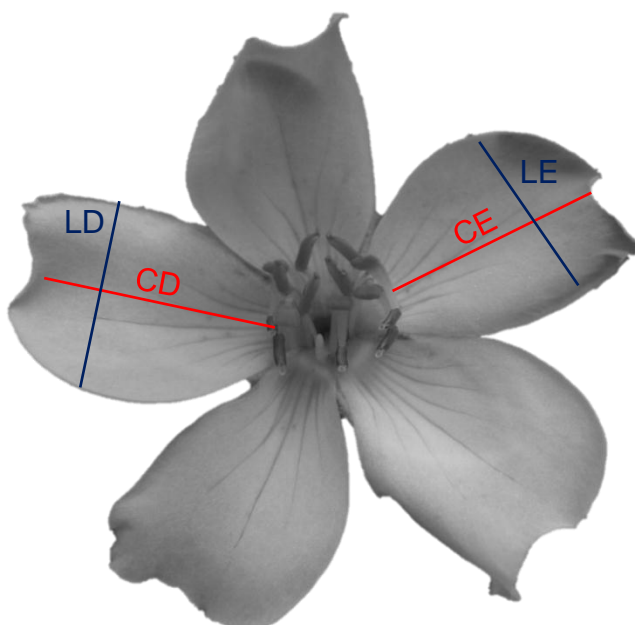


Figura 3: Medidas dos comprimentos e das larguras (direita e esquerda) das pétalas de uma flor. Ilustração representativa de como uma flor teve a largura direita (LD) e esquerda (LE) e o comprimento direito (CD) e esquerdo (CE) medidos nas pétalas. As medidas foram sempre feitas no comprimento central e na maior largura da pétala perpendicular a este comprimento.

Para os comprimentos das pétalas das flores, o Índice 1 foi utilizado da seguinte maneira:

$$\text{Índice } 1 = \frac{\sum |C_D - C_E|}{N}$$

Onde C_D é o valor do comprimento da pétala direita, C_E é o valor do comprimento da pétala do lado esquerdo, e N é o número de medidas tomadas.

Para as larguras das pétalas das flores o Índice 1 foi utilizado da seguinte maneira:

$$\text{Índice } 1 = \frac{\sum |LP_D - LP_E|}{N}$$

Onde LP_D é o valor da largura da pétala direita, LP_E é o valor da largura da pétala do lado esquerdo, e N é o número de medidas tomadas.

Para todos os caracteres estudados a normalidade foi testada através do teste de Lilliefors e, logo após, a presença de assimetria flutuante foi determinada através de one sample t-tests, testando-se se a diferença média entre as medidas dos lados esquerdos e direitos das folhas desvia-se significativamente do valor de zero (Moller & Swaddle 1997).

Todas as análises estatísticas foram realizadas nos softwares SYSTAT 12.0 e STATISTICA 8.0.

5.1 Assimetria flutuante em Melastomataceae

A. Assimetria flutuante em espécies de Melastomataceae

Para examinar se as diferentes espécies estudadas apresentam diferentes níveis de AF nas suas folhas e flores, 20 folhas e 10 flores de cada um dos 20 indivíduos marcados por espécie foram medidas como descrito anteriormente. O nível de AF de cada espécie foi considerado como a média do módulo da diferença entre o lado esquerdo e direito de cada caractere (AF= média $|E-D| \pm SE$). A comparação das médias dos níveis de AF foi feita através do teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste *a posteriori* de comparação de médias (teste de Duncan).

B. Assimetria flutuante e relações filogenéticas

Para testar se a variação na assimetria flutuante de flores e folhas apresenta relações filogenéticas dentro da família Melastomataceae, as espécies escolhidas para este estudo tiveram 20 folhas e 10 flores medidas como descrito anteriormente e tais medidas foram agrupadas através do método aglomerativo hierárquico de similaridade, usando distância a Euclidiana e ligações simples. A filogenia da família vem sendo amplamente estudada com enfoque molecular, e está relativamente bem resolvida (veja Clausing & Renner 2001, Fritsch *et al.* 2004 e Goldenberg *et al.* 2008), permitindo assim comparações de caracteres morfológicos que variam entre as espécies.

C. Assimetria Flutuante e seleção direcional

Para verificar se a assimetria flutuante em flores é maior que a assimetria flutuante em folhas dentro de espécies de uma mesma família, as espécies escolhidas para este estudo tiveram suas flores e folhas medidas como descrito anteriormente e o Índice 1 foi calculado para cada caractere de cada espécie. Diferenças na assimetria de flores e folhas foram testadas usando-se análise de variância (ANOVA) já que os dados apresentaram normalidade de distribuição, seguida do teste de Tukey.

D. Assimetria flutuante em folhas e flores de um mesmo indivíduo

Para examinar a presença de uma relação entre os níveis de AF das folhas e flores de um indivíduo, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson entre o Índice 1 de AF das flores (comprimento ou largura) e o Índice 1 de AF das folhas dos indivíduos de uma espécie.

5.2 Assimetria flutuante e Herbivoria

A. Assimetria dentre indivíduos e herbivoria

Para avaliar se a assimetria flutuante varia dentro de um mesmo indivíduo e se tal variação influencia as taxas de herbivoria, 10 pares de folhas foram coletados nos 20 indivíduos marcados das espécies *Trembleya laniflora*, *Trembleya parviflora*, *Tibouchina heteromalla*, *Lavoisiera campos-portoana* (n= 1.600 folhas). Tais pares foram constituídos de uma folha atacada por insetos herbívoros (mastigadores,

sugadores, galhadores ou minadores) e a folha intacta oposta mais próxima à folha atacada conforme ilustra a Figura 4. Tais folhas foram numeradas, prensadas, e levadas para o laboratório, onde as medidas de assimetria flutuante foram feitas como descrito anteriormente.

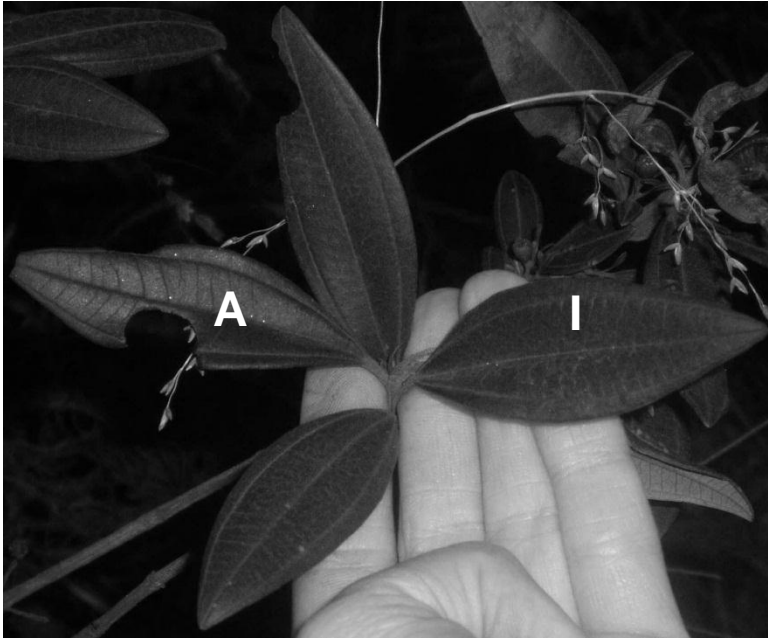


Figura 4: Pares de folhas atacada e intacta. Foto ilustrando como os pares de folhas atacada-intacta foram escolhidos. Par de folhas coletado de *T. parviflora* no Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais: folha atacada (A) e a folha intacta (I) oposta mais próxima.

Se a assimetria flutuante funciona como indicativo da qualidade da planta e preditor da herbivoria, então, espera-se que folhas atacadas apresentem maiores níveis de assimetria que folhas não-atacadas ou intactas. Diferenças na assimetria flutuante entre folhas atacadas e não-atacadas de um mesmo indivíduo foram avaliadas através da análise de variância (ANOVA) uma vez que houve normalidade na distribuição dos dados.

5.3 Assimetria Flutuante e Polinização

A. Sistema Reprodutivo de *Trembleya laniflora* e *Lavoisiera campos-portoana*

Para determinar o papel do polinizador na pressão seletiva das flores das espécies estudadas foi primeiro preciso determinar o grau de dependência do sistema

reprodutivo das populações estudadas destas espécies a um polinizador. O estudo do sistema reprodutivo da *Lavoisiera campos-portoana* foi conduzido entre 10 de outubro e 20 de novembro de 2009, e entre 08 de junho e 27 de agosto de 2010 o mesmo estudo foi feito para *Trembleya laniflora*. Foram realizados *in situ* três experimentos de polinizações controladas: 1) polinização cruzada (botões ensacados, flores polinizadas com pólen de outro indivíduo e ensacadas), 2) autopolinização espontânea (botões ensacados) e 3) autopolinização induzida (botões ensacados, flores polinizadas com pólen do próprio indivíduo e ensacadas); além de teste de apomixia (botões com estiletos cortados e ensacados) e por último algumas flores foram utilizadas como controle, sendo marcadas em campo, mas sem sofrerem alguma manipulação.

O desenvolvimento dos frutos foi acompanhado até 15 dias após as polinizações, para *L. campos-portoana*, e 50 dias após as polinizações para *T. laniflora*. A partir do número de flores utilizadas e do número de frutos formados por tratamento foi calculada a percentagem de frutos formados (percentagem de frutificação).

Em laboratório foi feita a análise do desenvolvimento dos tubos polínicos a partir de material fixado (FAA 50%) coletado 24, 48 e 72 horas após a polinização (23 flores coletadas de *L. campos-portoana* e 18 flores de *T. laniflora*), e de 5 frutos de *L. campos-portoana* coletados 11 e 17 dias após a polinização. Após tratamento (NaClO 3%, temperatura ambiente por 48 horas para flores e 72 horas para frutos) este material foi corado com azul de anilina e observado em microscopia de fluorescência (adaptado de Dafni 1992).

B. Assimetria flutuante e frequência de visitação por polinizadores de Trembleya laniflora

Para examinar se polinizadores de *T. laniflora* visitam flores simétricas mais frequentemente que flores assimétricas, marcou-se a flor visitada e a flor mais próxima não visitada por polinizadores, e estas foram coletadas e as medidas de assimetria foram feitas como descrito previamente. Assume-se assim, que devido à curta distância entre as flores que compõem o par, que a chance de visitação em função da distância é a mesma. Hipotetiza-se que polinizadores visitam com mais frequência flores simétricas que flores assimétricas e que o grau de assimetria das

flores visitadas será menor que o grau de assimetria das flores não visitadas em cada par. Diferenças na assimetria média de flores visitadas ou não-visitadas foram testadas através de um teste-t pareado.

6. RESULTADOS

Teste de Assimetria Flutuante

Para todos os caracteres das espécies estudadas, as diferenças entre o lado direito e esquerdo apresentaram normalidade de distribuição, indicando que valores positivos e negativos de assimetria se anulam e não se desviam significativamente de zero.

As espécies *Trembleya laniflora*, *T. parviflora* e *Tibouchina heteromalla* apresentaram assimetria flutuante nas suas folhas (Tabela 1). Já as espécies *Lavoisiera campos-portoana* e *L. cordata* apresentaram assimetria direcional para o mesmo caractere (Tabela 1).

Considerando-se as flores, todas as espécies analisadas apresentaram assimetria flutuante para o comprimento e a largura das pétalas, com a exceção da largura das pétalas de *Tibouchina heteromalla* que apresentou assimetria direcional (Tabela 1).

Tabela 1: Presença de assimetria flutuante nos caracteres das espécies estudadas. Resultados do teste-t para as medidas de folhas ($L_D - L_E$), comprimento ($C_D - C_E$) e largura ($LP_D - LP_E$) das pétalas das espécies. Valores de p estatisticamente significativos demonstram dados que têm sua média diferente de zero (rejeitando a hipótese nula $H_0=0$) e não caracterizam a presença de assimetria flutuante.

Espécie	Caractere	T	P
<i>Trembleya laniflora</i>	Folhas	-1,365	0,173
	Flores comprimento	-0,509	0,611
	Flores largura	-0,022	0,982

Continua na próxima página

Espécie	Caractere	T	P
<i>Trembleya parviflora</i>	Folhas	-1,756	0,080
	Flores comprimento	0,672	0,503
	Flores largura	0,942	0,347
<i>Tibouchina heteromalla</i>	Folhas	1,145	0,253
	Flores comprimento	-0,717	0,475
	Flores largura	-2,118	*0,036
<i>Lavoisiera campos-portoana</i>	Folhas	4,346	*0,001
	Flores comprimento	1,031	0,304
	Flores largura	-0,156	0,876
<i>Lavoisiera cordata</i>	Folhas	-3,025	*0,003

6.1 Assimetria flutuante em Melastomataceae

A. Assimetria flutuante em espécies de Melastomataceae

Ao comparar os níveis de assimetria flutuante apresentados pelos caracteres das espécies estudadas percebeu-se que as flores de *Lavoisiera campos-portoana* apresentaram o maior nível de AF dentre as espécies, tanto para o comprimento (Kruskal-Wallis H= 53,294; $p < 0,0001$) quanto para a largura (Kruskal-Wallis H= 52,002; $p < 0,0001$) das pétalas. As flores de *Trembleya parviflora* apresentaram o menor nível de AF e não houve uma diferença significativa entre os níveis apresentados de AF pelas espécies *Trembleya laniflora* e *Tibouchina heteromalla* (Figuras 5A e 5B).

Entretanto, quando se considerou os níveis de AF apresentados pelas folhas das espécies em questão, as folhas de *Tibouchina heteromalla* apresentaram o maior nível de AF (Kruskal-Wallis H= 75,018; $p < 0,0001$). Para as demais espécies, não foi encontrada uma diferença significativa ente os níveis de AF das folhas dos seguintes pares de espécies: *Trembleya laniflora* e *Trembleya parviflora*; *Trembleya parviflora* e *Lavoisiera cordata*; *Lavoisiera cordata* e *Lavoisiera campos-portoana* (Figura 5C).

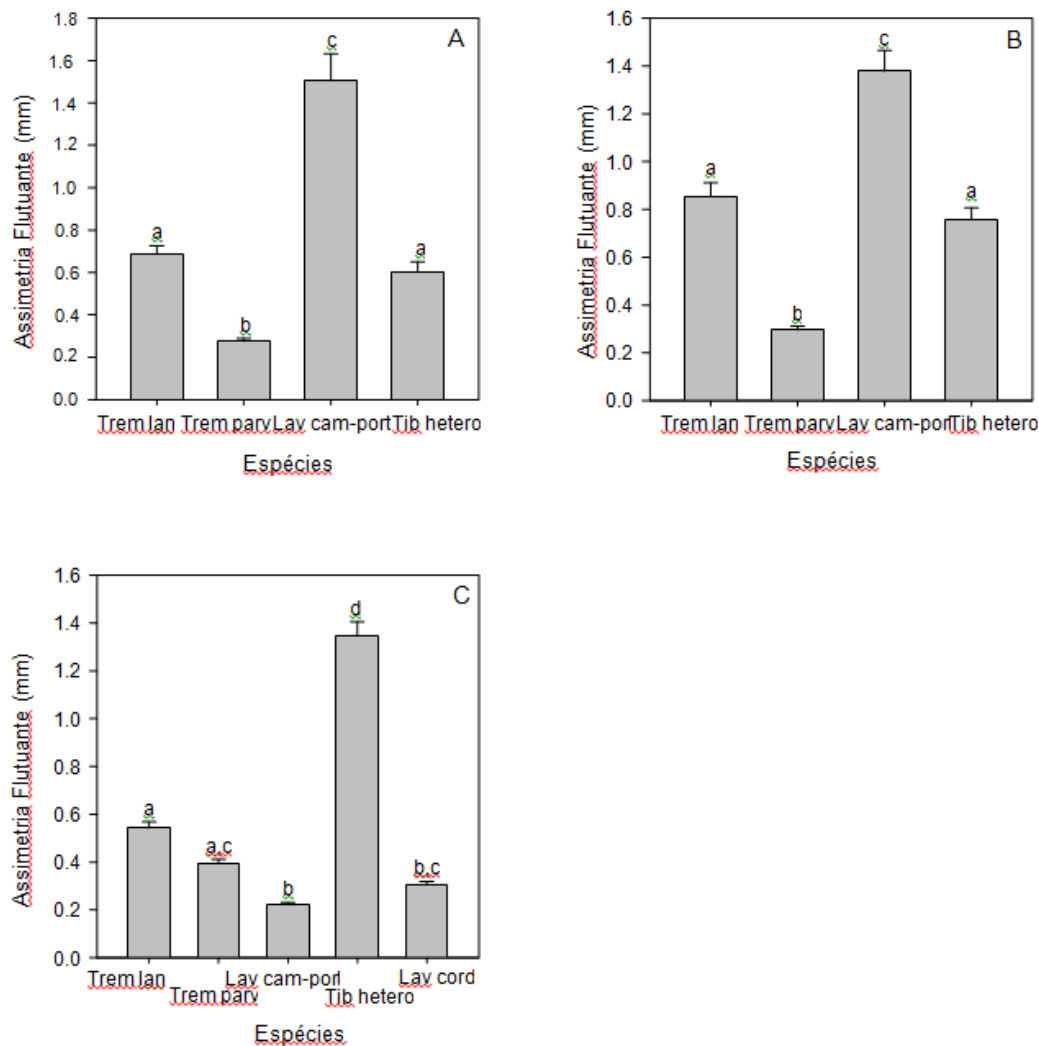


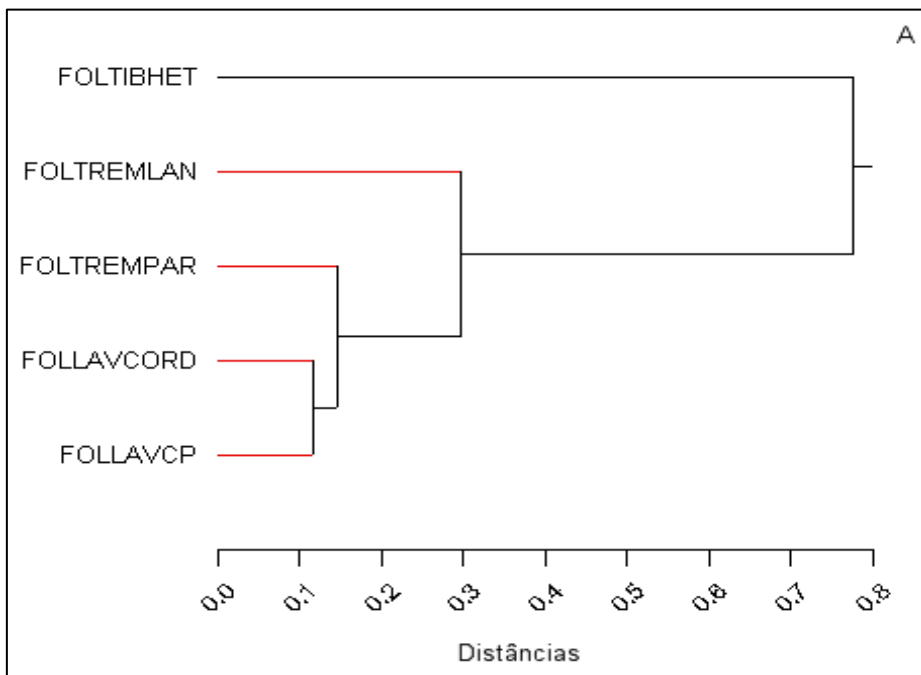
Figura 5: Nível de assimetria flutuante (AF= média |E-D| \pm SE) de cada espécie para cada caractere estudado. Painel A) nível de AF para o comprimento das pétalas, B) nível de AF para a largura das pétalas e C) nível de AF para as folhas. Valores estatisticamente diferentes são representados por letras minúsculas diferentes. Espécies: Trem lan = *Trembleya laniflora*, Trem parv = *Trembleya parviflora*, Lav cam-port = *Lavoisiera campos-portoana*, Tib hetero = *Tibouchina heteromalla* e Lav cord = *Lavoisiera cordata*.

B. Assimetria flutuante e relações filogenéticas

Em relação aos níveis de assimetria flutuante apresentados pelas folhas das espécies de Melastomataceae estudadas, observou-se que as duas espécies do gênero *Lavoisiera* são mais proximamente relacionadas. Em seguida, observa-se o agrupamento de *Trembleya parviflora* e *Trembleya laniflora* formando uma classe.

Ao contrário das demais espécies que se agrupam a distâncias pequenas (entre 0,1 e 0,3) a espécie *Tibouchina heteromalla* só forma um grupo com as demais a uma grande distância (0,8) o que pode caracterizar a existência de duas classes neste dendrograma (Figura 6A).

Por outro lado, nas análises de semelhança das flores destas espécies em relação aos níveis de assimetria fluante apresentados pelo comprimento e pela largura das pétalas, as espécies que formaram o grupo mais próximo não eram do mesmo gênero (*Trembleya laniflora* e *Tibouchina heteromalla*) e, em ambos os casos, a espécie que apresentou um nível de assimetria fluante mais diferenciado foi *Lavoisiera campos-portoana*. Vale a pena ressaltar que na análise do comprimento das pétalas, *Trembleya parviflora* forma uma classe com *Trembleya laniflora* e *Tibouchina heteromalla*, e *Lavoisiera campos-portoana* forma uma classe separada (Figura 6B). Porém, na análise da largura existem três classes e apenas *Trembleya laniflora* e *Tibouchina heteromalla* compartilham uma (Figura 6C).



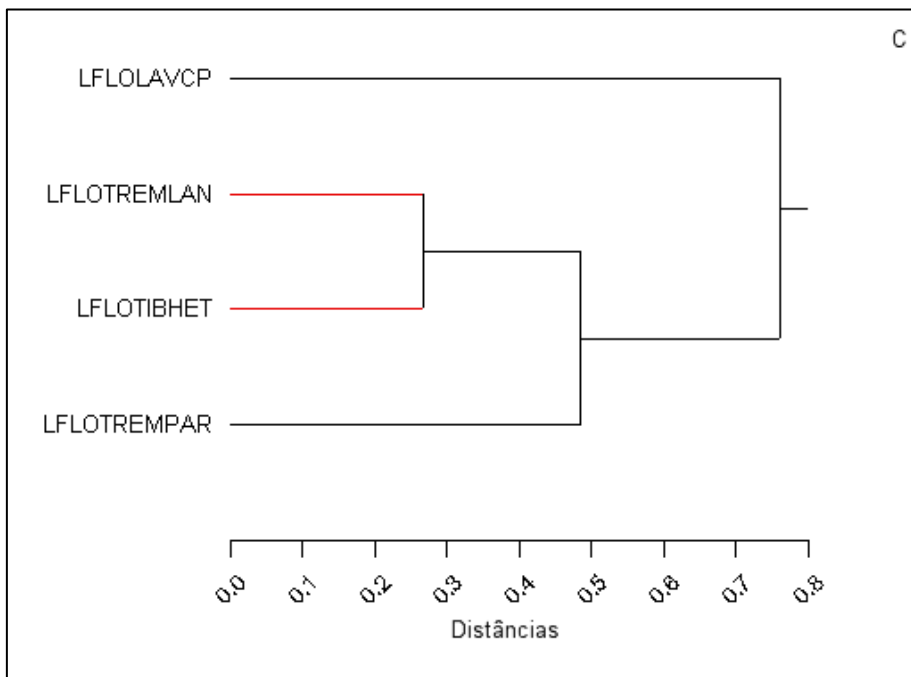
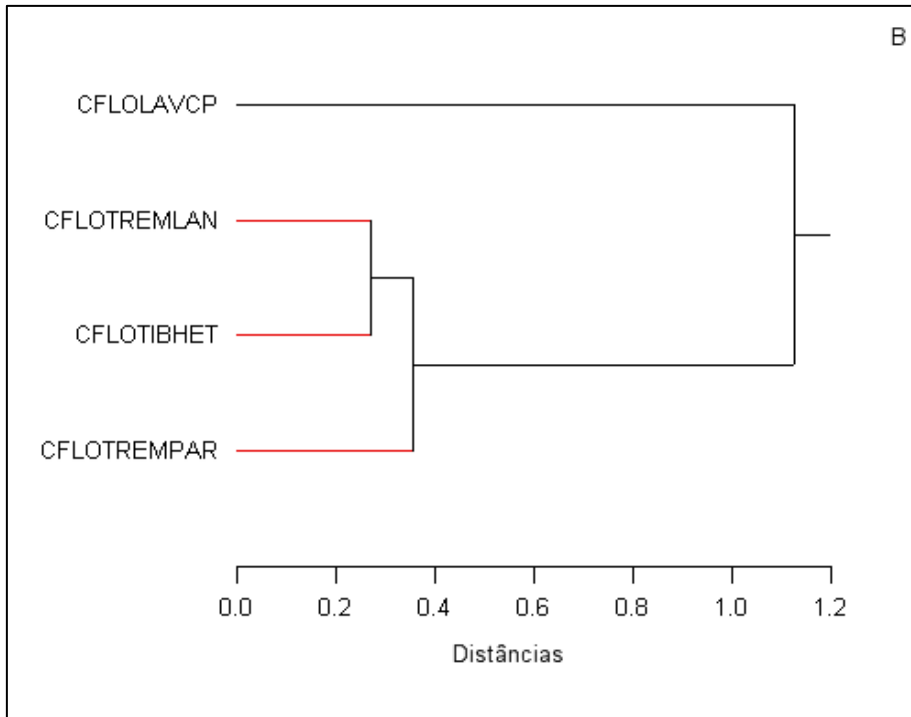


Figura 6: Diagramas de árvores de similaridade construídas com uso da distância Euclidiana e método de ligação simples para: A) assimetria flutuante das folhas de *Tibouchina heteromalla* (FOLTIBHET), *Trembleya laniflora* (FOLTREMLAN), *Trembleya parviflora* (FOLTREMPAR), *Lavoisiera campos-portoana* (FOLLAVCP) e *Lavoisiera cordata* (FOLLAVCORD); B) assimetria flutuante do comprimento das pétalas de *Lavoisiera campos-portoana* (CFLOLAVCP), *Tibouchina heteromalla* (CFLOTIBHET), *Trembleya laniflora* (CFLOTREMLAN) e *Trembleya parviflora* (CFLOTREMPAR); C) assimetria flutuante da largura das pétalas de *Lavoisiera campos-portoana* (LFLOLAVCP), *Tibouchina heteromalla* (LFLOTIBHET), *Trembleya laniflora* (LFLOTREMLAN) e *Trembleya parviflora* (LFLOTREMPAR).

C. Assimetria Flutuante e seleção direcional

A comparação dos níveis de assimetria flutuante das folhas e flores das espécies estudadas mostrou que apenas uma espécie, *Lavoisiera campos-portoana* ($F_{2,57}= 31,614$; $p < 0,0001$) (Figura 7), apresenta níveis significativamente maiores de assimetria flutuante nas flores do que nas folhas. Já a espécie *Trembleya laniflora* ($F_{2,57}= 10,135$; $p < 0,0001$) (Figura 7) apresentou níveis de AF na largura das flores significativamente maiores do que nas folhas, enquanto as outras duas espécies *Trembleya parviflora* ($F_{2,57}= 9,210$; $p < 0,0001$) (Figura 7) e *Tibouchina heteromalla* ($F_{2,47}= 38,647$; $p < 0,0001$) (Figura 7) apresentaram níveis de AF significativamente maiores nas folhas do que no comprimento e na largura das flores.

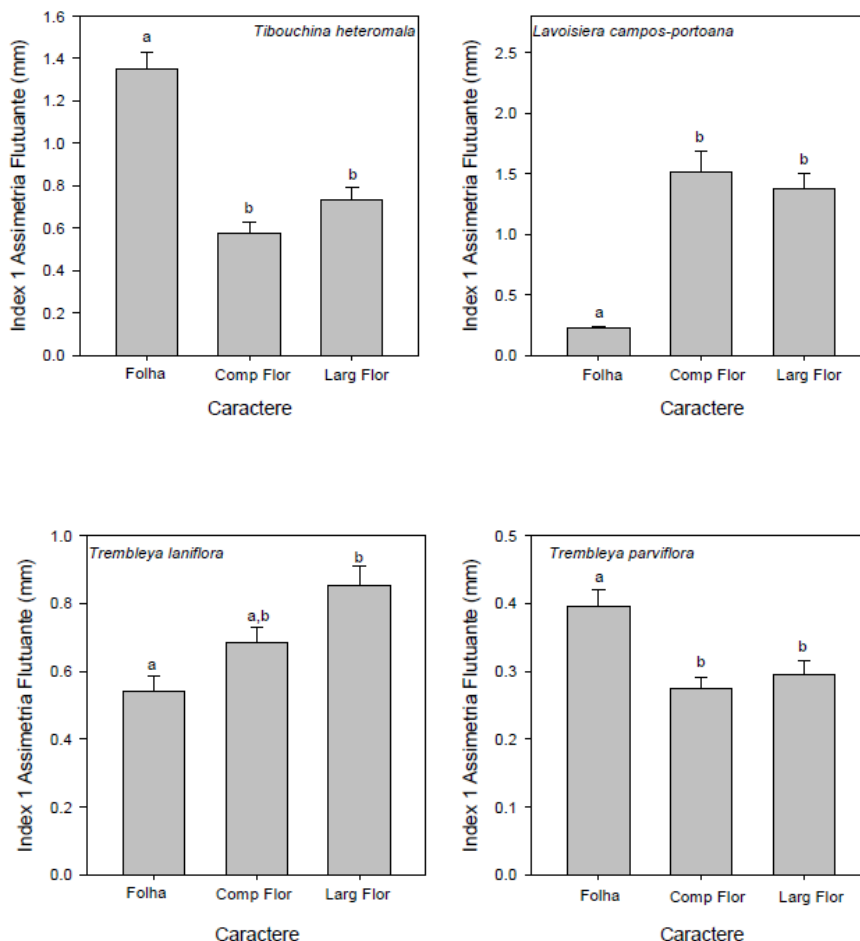


Figura 7: Comparação do Índice 1 de assimetria flutuante apresentado pelos caracteres (folha, comprimento –Comp Flor- e largura –Larg Flor- da pétala) de cada espécie (\pm SE). Valores estatisticamente diferentes foram representados por letras minúsculas diferentes.

D. Assimetria flutuante em folhas e flores de um mesmo indivíduo

Nenhuma espécie apresentou relação entre o Índice 1 de assimetria flutuante das folhas e o Índice 1 de AF das flores ($p > 0,05$), seja considerando o comprimento ou a largura das pétalas (Figuras 8 e 9).

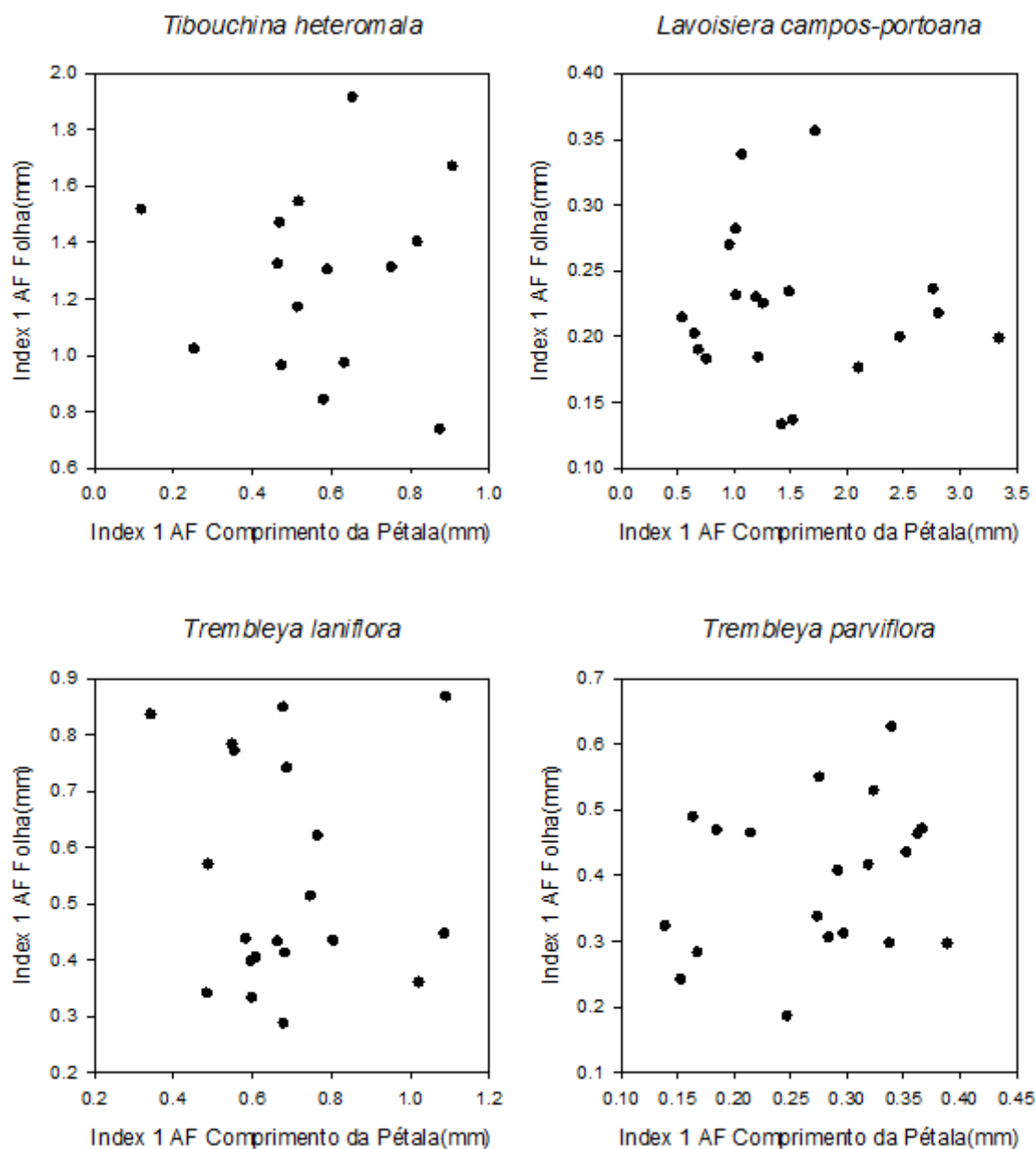


Figura 8: Relação entre o Índice 1 de assimetria flutuante das folhas e o Índice 1 de assimetria flutuante do comprimento das pétalas de cada espécie: *Tibouchina heteromalla*, *Lavoisiera campos-portoana*, *Trembleya laniflora* e *T. parviflora*.

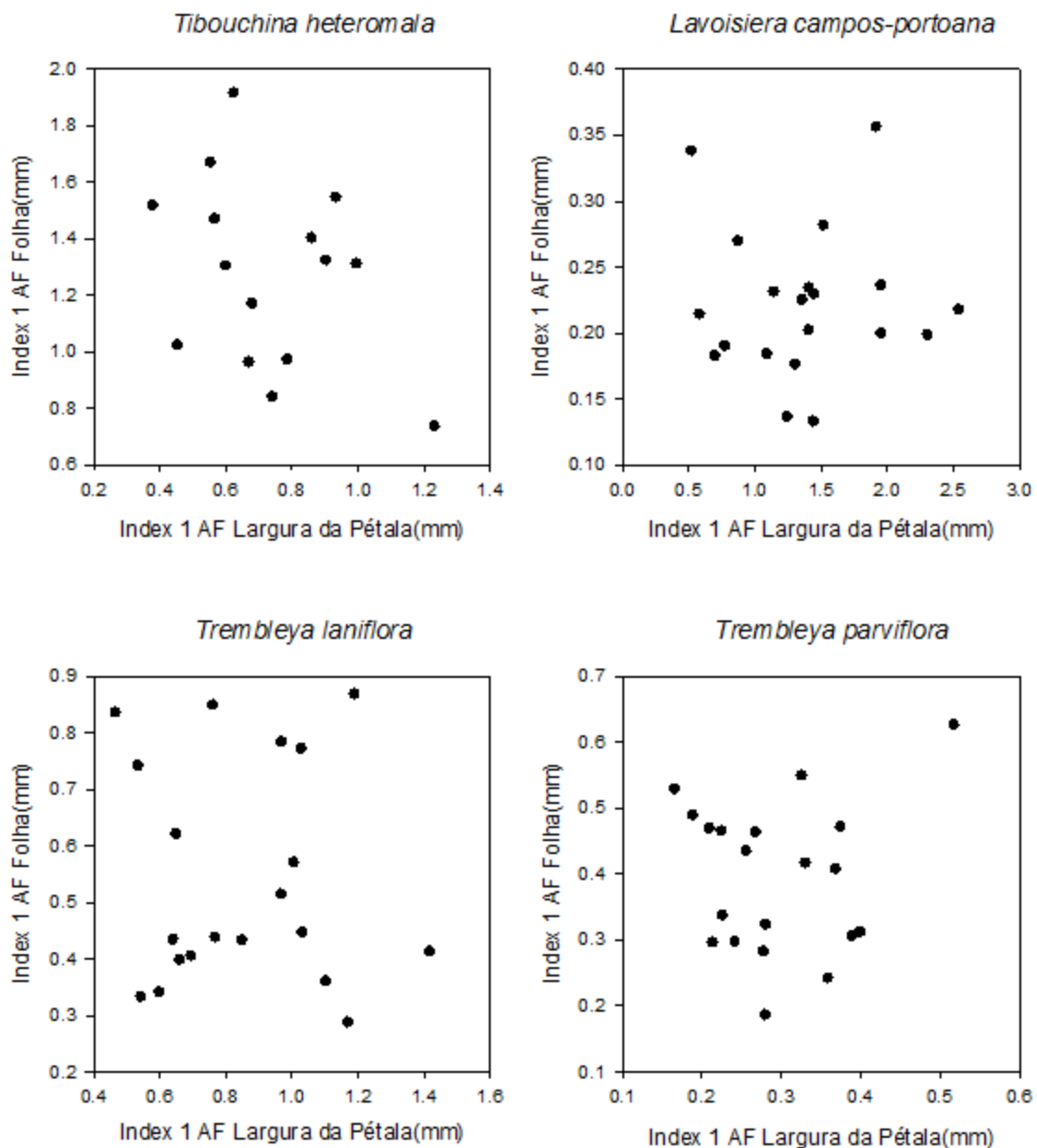


Figura 9: Relação entre o Índice 1 de assimetria flutuantes das folhas e o Índice 1 de assimetria flutuante da largura das pétalas de cada espécie: *Tibouchina heteromalla*, *Lavoisiera campos-portoana*, *Trembleya laniflora* e *T. parviflora*.

6.2 Assimetria flutuante e Herbivoria

A. Assimetria dentre indivíduos e herbivoria

Todas as espécies estudadas apresentaram maiores níveis de assimetria flutuante nas folhas atacadas em comparação às folhas intactas, mas apenas nas espécies

Trembleya laniflora ($F_{1,40} = 7,274$; $p = 0,010$) e *T. parviflora* ($F_{1,32} = 7,212$; $p = 0,11$) essa diferença foi estatisticamente significativa (Figura 10).

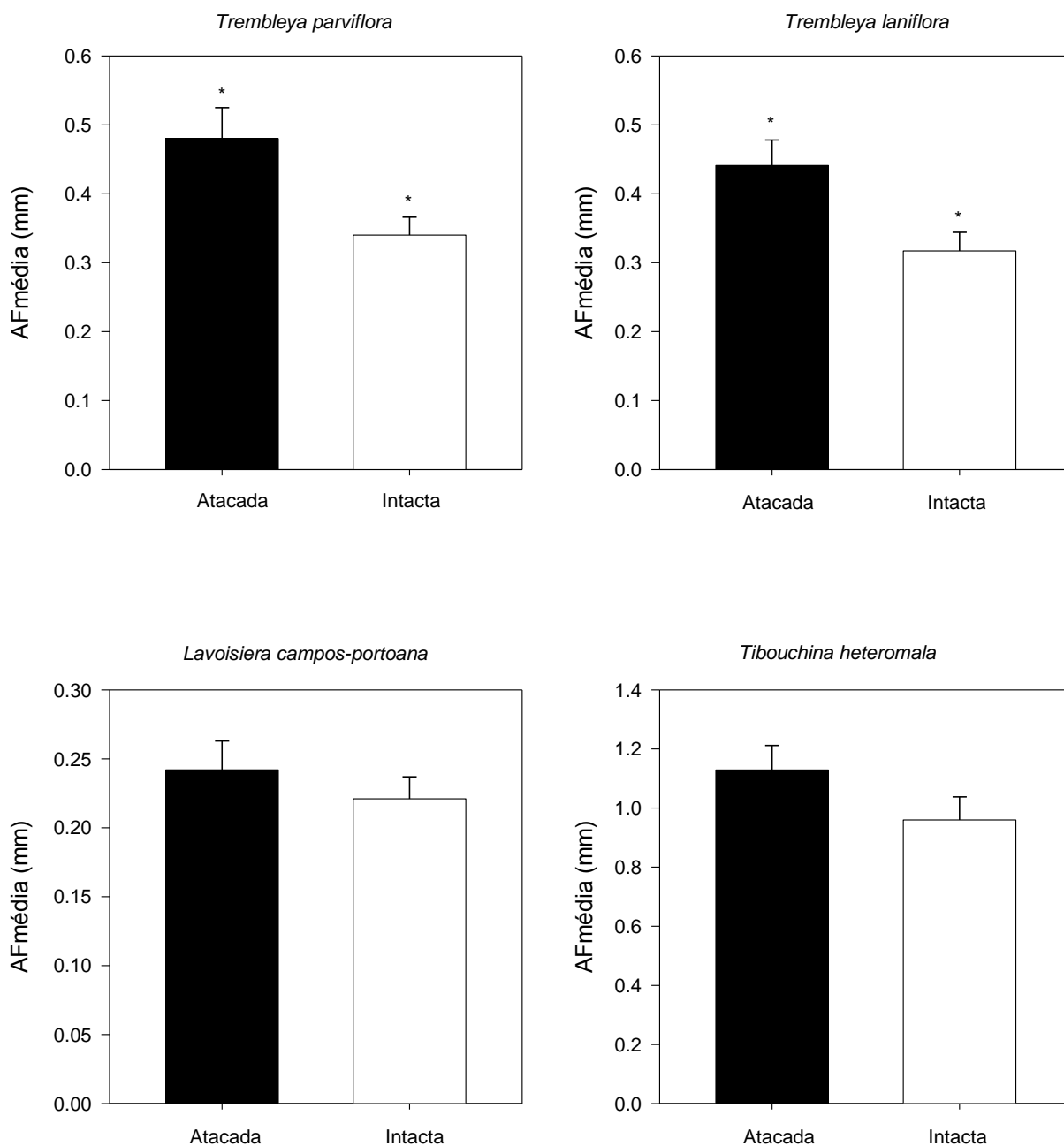


Figura 10: Comparação dos níveis médios de assimetria flutuante apresentada pelas folhas atacadas e intactas das espécies estudadas (*Trembleya laniflora*, *T. parviflora*, *Lavoisiera campos-portoana* e *Tibouchina heteromalla*). Níveis estatisticamente diferentes foram representados por um asterisco.

6.3 Assimetria Flutuante e Polinização

A. Sistema Reprodutivo de *Lavoisiera campos-portoana* e *Trembleya laniflora*

A população estudada de *Lavoisiera campos-portoana* somente apresentou frutos formados a partir das flores que foram submetidas à polinização cruzada (anexo 1 Figuras 1 a 3) e a autopolinização induzida (Tabela 2 e Anexo 1 Figura 4). Alguns frutos começaram a desenvolver a partir de flores de autopolinização espontânea (anexo 1 Figura 5), mas sofreram aborto entre o 7° e o 10° dia após a polinização.

Através da observação das lâminas de análise do desenvolvimento dos tubos polínicos não foi possível verificar o tempo necessário para os tubos polínicos atingirem os óvulos. As lâminas apresentaram alguns óvulos fertilizados e tubo polínico no estilete, mas nada conclusivo sobre seu sistema reprodutivo. Já as lâminas feitas a partir de frutos mostraram mais claramente óvulos fertilizados e tubos polínicos (anexo 1 Figuras 6 a 10).

A população estudada de *Trembleya laniflora* apresentou frutos formados a partir de flores submetidas à polinização cruzada, autopolinização induzida e à autopolinização espontânea, além de flores marcadas como controle (Tabela 2).

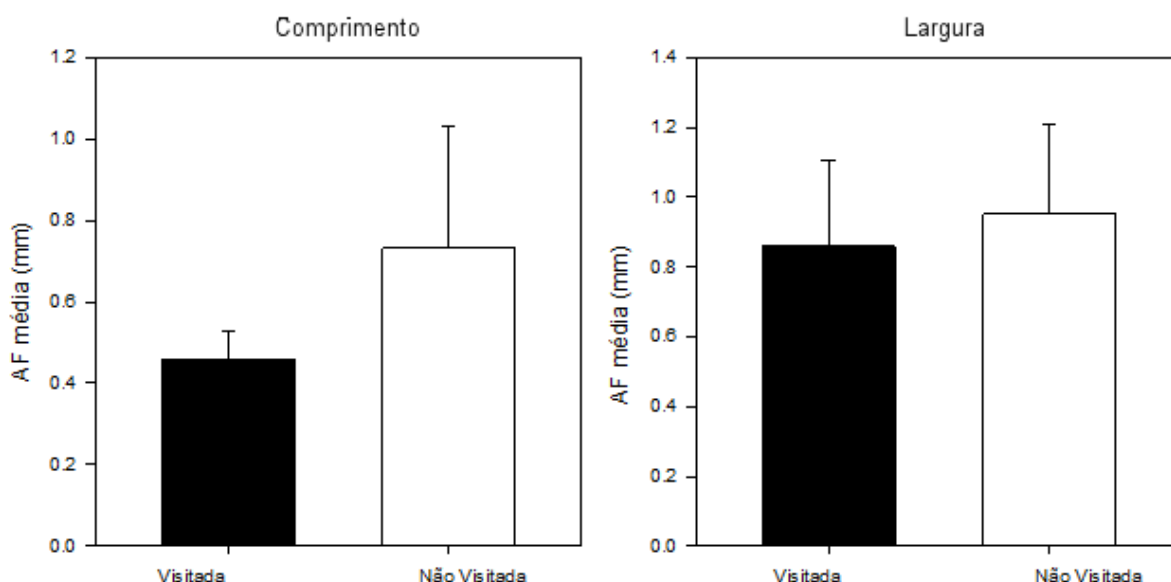
As observações de crescimento de tubo polínico através de montagem de lâminas não foram suficientes para a determinação precisa do tempo necessário para os tubos polínicos atingirem os óvulos, mas pode-se sugerir que isto ocorra de 24 às 48h após a polinização. Isto porque as lâminas de flores submetidas à polinização cruzada coletadas 24h após a polinização não apresentaram óvulos fecundados enquanto as de flores de 48h após a polinização sim (anexo 1 Figuras 11 a 14). As lâminas feitas a partir de flores submetidas ao tratamento de apomixia não apresentaram tubo polínico no estilete nem no ovário, para os tempos de 48 e 72h após a realização do tratamento. A lâmina da flor submetida à autopolinização espontânea coletada 72h após o tratamento também não apresentou nenhum tubo polínico. A lâmina da flor submetida à autopolinização induzida coletada 48h após o tratamento apresentou tubos polínicos apenas no estilete.

Tabela 2: Polinizações controladas. Polinizações controladas em porcentagem de frutos formados e, entre parênteses, o número total de flores utilizadas por tratamento. N: número de indivíduos utilizados por espécie nas polinizações; AX: apomixia; PC: polinização cruzada; AI: autopolinização induzida; AE: autopolinização espontânea e C: controle.

Espécie	Polinizações controladas					
	N	AX	PC	AI	AE	C
<i>Lavoisiera campos-portoana</i>	20	0(17)	40(20)	54(13)	0(31)	0(12)
<i>Trembleya laniflora</i>	12	0(20)	67(18)	63(24)	2(45)	69(45)

B. Assimetria flutuante e freqüência de visitação por polinizadores de *Trembleya laniflora*

A comparação entre os níveis de assimetria flutuante das flores de *T. laniflora* visitadas por polinizadores e das flores não visitadas não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$; Figura 11), apesar das flores não visitadas, na média, apresentarem um maior nível de assimetria flutuante.



Figuras 11: Comparação da média de assimetria flutuante apresentada pelo comprimento (A), e pela largura (B) das pétalas das flores de *Trembleya laniflora* visitadas por polinizadores e pelas flores não visitadas.

7. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo investigar o papel da assimetria flutuante nas variações das taxas de herbivoria e visitação de polinizadores. Apesar disto, alguns caracteres de algumas espécies estudadas (folhas de *Lavoisiera campos-portoana* e *L. cordata* e largura das pétalas de *Tibouchina heteromalla*) apresentaram assimetria direcional, que foi comparada com a assimetria flutuante apresentada pelos caracteres das outras espécies. É possível fazer tal comparação pois há na literatura estudos que também relacionam a assimetria direcional à instabilidade de desenvolvimento (veja Graham *et al.* 1993, Moller 1994 e Velickovic & Jakovcev-Todorovic 2006).

Na comparação entre as espécies estudadas dos níveis de assimetria flutuante apresentados pelos caracteres folha e flor, quase todas as espécies apresentaram níveis estatisticamente diferentes de AF em suas flores demonstrando a influência combinada de fatores genéticos e ambientais na regulação do desenvolvimento desse caractere. Já na comparação dos níveis de AF apresentados pelas folhas das espécies em questão, todas as espécies que pertencem a um mesmo gênero apresentaram níveis semelhantes de AF nas folhas, demonstrando que talvez haja uma maior influência genética do que ambiental na regulação do desenvolvimento das folhas, diferentemente do observado para as flores.

Outro resultado encontrado que justificaria a sugestão de tal hipótese foi o dendograma do nível de AF para as folhas, que organizou as espécies de forma bem semelhante à árvore filogenética da família (veja anexo 2 Figura 6) enquanto o dendograma gerado pela semelhança dos níveis de AF das flores apresentou aglomerações mais independentes da filogenia. Leamy & Klingenberg (2005) afirmaram que a AF não é puramente determinada pelo ambiente, pois interações genéticas também seriam importantes no processo de desenvolvimento, e que, talvez, essas interações fossem particulares de um caractere. Os resultados apresentados corroboram com esta afirmação, uma vez que foram encontradas diferenças nas comparações interespecíficas dos níveis de AF de folhas e flores.

Os resultados mostrados pelas figuras 5C e 6A indicam que o nível de AF apresentado pelas folhas de *Tibouchina heteromalla* é bem maior do que o

apresentado pelas folhas de todas as outras espécies, possivelmente indicando que esta espécie está submetida a uma maior quantidade de estresse ou está mais ameaçada (Leary & Allendorf 1989). Outra possível explicação para a apresentação do nível tão destoante de AF estaria relacionada com o tipo de insetos herbívoros que atacam essas folhas. As folhas de *T. heteromalla* são atacadas na maioria das vezes por formigas (observação pessoal), que não usariam a AF como um guia na busca por alimento, conforme demonstrado pelo resultado não significativo da comparação entre o nível médio de AF das folhas atacadas e das não atacadas. Além disso, insetos mastigadores como as formigas seriam afetados negativamente pelo estresse em plantas (Gullan & Cranston 2005). Os indivíduos dessa espécie, portanto, não gastariam recursos controlando o desenvolvimento de suas folhas, o que as levaria a apresentarem altos níveis de AF.

Já a espécie que apresentou o maior nível de AF nas flores foi *Lavoisiera campos-portoana*, e essa foi a única espécie a apresentar tanto na largura quanto no comprimento das pétalas um nível de AF maior do que nas próprias folhas. Este era o resultado esperado para todas as espécies, uma vez que a forte pressão seletiva por parte dos polinizadores a favor de tamanhos maiores de flores (Stanton & Preston 1988, Conner & Rush 1996 e Glaettli & Barrett 2008) levaria a uma produção cara e perto dos limites, o que tornaria o controle do desenvolvimento mais frágil, gerando assim maiores níveis de AF neste caractere do que em outro não sujeito a forte seleção direcional (Moller & Hoglund 1991). O estudo do sistema reprodutivo da espécie em questão mostrou que há a necessidade de um polinizador para a reprodução, mas ainda não há estudos sobre a preferência desses polinizadores em relação à simetria e ao tamanho que poderiam confirmar a existência de uma forte seleção direcional.

Quando a influência da seleção direcional no nível de AF das outras espécies foi investigada, *Trembleya laniflora* apresentou apenas o nível de AF da largura das pétalas superior ao das folhas, e, para *Trembleya parviflora* e *Tibouchina heteromalla* o nível de AF apresentado pelas folhas foi maior tanto que o apresentado pelo comprimento quanto pela largura das pétalas, resultados estes consistentes com os de Moller & Eriksson (1994), Jennions (1996) e Sherry & Lord (1996). Uma possível explicação é que as funções das flores na reprodução e na

atração de polinizadores impõem uma forte seleção estabilizadora, aumentando o controle do seu desenvolvimento (Sherry & Lord 1996) e diminuindo a sua plasticidade fenotípica (Bradshaw 1965) que, por consequência, diminuiria os níveis de AF (Moller & Eriksson 1994). Além disso, nas flores com recompensas para o polinizador, a simetria seria um indicador de qualidade, o que afetaria a taxa de visitação e o potencial para a seleção sexual (Moller & Eriksson 1994).

Para as espécies estudadas, a AF não pode ser utilizada como preditor da instabilidade de desenvolvimento do indivíduo, devido a não existência de uma relação positiva entre os níveis de AF das folhas e flores, não podendo ser utilizada como indicador de exposição ao estresse, da qualidade individual ou fitness. Resultados semelhantes foram encontrados por Jennions (1996) e Leamy & Klingenberg (2005). Neste estudo aparentemente vigora o modelo específico sugerido por Roy & Stanton (1999), onde o estresse age no final do desenvolvimento quando os tecidos já estão diferenciados e por isso age de forma caractere-específico, reforçando os achados de Sakai and Shimamoto (1965) de que a instabilidade floral e foliar seriam independentes uma da outra. A idéia de Bjorksten *et al.* (2000) de que a resposta da AF ao estresse seja estresse, caractere e espécie-específica, além de explicar esta questão também justifica a não existência de um padrão de relação dos níveis de assimetria flutuante de diferentes caracteres entre as espécies.

Apesar disto, os insetos herbívoros que se alimentam das folhas das espécies de Melastomataceas estudadas parecem, em sua maioria, utilizarem a AF como guia nas escolhas por recursos. As comparações feitas neste estudo entre folhas atacadas e não atacadas por insetos herbívoros mostram que em duas espécies (*Trembleya parviflora* e *Trembleya laniflora*) há uma preferência significativa dos herbívoros por folhas mais assimétricas enquanto nas outras duas (*Tibouchina heteromalla* e *Lavoisiera campos-portoana*), apesar das folhas atacadas apresentarem níveis maiores de AF, a diferença não foi estatisticamente significativa. A explicação desta preferência pode ser por diferenças na qualidade nutricional, como a maior quantidade de nitrogênio presente nas folhas assimétricas, e ou em compostos químicos secundários, como a maior quantidade de taninos nas folhas simétricas, como demonstrado em outros estudos com diversas espécies

vegetais não relacionadas (Lempa *et al.* 2000, Cornelissen & Stiling 2005, Cornelissen & Stiling 2011).

Por outro lado, a hipótese de preferência dos insetos polinizadores em relação à simetria sugere que eles prefeririam as flores mais simétricas uma vez que elas seriam mais ricas, como por exemplo, por produzirem mais néctar do que as flores assimétricas (Moller & Eriksson 1995). No presente estudo o resultado do teste de preferência dos polinizadores de *Trembleya laniflora* não demonstrou uma diferença significativa entre o nível de assimetria flutuante da flor visitada e da não visitada mais próxima. Este resultado se deve ao pequeno número amostral (13 pares de flores) e somente demonstra que há sim uma tendência dos polinizadores em visitarem as flores mais simétricas e que é necessária uma expansão do número amostral para a confirmação da hipótese.

DISCUSSÃO DOS ESTUDOS DE SISTEMA REPRODUTIVO DE *LAVOISIERA CAMPOS-PORTOANA* E *TREMBLEYA LANIFLORA*

Os resultados dos experimentos para elucidação do sistema reprodutivo de *Lavoisiera campos-portoana* mostraram que esta população é auto-compatível e que não houve desenvolvimento de frutos a partir de flores não polinizadas, havendo, portanto, a dependência da ação de um polinizador na reprodução.

A ausência de frutos originados das flores controle se deve tanto ao baixo número amostral, quanto as intensas chuvas e florivoria que ocorreram durante o período do estudo. Os principais responsáveis pela florivoria de *L. campos-portoana* foram pequenos coleópteros e abelhas *Trigona* sp, sendo os primeiros responsáveis pela destruição do display floral e as últimas pela destruição das anteras.

A população de *Trembleya laniflora* estudada também é auto-compatível e, apesar de ter apresentado um fruto formado a partir de uma flor submetida à autopolinização espontânea, também é dependente de um polinizador para que haja a reprodução. Isto porque no indivíduo que apresentou tal fruto, ele foi o único fruto que começou a desenvolver após o início do experimento, nem os outros tratamentos, nem as flores controle frutificaram. O mais provável é que este fruto

sofra um aborto espontâneo alguns dias após o início do seu desenvolvimento, como ocorreu em vários frutos da *L. campos-portoana*.

Mesmo assim, para ambas as espécies, não é possível afirmar com certeza seus sistemas reprodutivos, pois as lâminas de crescimento de tubo polínico não apresentaram resultados conclusivos, não eliminando os tipos de agamospermia nos quais o polinizador também é necessário, como a agamospermia esporofítica e a aposporia. Desta forma o único sistema reprodutivo eliminado foi o de diplosporia, onde a agamospermia é obrigatória (Richards 1997).

8. CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que para as espécies *Trembleya laniflora*, *T. parviflora*, *Lavoisiera campos-portoana*, *L. cordata* e *Tibouchina heteromalla* o papel da assimetria flutuante como um indicador de exposição ao estresse é questionado por não haver consistência entre as comparações dos níveis de assimetria flutuante das folhas e das flores entre as espécies. Talvez se os níveis de AF apresentados pelas folhas forem desconsiderados por demonstrarem forte influência genética e somente os níveis de AF apresentados pelas flores forem utilizados para relações futuras com fatores abióticos que influenciam a AF, uma relação entre nível de AF e estresse possa ser encontrada para tais espécies.

Individualmente, a capacidade de predição da instabilidade de desenvolvimento dos indivíduos destas espécies pela AF também é questionada por não ter sido encontrada relação entre os níveis de assimetria flutuante das folhas e flores dos indivíduos da mesma espécie, comprovando que as estabilidades de desenvolvimento de flores e folhas são independentes.

Apesar disto este estudo mostrou que os insetos herbívoros que interagem com essas espécies em geral utilizam a assimetria flutuante como guia para sua escolha. Deve-se investigar se esses resultados são simplesmente pela preferência inata dos insetos pela simetria ou se há uma diferença nutricional entre os caracteres simétricos e assimétricos das espécies estudadas.

REFERÊNCIAS:

1. Bjorksten T.A., Fowler K. & Pomiankowski A. 2000. What does sexual trait FA tell us about stress? **Trends in Ecology & Evolution**, 15: 163–166.
2. Borges H.B.N. 1991. Biologia reprodutiva de quatro espécies de Melastomataceae. Dissertação de mestrado, **Universidade Estadual de Campinas**, Campinas.
3. Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. **Advances in Genetics**, 13: II.5 155.
4. Clausing G. & Renner S.S. 2001. Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. **American Journal of Botany** 88: 486–498.
5. Conner J.K. & Rush S. 1996. Effects of flower size and number on pollinator visitation to wild radish, *Raphanus raphanistrum*. **Oecologia** 105: 509–516.
6. Cornelissen T. & Stiling P. 2005. Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. **Oecologia** 142: 46-56.
7. Cornelissen T. & Stiling P. 2011. Similar responses of insect herbivores to leaf fluctuating asymmetry. **Arthropod-Plant Interactions**, 5:59–69
8. Dafni A. 1992 Pollination ecology: a practical approach. **Oxford University Press**, Oxford, 250p.
9. Drummond R.A.R., Alves R.J.V. & Koschnitzke C. 2007. Melastomataceae da Serra de São José, Minas Gerais. **Revista de Biologia Neotropical**, 4(1): 1-12.
10. Freeman D.C., Brown M.L., Duda J.J., Graham J.H., Emlen J.M., Krzysik A.J., Balbach H., Kovacic D.A. & Zak J.C. 2004. Developmental instability in *Rhus copallinum*: multiple stressors, years, and responses. **International Journal of Plant Sciences**, 165: 53-63.
11. Freeman D.C., Brown M.L., Duda J.J., Graraham J.H., Emlen J.M., Krzysik A.J., Balbach H., Kovacic D.A. & Zak J.C. 2005. Leaf fluctuating asymmetry, soil disturbance and plant stress: a multiple year comparison using two herbs, *Ipomoea pandurata* and *Cnidioscolus stimulosus*. **Ecological Indicators**, 5(2): 85-95.
12. Fritsch P.W., Almeida F., Renner S.S., Martins A.B. & Cruz B.C. 2004. Phylogeny and circumscription of the near-endemic Brazilian tribe Microlicieae (Melastomataceae). **American Journal of Botany**, 91(7): 1105–1114.
13. Giulietti A. M., Menezes N. L., Pirani J. R., Meguro M. & Wanderley M.G.L. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Caracterização e Lista das Espécies. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, 9: 1-151.
14. Giurfa M., Eichmann B. & Menzel R. 1996. Symmetry perception in an insect. **Nature** 382:458–461
15. Glaetli M. & Barrett S.C.H. 2008. Pollinator responses to variation in floral display and flower size in dioecious *Sagittaria latifolia* (Alismataceae). **New Phytologist**, 179: 1193–1201.
16. Goldenberg R. & Shepherd G.J. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. **Plant Systematics and Evolution**, 211: 13-29.
17. Goldenberg R. & Varassin I.G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 24: 283-288.

18. Goldenberg R., Penneys D.S., Almeda F., Judd W.S. & Michelangeli F.A. 2008. Phylogeny of *Miconia* (Melastomataceae): patterns of stamen diversification in a megadiverse neotropical genus. **International Journal of Plant Sciences**, 169: 963-979.
19. Gonçalves-Alvim S.J. & Fernandes G.W. 2001. Comunidades de insetos galhadores (Insecta) em diferentes fisionomias do cerrado em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira Zoologia**, 18: 289-305.
20. Graham J.H., Freeman D.C. & Emlen J.M. 1993. Developmental stability: a sensitive indicator of populations under stress. Pages 136–158 in WG Landis, JS Hughes, MA Lewis, eds. Environmental toxicology and risk assessment. **American Society for Testing and Materials**, Philadelphia.
21. Graham J.H., Raz S., Hel-Or H. & Nevo E. 2010. Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. **Symmetry**, 2:466–540
22. Gullan, P.J. & Cranston, P.S. 2005. The Insects: An Outline of Entomology. 3rd edition. **Blackwell Publishing Ltd**, 505 pp.
23. Hagen S.B., Ims R.A., Yoccoz N.G. & Sørlibråten O. 2008. Fluctuating asymmetry as an indicator of elevation stress and distribution limits in mountain birch (*Betula pubescens*). **Plant Ecology**, 195: 157-163.
24. Hódar J.A. 2002. Leaf fluctuating asymmetry of Holm oak in response to drought under contrasting climatic conditions. **Journal of Arid Environments**, 52: 233-243.
25. Ishino M.N., Sibio P.R. & Rossi M.N. 2011. Leaf trait variation on *Erythroxylum tortuosum* (Erythroxylaceae) and its relationship with oviposition preference and stress by a host-specific leaf miner. **Austral Ecology**, 36(2): 203–211
26. Jennions M.D. 1996. The allometry of fluctuating asymmetry in southern African plants: flowers and leaves. **Biological Journal of the Linnean Society**, 59: 127-142
27. Kozlov M.V., Wilsey B.J., Koricheva J. & Haukioja E. 1996. Fluctuating asymmetry of birch leaves increases under pollution impact. **Journal of Applied Ecology**, 33: 1489-1495.
28. Kryazheva N.G., Chistyakova E.K. & Zakharov V.M. 1996. Analysis of Developmental stability of *Betula pendula* under conditions of chemical pollution. **Russian Journal of Ecology**, 27(6): 422 - 424.
29. Lara D.P., Oliveira L.A., Azevedo I.F.P., Xavier M.F., Silveira F.A.O., Carneiro M.A.A. & Fernandes G.W. 2008. Relationships between host plant architecture and gall abundance and survival. **Revista Brasileira de Entomologia**, 52(1): 78-81.
30. Leamy, L.J. & Klingenberg, C.P. 2005. The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, 36: 1–21.
31. Leary R.F. & Allendorf F.W. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: Implications for conservation biology. **Trends in Ecology and Evolution**, 4(7):214-217
32. Lehrer M., Horridge G.A., Zhang S.W. & Gadagkar R. 1995. Shape vision in bees: innate preference for flower-like patterns. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, 347:123–137.
33. Lempa K., Martel J., Koricheva J., Haukioja E., Ossipov V., Ossipova S. & Pihlaja K. 2000. Covariation of fluctuating asymmetry, herbivory and chemistry during birch leaf expansion. **Oecologia**, 122:354–360
34. Mal T.K., Uveges J.L. & Turk K.W. 2002. Fluctuating asymmetry as an ecological indicator of heavy metal stress in *Lythrum salicaria*. **Ecological Indicators**, 1(3): 189-195.

35. Melo G.F.A. & Machado I.C. 1996. Biologia da reprodução de *Henrietta succosa* DC. (Melastomataceae). **Revista Brasileira de Biologia**, 56: 383-389.
36. Melo G.F.A., Machado I.C. & Luceño M. 1999. Reprodución de três espécies de *Clidemia* (Melastomataceae) en Brasil. **Revista de Biologia Tropical**, 47: 359-363.
37. Møller A.P. & Eriksson M. 1994. Patterns of fluctuating asymmetry in flowers: implications for sexual selection in plants. **Journal of Evolutionary Biology**, 7: 97-113.
38. Møller A.P. & Eriksson M. 1995. Pollinator preference for symmetrical flowers and sexual selection in plants. **Oikos**, 73:15–22.
39. Møller A.P. & Höglund J. 1991. Patterns of fluctuating asymmetry in avian feather ornaments: implications for models of sexual selection. **Proceedings of the Royal Society of London Series B**, 245: 1–5.
40. Møller A.P. & Pomiankowski, A. 1993. Fluctuating asymmetry and sexual selection. **Genetica**, 89: 267-279.
41. Møller A.P. & Swaddle J.P. 1997. Asymmetry, developmental stability, and evolution. **University Press**, Oxford, 291 p.
42. Møller A.P. 1990. Fluctuating asymmetry in male sexual ornaments may reliably reveal male quality. **Animal Behaviour**, 40:1185–1187.
43. Møller A.P. 1994. Directional selection on directional asymmetry: Testes size and secondary sexual characters in birds. **Proceedings of the Royal Society of London Series B**, 258:147-151.
44. Møller A.P. 1995. Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. **Journal of Animal Ecology**, 64 (6): 697-707.
45. Møller A.P. 1995. Bumblebee preference for symmetrical flowers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A.**, 92:2288–2292.
46. Møller A.P. 1998. Developmental instability of plants and radiation from Chernobyl. **Oikos**, 81:444–448.
47. Oliveira, R.E.A.M. 1991. The pollination and reproductive biology of a cerrado Woody community in Brazil. - Ph.D. Thesis, **University of St. Andrews**, UK.
48. Oliveira-Rebouças P. & Gimenes M. 2004. Bee (Apoidea) visitors of the flowers of *Comolia ovalifolia* DC Triana (Melastomataceae) in a sandbanks area in Bahia. **Neotropical Entomology**, 33: 315–320.
49. Palmer R.A. & Strobeck C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, and patterns. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 17:391-421.
50. Parsons, P. A. 1990. Fluctuating asymmetry: An epigenetic measure of stress. **Biological Reviews**, 65: 131-145.
51. Polak M. 2003. Developmental instability – causes and consequences. **University Press**, Oxford, 459p.
52. Renner S.S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 76:496-518.
53. Renner, S.S. 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**, 13:519-540.
54. Rettig J.E., Fuller R.C., Corbett A.L. & Getty T. 1997. Fluctuating asymmetry indicates levels of competition in an even-aged poplar clone. **Oikos**, 80: 123-127.
55. Richards A.J. 1997. Plant breeding systems. 2^a ed. **Chapman & Hall**, London, 544p.
56. Romero, R. & Martins, A. B. 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 25(1): 19-24

57. Roy B.A. & Stanton M.L. 1999. Asymmetry in wild mustard, *Sinapis arvensis* (Brassicaceae), in response to severe physiological stresses. **Journal of Evolutionary Biology**, 12: 440-449.
58. Sakai, K.I. & Shimamoto Y. 1965. Developmental instability in leaves and flowers of *Nicotinia tabacum*. **Genetics**, 51:801-813
59. Sherry R.A. & Lord E.M. 1996. Developmental stability in leaves of *Clarkia tembloriensis* (Onagraceae) as related to population outcrossing rates and heterozygosity. **Evolution**, 50:80–91
60. Sherry R.A. & Lord E.M. 1996. Developmental stability in flowers of *Clarkia tembloriensis* (Onagraceae). **Journal of Evolutionary Biology**, 9:911–930
61. Stanton M.L. & Preston R.E. 1988. Ecological consequences and phenotypic correlates of petal size variation in wild radish, *Raphanus sativus* (Brassicaceae). **American Journal of Botany**, 75:528-539
62. Telhado C., Esteves D., Cornelissen T., Fernandes G.W. & Carneiro M.A. 2010. Insect herbivores of *Coccoloba cereifera* do not select asymmetric plants. **Environmental Entomology**, 39:849–855
63. Veličković M. & Jakovčev-Todorović D. 2006. Directional asymmetry estimates developmental instability in plants: a case report in *Plantago major* L. leaves. **Acta biologica iugoslavica - seria F: Genetika (Belgrade), short communications**, 38: 169-174.
64. Waldmann P. 1999. The effect of inbreeding and population hybridization of developmental instability in petals and leaves of the rare plant *Silene diclinis* (Caryophyllaceae). **Heredity**, 83: 138–144.
65. Wilsey B.J., Haukioja E., Koricheva J. & Sulkinoja M. 1998. Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and elevation in tree-line birches. **Ecology**, 79: 2092-2099.
66. Zvereva E., Kozlov M. & Haukioja E. 1997. Stress responses of *Salix borealis* to pollution and defoliation. **Journal of Applied Ecology**, 34:1387-1396.

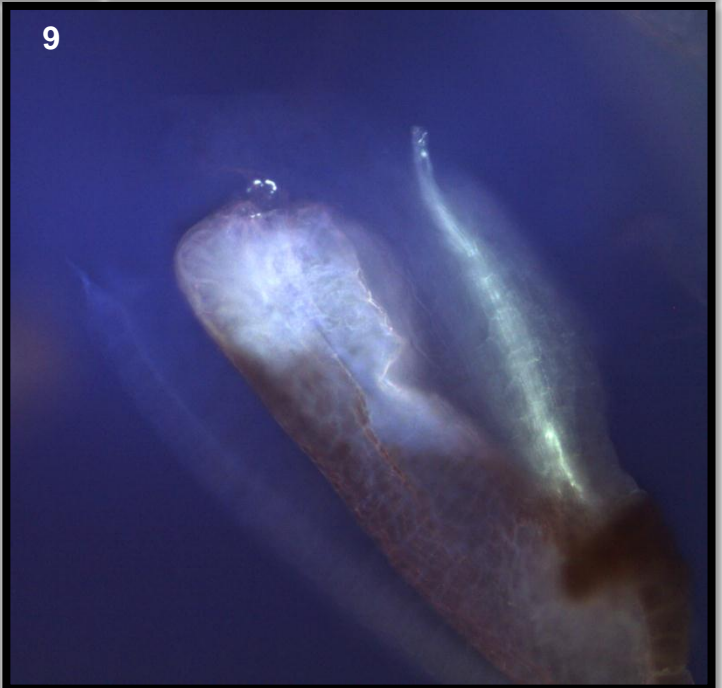
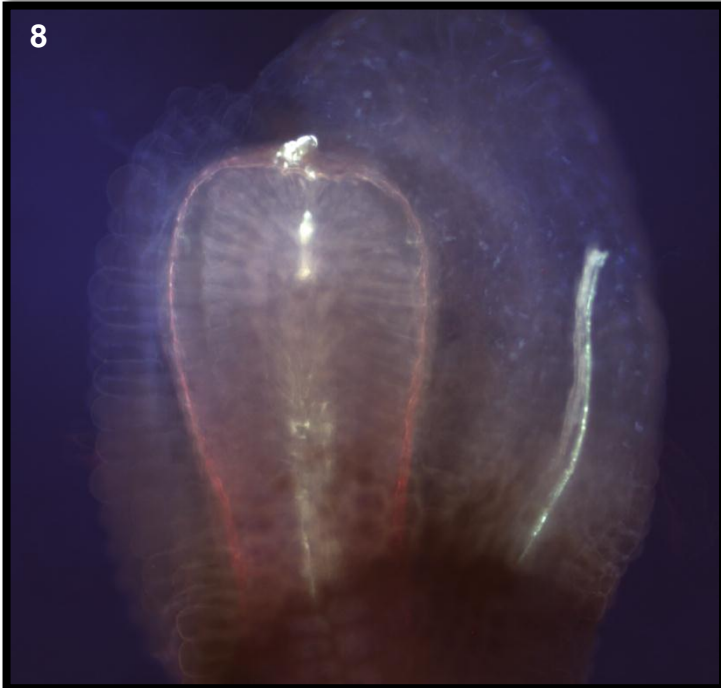
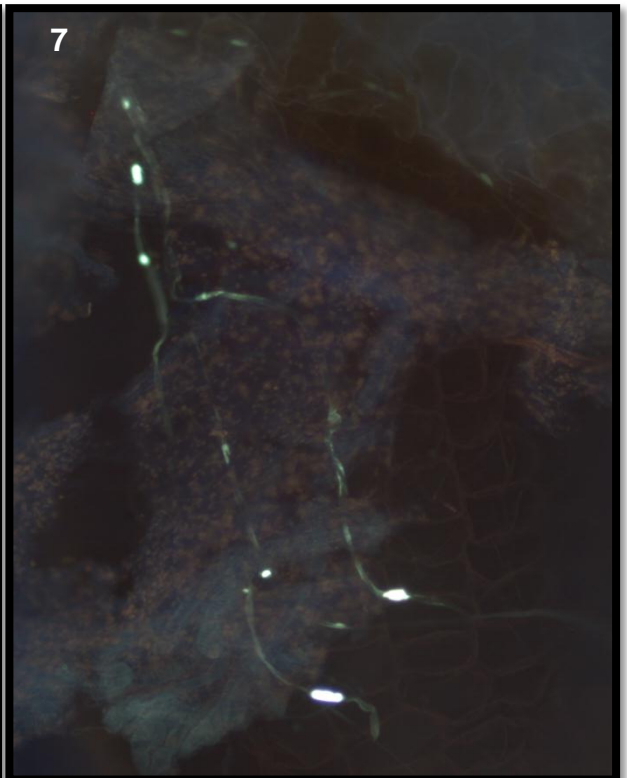
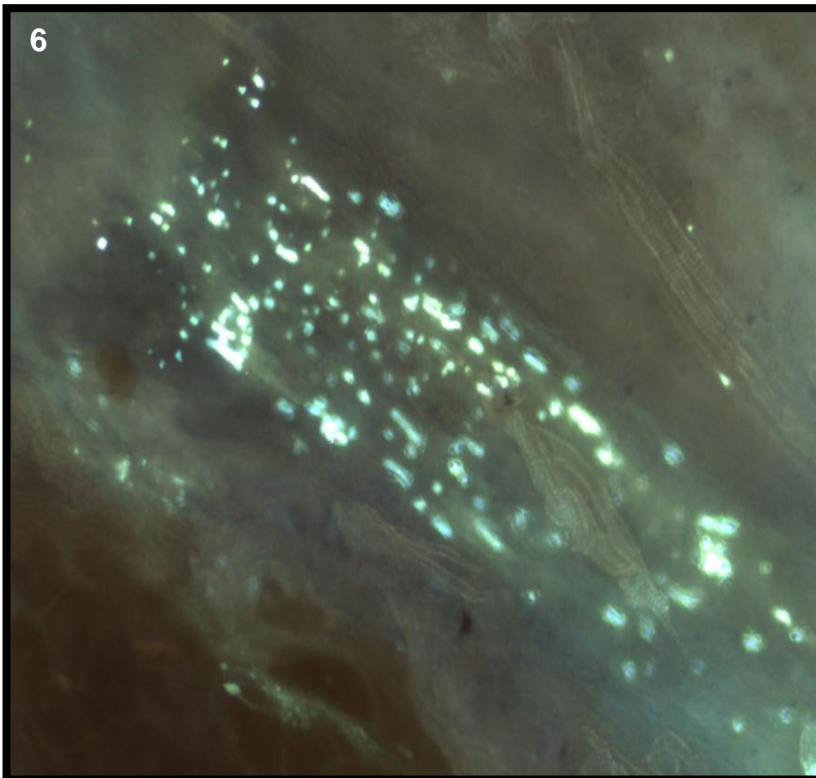
ANEXO 1: FIGURAS DO ESTUDO DOS SISTEMAS REPRODUTIVOS

ÍNDICE

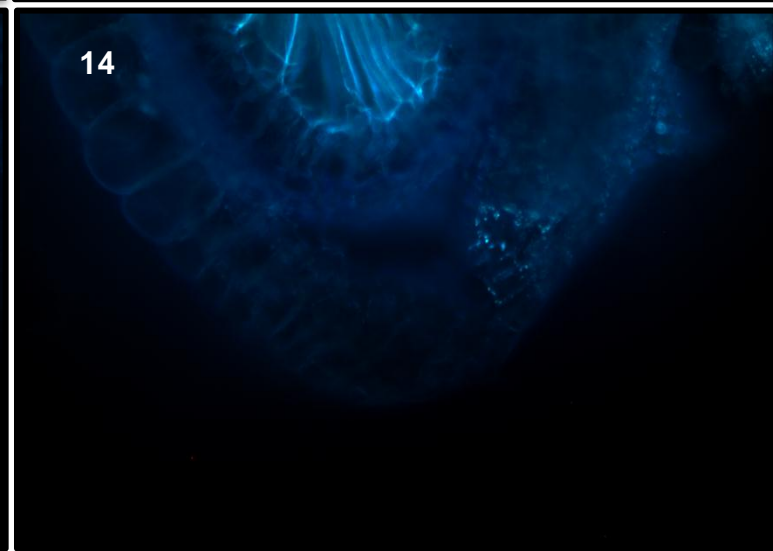
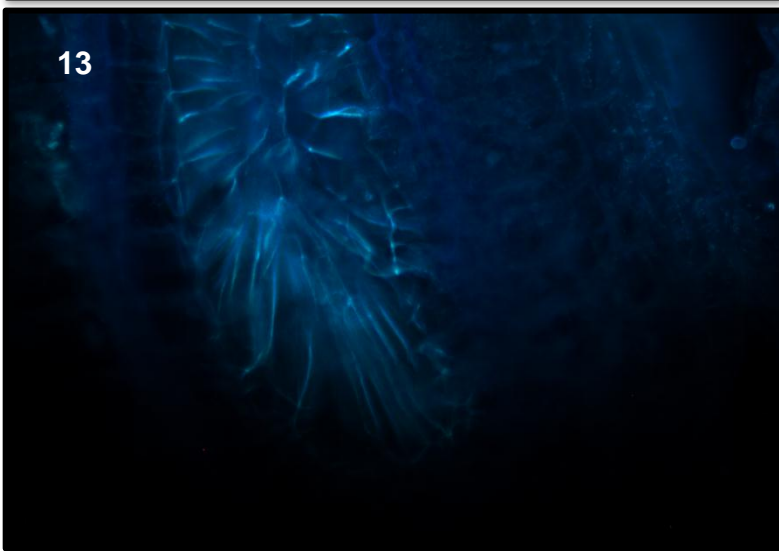
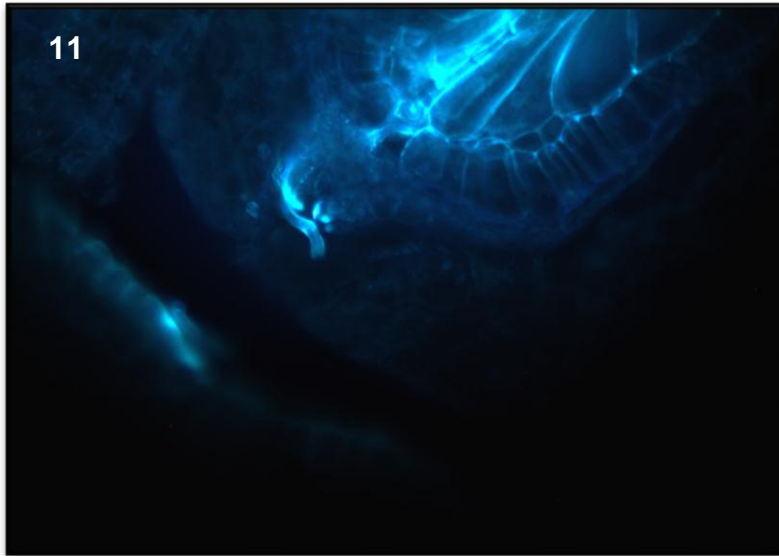
Figuras 1 a 5: Frutos de <i>Lavoisiera campos-portoana</i>	47
Figuras 6 a 10: Microscopia de fluorescência <i>L. campos-portoana</i>	48
Figuras 11 a 14: Microscopia de fluorescência <i>Trembleya laniflora</i>	49



Figuras 1 a 5: Frutos formados a partir das flores de *Lavoisiera campos-portoana* que foram submetidas à polinização cruzada (1 a 3), autopolinização induzida (4) e autopolinização espontânea (5). Figura 1: 6 dias após a polinização, figura 2 e 3: 17 dias após a polinização, figura 4: 11 dias após a polinização e figura 5: 7 dias após a polinização.



Figuras 6 a 10: Fotos da microscopia de fluorescência dos frutos formados a partir de flores de *Lavoisiera campos-portoana* submetidas à autopolinização induzida (6-8: 11 dias após o experimento) e a polinização cruzada (9-10: 17 dias após o experimento). Figuras 6 e 7: tubos polínicos, figuras 8 a 10: óvulos anátropos fertilizados.



Figuras 11 a 14: Fotos da microscopia de fluorescência das flores de *Trembleya parviflora* submetidas à polinização cruzada 48 horas após o experimento. As figuras mostram óvulos já fecundados.

ANEXO 2: FIGURAS COMPLEMENTARES

ÍNDICE

Figura 1: <i>Trembleya laniflora</i>	51
Figura 2: <i>Trembleya parviflora</i>	52
Figura 3: <i>Lavoisiera campos-portoana</i>	53
Figura 4: <i>Lavoisiera cordata</i>	54
Figura 5: <i>Tibouchina heteromalla</i>	55
Figura 6: Árvore filogenética da família Melastomataceae	56



Figura 1: *Trembleya laniflora*.
A) Individuo florido, B) Flor abierta.



Figura 2: *Trembleya parviflora*.
A) Indivíduo florido, B) Flor aberta, botões florais e folhas com sinais de herbivoria.



Figura 3: *Lavoisiera campos-portoana*. A) Flor aberta e recém-polinizada, B) Vários indivíduos floridos.



Figura 4: *Lavoisiera cordata*.
A) Flor aberta, B) Indivíduo florido.



Figura 5: *Tibouchina heteromalla*. A) Flor aberta, B) Formiga em folha com sinais de herbivoria, C) Indivíduo florido.

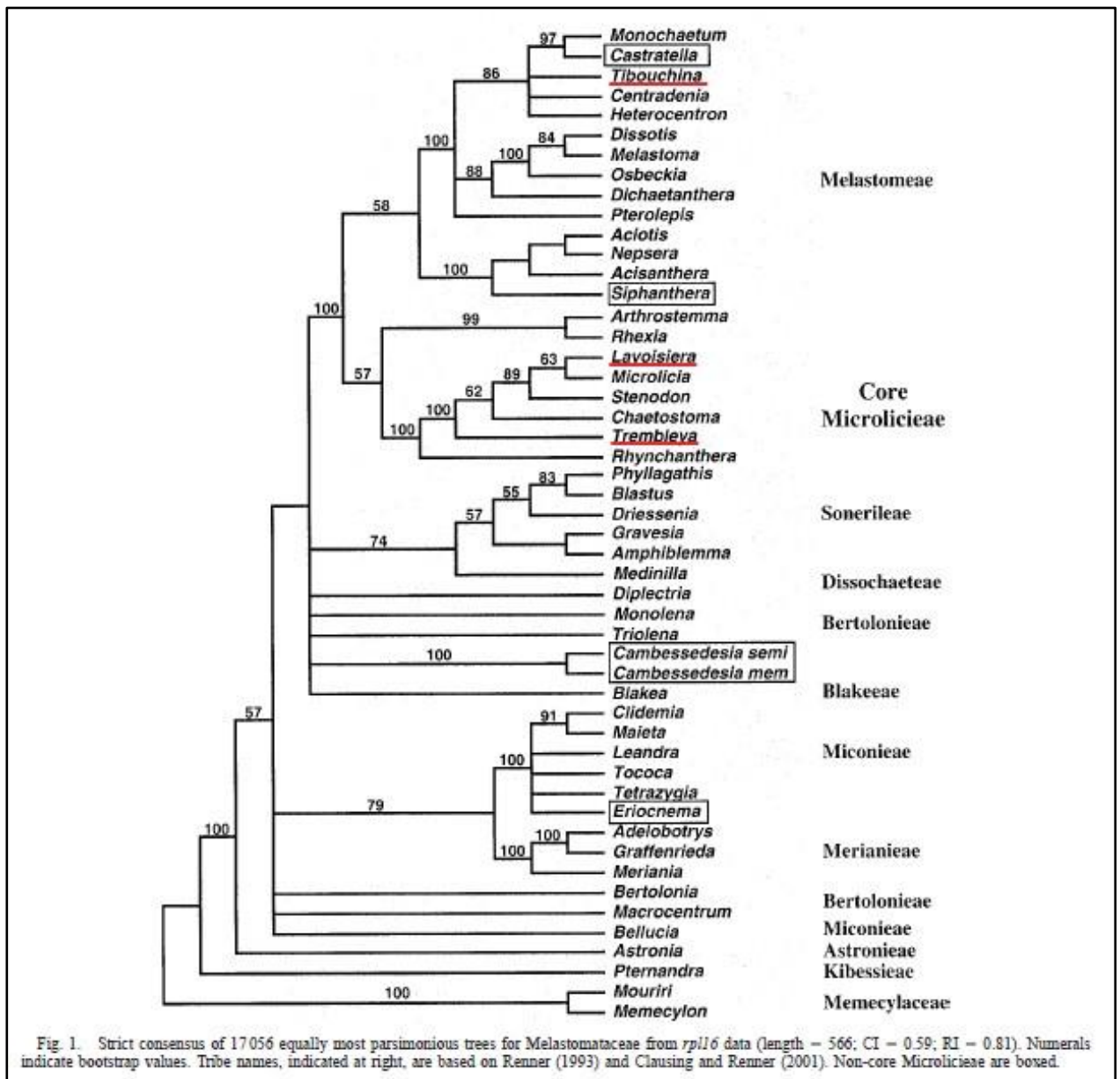


Figura 6: Árvore filogenética da família Melastomataceae adaptado de Fritsch *et al.* 2004. Os gêneros estudados estão sublinhados.