UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

FERNANDO HAROLD CALDERON QUISPE

POLINIZAÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Malaxis parthoni* C. Morren E *Malaxis excavata* Kuntze (MALAXIDEAE: ORCHIDACEAE)

Porto Alegre, RS

2025

FERNANDO HAROLD CALDERON QUISPE

POLINIZAÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Malaxis parthoni* C. Morren E *Malaxis excavata* Kuntze (MALAXIDEAE: ORCHIDACEAE)

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Botânica na Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Bustos Singer

Porto Alegre, RS

2025

AGRADECIMENTOS

A finalização desta pesquisa só foi possível mediante um apoio conjunto de diversas pessoas e instituições, para os quais expresso meus mais sinceros agradecimentos.

Primeiramente, dedico esta dissertação a minha mãe, Nelly N. Quispe Paredes, ao meu pai, Felix Calderon Andrade, aos meus queridos irmãos, Erika e Richard, à minha tia Irma P. Quispe Paredes, e aos meus avós, Manuel Quispe Condori e Rosa Paredes Yana. A todos vocês, que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando com carinho diante de cada novo desafio e adversidade. Foram suas palavras, gestos e alegrias que me inspiraram a seguir está profissão e, mais do que isso, foram vocês que me ensinaram a olhar a natureza com respeito, admiração e profundo amo.

Ao meu orientador, Rodrigo B. Singer, por toda a paciência e apoio ao longo das diferentes etapas desta pesquisa. Sou imensamente grato pelos conselhos, ensinamentos e pela generosidade com que compartilhou seu conhecimento, contribuindo de forma profunda para o meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

Aos meus melhores amigos, Júlia Brandalise, Renan Pittella, Rafael Becker e Jéssica Moura (carinhosamente conhecidos como “Os Singers”), que tornaram esta etapa da minha vida no Brasil verdadeiramente inesquecível. Compartilhamos lembranças que, muitas vezes, pareciam saídas de uma história cheia de exageros, marcadas por vivências aleatórias e situações inesperadas. Mas foi justamente nessas experiências, algumas nem sempre fáceis, que aprendemos o valor do companheirismo e descobrimos o que é a verdadeira amizade.

Ao Jean Marco Acuña Orihuela, por sempre me incentivar a seguir com os meus próprios objetivos e acreditar na minha capacidade de realizá-los. Obrigado por me lembrar, em tantos momentos, do que sou capaz e de tudo aquilo que posso alcançar.

Finalmente, agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul por ter possibilitado a realização desta pesquisa. Ao PPG em Botânica e à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade da vaga e pelo apoio financeiro por meio da bolsa de mestrado (N° 88887.827395/2023-00). A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta etapa inesquecível da minha vida, o meu mais sincero obrigado.

RESUMO

Malaxis (Orchidaceae) é um gênero cosmopolita que compreende aproximadamente 300 espécies. Apesar de sua diversidade e ampla distribuição, pouco se sabe sobre sua biologia reprodutiva, possivelmente devido às flores esverdeadas e pouco vistosas, além das populações esparsas. Este estudo investigou duas espécies: *M. parthoni* em Porto Alegre, Sul do Brasil (83 m s.n.m.), e *M. excavata* nos Andes de Ayacucho, Peru (3500 m s.n.m.). Os sistemas reprodutivos foram avaliados por meio de experimentos de polinização controlada com exclusão de polinizadores, enquanto a polinização natural foi documentada através de observações de campo, fotografias e vídeos. Também foi analisado o sucesso reprodutivo na natureza. Ambas as espécies produzem néctar para atrair polinizadores, são autoincompatíveis e, portanto, dependem de polinização cruzada para o desenvolvimento de frutos e sementes. *Malaxis parthoni* e *M. excavata* compartilham um grupo semelhante de polinizadores, **moscas dos fungos** do gênero *Mycomya* (Mycetophilidae). Em *Malaxis parthoni*, a atividade máxima dos polinizadores foi registrada entre 16h00 e 17h00, enquanto em *M. excavata*, o pico de atividade ocorreu entre 18h00 e 18h30, coincidindo com os períodos de maior emissão de fragrância floral. O sucesso reprodutivo foi elevado em ambas as espécies estudadas, em comparação com outras representantes do gênero. Em *M. excavata*, indivíduos localizados próximos às bordas da floresta apresentaram baixos índices de frutificação (5–42%), enquanto aqueles situados no interior da floresta exibiram taxas significativamente mais altas (32–85%). Este é o primeiro estudo detalhado sobre a biologia reprodutiva de *Malaxis* nos Neotrópicos. Os resultados revelam que ambas as espécies compartilham um grupo semelhante de polinizadores e dependem deles para a reprodução. Resultados preliminares sugerem que os efeitos de borda causados pelo desmatamento podem impactar negativamente o sucesso reprodutivo, levantando preocupações quanto à conservação das espécies de *Malaxis* em habitats fragmentados.

Palavras chave: Neotropico, Sul do Brasil, Andes Peruanos, polinização por moscas, Mycetophylidae

ABSTRACT

Malaxis (Orchidaceae) is a cosmopolitan genus comprising approximately 300 species. Despite its diversity and wide distribution, little is known about its reproductive biology, likely due to its inconspicuous greenish flowers and scattered populations. This study investigated two species: *M. parthoni* in Porto Alegre, Southern Brazil (83 m a.s.l.), and *M. excavata* in the Andes of Ayacucho, Peru (3500 m a.s.l.). Breeding systems were assessed through controlled pollination experiments, excluding pollinators, while natural pollination was documented via field observations, photographs, and videos. Fruiting success under natural conditions was also analyzed. Both species produce nectar to attract pollinators, are self-incompatible, and depend on cross-pollination for fruit and seed development. *Malaxis parthoni* and *M. excavata* share a similar group of pollinators, fungus gnats of the genus *Mycomya* (Mycetophilidae). In *Malaxis parthoni*, peak pollinator activity was recorded between 16:00 and 17:00, whereas in *M. excavata*, the peak occurred between 18:00 and 18:30, coinciding with periods of highest floral fragrance emission. Reproductive success was high in both species studied, compared to other representatives of the genus. In *M. excavata*, individuals located near forest edges exhibited low fruit set rates (5–42%), whereas those situated within the forest interior showed significantly higher rates (32–85%). This represents the first detailed reproductive biology study of *Malaxis* in the Neotropics. Results reveal that both species share a similar group of pollinators and rely on them for reproduction. Preliminary findings suggest that deforestation-induced edge effects may negatively impact fruiting success, raising conservation concerns for *Malaxis* species in fragmented habitats.

Keywords: Neotropics, Southern Brazil, Peruvian Andes, fly pollination, Mycetophylidae

1. INTRODUÇÃO

1.1. Família Orchidaceae Juss.

Orchidaceae é umas das maiores famílias botânicas no mundo, com quase 29.500 espécies agrupadas em 2.575 gêneros e cinco subfamílias: Epidendroideae Lindl. ex Endl., Orchidoideae A.A. Eaton, Cypripedioideae Lindl. ex Endl., Vanilloideae Szlanch. e Apostasioideae Horan. (Chase *et al*., 2015). Apresenta uma distribuição cosmopolita, com exceção da Antártida, crescendo em quase todos os habitats terrestres, incluindo os desertos e grandes altitudes (Givnish *et al*., 2016; Trujillo & Delgado, 2011). No continente Americano, a família é a mais diversificada, sobrepassando numericamente as famílias Asteraceae e Fabaceae (Ulloa Ulloa *et al*., 2017). Para o Brasil são reportadas 2527 espécies (Ulloa Ulloa *et al*., 2017), das quais 440 estão presentes no estado do Rio Grande do Sul, sendo 30% destas de hábito terrestre (Souza & Waechter, 2006). Por outro lado, no Peru a família está representada por 2120 espécies (Ulloa Ulloa *et al*., 2017) dos quais aproximadamente 800 são endêmicas do país (Roque & León, 2006).

O surgimento da família ocorreu há 144 milhões de anos na Australásia, e a diversificação no Neotrópico aconteceu há 90 milhões de anos, provavelmente mediada através da Antártida. Aparentemente os ancestrais das orquídeas Vanilloideae, Cypripediodeae, Orchidoideae e Epidendroideae se originaram no Neotrópico entre 84 e 64 milhões de anos (Givnish *et al*., 2016). As características evolutivas associadas à rápida diversificação das orquídeas estão relacionadas principalmente com a evolução das polínias, o hábito epífito, a fotossíntese tipo CAM, a colonização das cordilheiras tropicais, como os Andes e Nova Guiné, e as estratégias de polinização (Givnish *et al*., 2015).

Os caracteres diferenciais das orquídeas são principalmente suas sementes pequenas e produzidas em grande quantidade (Eriksson & Kainulainen, 2011); a simbiose com fungos micorrízicos (Rasmussen & Rasmussen, 2014); a sua morfologia floral que tem muita relevância com processos de polinização (Zhang *et al*., 2017) e a presença de coluna, estrutura que decorre da fusão do androceu e gineceu (Chase, 2005).

1.2. A subtribo Malaxidinae e sua polinização

A subtribo Malaxidinae, pertencente a tribo Malaxideae Lindl., pertence a subfamília Epidendroideae, e é composta de 1.250 espécies em 14 gêneros, presentes em áreas tropicais e temperadas com uma distribuição disjunta em mais de um continente, como os géneros *Malaxis* Sol. ex Sw. e *Liparis* Rich. (Cameron, 2005; Zeng *et al*., 2024). Uma das principais características da tribo é o fato de possuir polínias sem as estruturas acessórias que normalmente ocorrem em outras Epidendroideae ("naked pollinia") (Dressler, 1981; Cameron, 2005). Pouco se conhece sobre a biologia reprodutiva dentro da tribo, sendo sugerido como um dos grupos taxonômicos dentro das orquídeas com uma relação importante com os Díptera como possíveis polinizadores (Ackerman *et al*., 2023).

1.3. O gênero *Malaxis* e sua polinização.

O gênero *Malaxis* possui quase 300 espécies com uma distribuição Pantropical (Chinchilla *et al*., 2022; Jermakowicz *et al*., 2022). A maioria das espécies está distribuída nas regiões Tropicais, reduzindo-se nas regiões Temperadas (Cameron, 2005). O gênero é predominantemente de hábito terrestre dentro da tribo Malaxidae conjuntamente com o gênero-irmão *Liparis*. Para o Brasil são reportadas 10 espécies, das quais seis estão presentes no estado do Rio Grande do Sul (Barros, 1996; Souza & Waechter, 2006). No Peru a diversidade é menor, com oito espécies reportadas, dos quais duas são endêmicas do país (Ulloa Ulloa *et al*., 2017).

Estudos recentes sobre as fragrâncias emitidas pelas flores de *Malaxis monophyllos* revelaram altas proporções de compostos alifáticos (~70–80%), especialmente alcanos, álcoois e aldeídos (Jermakowicz *et al*., 2022). A elevada concentração de álcoois e aldeídos na fragrância de *M. monophyllos* pode estar fortemente associada à atração de dípteros, uma vez que esse grupo de insetos é altamente sensível a compostos alifáticos desse tipo (Wong *et al*., 2017). Outro estudo voltado à caracterização dos compostos voláteis das fragrâncias foi realizado com *M. rzedowskiana*, a qual, ao contrário da maioria das espécies do gênero que apresentam fragrâncias desagradáveis, é reconhecida por emitir fragrâncias com notas de violeta. Essa característica pode estar relacionada à presença de β–ionona, composto encontrado também nas fragrâncias de espécies do gênero *Viola* spp. (Kite & Salazar, 2008).

Em conjunto com os atrativos visuais, a atração química parece desempenhar um papel fundamental no gênero *Malaxis*, uma vez que a maioria das espécies apresenta flores muito pequenas, pouco vistosas e, possivelmente, sem recompensas florais (Jermakowicz *et al*., 2022). Um exemplo disso é *M. massonii*, espécie que não oferece recompensas florais e na qual se hipotetiza o engano como mecanismo de polinização (Aragón & Ackerman, 2001). No entanto, até a atualidade não existe nenhum estudo detalhado do processo de polinização no campo, com observações dos visitantes florais em *M. monophyllos* onde díptera de diversas famílias visitam as flores (Jermakowicz *et al*., 2022).

1.4. Espécies alvo do estudo

As duas espécies analisadas neste estudo são nativas e de hábito terrestre. *Malaxis parthoni* apresenta distribuição que se estende do México até a Argentina (Figura 1), incluindo o Brasil (Ulloa Ulloa *et al*., 2017; POWO, 2025). A localidade-tipo e a data de coleta dessa espécie são desconhecidas, tendo sido descrita a partir de um exemplar que floresceu sob condições de cultivo no Jardim Botânico de Bruxelas (Smidth & Santos, 2025). No Brasil, a espécie ocorre nos estados do Ceará, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Smidth & Santos, 2025).

Malaxis excavata apresenta distribuição que se estende do México ao noroeste da Argentina (Figura 1), incluindo o Peru, onde foi registrada em estudos recentes (Ulloa Ulloa *et al*., 2025; POWO, 2025). A localidade-tipo exata dessa espécie não é conhecida, mas sabe-se que o material original foi coletado no México. No Brasil, a espécie está presente nos estados da Bahia, Pernambuco, Distrito Federal, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Smidth & Santos, 2025). Ambas espécies estão restritas as florestas.

Apesar da ampla distribuição das duas espécies no Neotrópico, poucos esforços têm sido direcionados à compreensão da sua biologia reprodutiva. Essa carência de informações limita o conhecimento sobre os mecanismos ecológicos que sustentam suas populações naturais. A biologia reprodutiva constitui um componente essencial para a elaboração de diagnósticos sobre o estado de conservação das espécies e para o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo e preservação, especialmente em

contextos de crescente pressão antrópica e fragmentação de habitats.

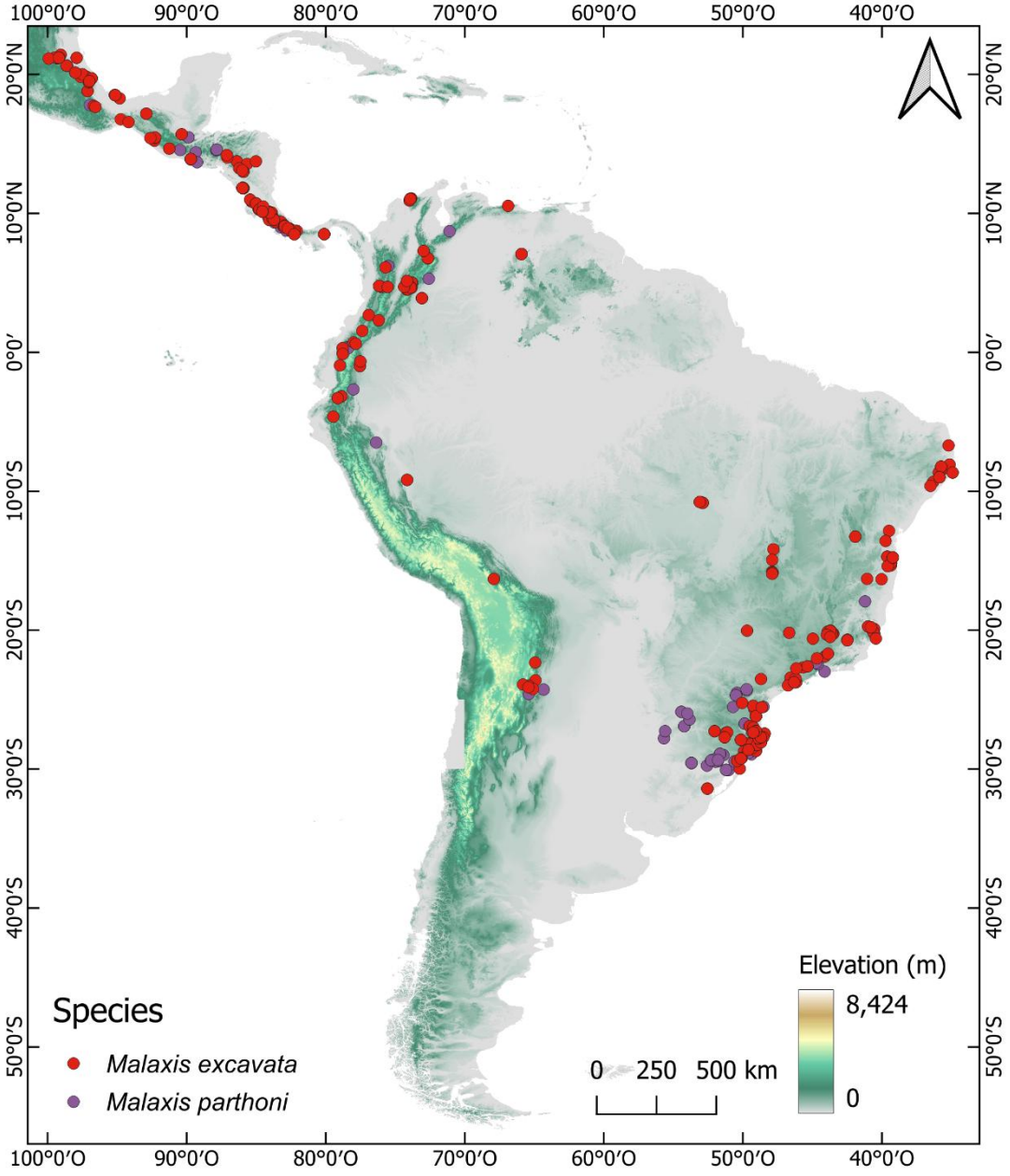


Figura 1. Mapa de distribuição de *Malaxis parthoni* e *Malaxis excavata* baseado nos registros de GBif.

1.5.Objetivos

Objetivo geral:

O presente trabalho tem como objetivo geral de estudar, registrar e descrever a biologia reprodutiva e o processo de polinização das espécies *M. parthoni* e *M. excavata*. A primeira espécie é nativa do Bioma Mata Atlântica e a segunda dos Andes do Peru. Busca-se, ainda, identificar os agentes polinizadores por meio de registros fotográficos e vídeos, a fim de caracterizar com o máximo de detalhamento possível a etologia dos visitantes florais e as estratégias envolvidas na polinização dessas espécies.

Como objetivos específicos, pretende-se responder as seguintes questões:

1. As duas espécies de orquídeas são dependentes de polinizadores para a formação de frutos e sementes?
2. Se sejam dependentes de polinizadores, as espécies são auto-compatíveis, ou seja, capazes de formar frutos e sementes com o próprio pólen?
3. Quais animais atuam como polinizadores e qual é seu comportamento durante a interação com cada uma das duas espécies?
4. De que forma a interação entre o comportamento dos polinizadores e o sistema reprodutivo das espécies influencia o sucesso de frutificação?

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo fornecem contribuições relevantes para o conhecimento da biologia reprodutiva de *Malaxis parthoni*, uma espécie nativa da Mata Atlântica estudada no sul do Brasil, e de *M. excavata*, uma espécie nativa dos Andes do Peru. Ambas as espécies apresentam características florais semelhantes, oferecendo néctar como recurso floral e emitindo fragrâncias para atrair seus polinizadores. A presença de néctar já havia sido prevista para outras espécies do gênero com base em observações de campo, embora haja registros de espécies que não produzem esse recurso (Aragon & Ackerman, 2001). Além disso, diferentes tipos de fragrâncias, incluindo odores desagradáveis, foram relatados em outras espécies do gênero (Kite & Salazar, 2008). Em *M. parthoni*, a fragrância floral lembrava matéria orgânica em decomposição, enquanto em *M. excavata* o odor era mais acre, assemelhando-se ao de urina. A longevidade das flores variou de 8 a 21 dias em *M. parthoni* e de 14 a 17 dias em *M. excavata*, sendo compatível com dados registrados para outras espécies da subtribo Malaxidinae (Nuammee, 2018). Ambas as espécies mostraram-se dependentes de polinizadores e autoincompatíveis, necessitando de polinização cruzada efetiva para a formação de frutos e sementes viáveis. Neste estudo, apenas mosquitos do gênero *Mycomya* (Mycetophilidae) foram identificados como polinizadores legítimos. Embora a polinização mediada por esse grupo já tivesse sido sugerida por outros autores, esta é a primeira confirmação empírica desse tipo de interação para as espécies analisadas (Argue, 2014). Com base no sistema reprodutivo observado, foram determinados altos índices de frutificação para ambas as espécies em comparação com outras espécies do gênero (Aragon & Ackerman, 2001). Este maior sucesso pode estar relacionado ao comportamento dos polinizadores. O habitat de *M. excavata* encontra-se fragmentado devido à deflorestação, o que levou à análise do efeito de borda sobre a eficiência da polinização, sucesso reprodutivo e produção floral. Os resultados indicaram que, embora a produção de flores não tenha sido afetada pela posição na borda do fragmento, indivíduos localizados nessa condição apresentaram menor efetividade na polinização e no sucesso de frutificação. Dessa forma, este estudo destaca a importância de ampliar os esforços em pesquisas ecológicas voltadas para orquídeas crípticas e seus polinizadores, sobretudo em ambientes sujeitos à fragmentação e outras pressões antrópicas,

considerando sua relevância para estratégias de conservação baseadas em dados reprodutivos e interações ecológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, J. D. *et al.* Beyond the various contrivances by which orchids are pollinated: global patterns in orchid pollination biology. *Botanical Journal of the Linnean Society* v. 202, n. 3, 295-324. 2023.

ARAGON, S.; ACKERMAN, J. D. Density effects on the reproductive success and herbivory of *Malaxis massonii*. *Lindleyana* v. 16, n. 1, 3-12. 2021.

ARGUE, C. L. The pollination biology of *Malaxis paludosa* (L.) Swartz (bog adder's-mouth) (=*Hammarbya paludosa* (L.) Kuntze). *The Native Orchid Conference Journal,* v. 11(2), 1-7. 2014.

BARROS, F. D. Notas taxonômicas para espécies brasileiras dos gêneros *Epidendrum*, *Platystele*, *Pleurothallis* e *Scaphyglottis* (Orchidaceae). *Acta Botanica Brasilica*, v. 10, 139-151. 1996.

CAMERON, K. M. Leave it to the leaves: A molecular phylogenetic study of Malaxideae (Epidendroideae, Orchidaceae). *American Journal of Botany*. v. 92, n. 6, 1025–1032. 2005.

CHASE, M. W. Classification of Orchidaceae in the age of DNA data. *Curtie's Botanical Magazine*. v. 22, n. 1, 1-8. 2005.

CHASE, M. W. *et al*. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. v. 177, 151–174. 2015.

CHINCHILLA, I. F.; KARREMANS, A. P.; BLANCO, M. A. A new species and a new record of *Malaxis* (Malaxidinae) from Costa Rica. *Lankesteriana*. v. 22, n. 1, 37–51. 2022.

DRESSLER, R. L. *The Orchids Natural History and Classification*. Harvard University Press. 1981

ERIKSSON, O.; KAINULAINEN, K. The evolutionary ecology of dust seeds. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. v. 13, n. 2, 73–87. 2011.

GIVNISH, T. J. *et al.* Orchid historical biogeography, diversification, Antarctica, and the paradox of orchid dispersal. *Journal of Biogeography*. v. *43*, n. 10, 1905–1916. 2016.

GIVNISH, T. J. *et al*. Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*. v. 282, n. 1814, 20151553. 2015.

JERMAKOWICZ, E. *et al.* The Floral Signals of the Inconspicuous Orchid *Malaxis monophyllos*: How to Lure Small Pollinators in an Abundant Environment. *Biology*. v. 11, n. 5, 640. 2022.

KITE, G. C.; SALAZAR, G. A. Chemical composition of the inflorescence odor of *Malaxis rzedowskiana* (Orchidaceae). *Revista mexicana de biodiversidad.* v. 79, n. 1, 153-157.

POWO. *Plants of the World Online*. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew, 2025. Disponível em: https://powo.science.kew.org/. Acesso em: 9 jun. 2025.

RASMUSSEN, H. N.; RASMUSSEN, F. N. Seedling mycorrhiza: a discussion of origin and evolution in Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. v. 175, n. 3, 313-327. 2014.

ROQUE, J. E.; LEÓN, B. Orchidaceae endémicas del Perú. *Revista peruana de biología* v. 13, n. 2, 759-878. 2006.

SMIDT, E. C.; SANTOS, T. F. *Malaxis*. In *Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2025. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB11816 Acesso em: 9 jun. 2025.

SOUZA, F.; WAECHTER, J. L. Sinopse das Orchidaceae terrestres ocorrentes no litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Botanica Brasilica.* v. 20, n. 1, 71–86. 2006

TRUJILLO, D.; DELGADO, A. *Aa* from Lomas formations. A new Orchidaceae record from the desert coast of Peru. *Lankesteriana*. v. 11, n. 1. 2011.

ULLOA ULLOA, C. *et al*. An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. *Science*. v. 358, 1614–1617. 2017.

WONG, D. C.; PICHERSKY, E.; PEAKALL, R. The biosynthesis of unusual floral volatiles and blends involved in orchid pollination by deception: current progress and future prospects. *Frontiers in Plant Science*. v. 8, 1955. 2017.

ZENG, M. Y. *et* al. Comparative Phylogenomic Study of Malaxidinae (Orchidaceae) Sheds Light on Plastome Evolution and Gene Divergence. *International Journal of Molecular Sciences*. v. *25*, n. 20, 11181. 2024

ZHANG, G. Q. *et al*. The *Apostasia* genome and the evolution of orchids. *Nature*, v. *549*, 379-383. 2017.