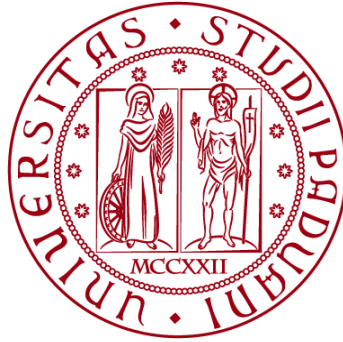


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Scienze Naturali



ELABORATO DI LAUREA

Protocarnivoria nelle Piante Carnivore a Calice

**Tutor: Prof.ssa Barbara Baldan
Dipartimento di Biologia**

Laureando: Paolo Elementi

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE	pag.2
INTRODUZIONE	pag.3
Piante carnivore	pag.3
Piante carnivore a calice	pag.3
Protocarnivoria	pag.4
DISCUSSIONE	pag.5
Origine della protocarnivoria	pag.5
Specie interessate	pag.6
BIBLIOGRAFIA	pag.10

INTRODUZIONE

PIANTE CARNIVORE

Circa 500 specie di piante vascolari intrappolano e digeriscono altri organismi allo scopo di acquisire nutrienti inorganici addizionali. La ritenzione degli organismi può avvenire mediante vari meccanismi tra cui trappole adesive, trappole a scatto mobili, calici, vescicole a suzione o altri. L'organismo intrappolato di solito muore in un breve periodo di tempo per annegamento o mancanza di O₂ (Adlassnig et al., 2010). I suoi resti vengono poi dissolti dagli enzimi digestivi prodotti o dalla pianta stessa (pianta carnivora *sensu stricto*) o da organismi mutualistici (piante protocarnivore). L'epidermide della trappola presenta delle ghiandole o una cuticola porosa dove i nutrienti disciolti vengono assorbiti. Lo scopo della cattura di prede è l'acquisizione di nutrienti inorganici, specialmente N e P; l'assorbimento di composti organici è trascurabile nella maggioranza delle specie. Le piante carnivore sono capaci colonizzare habitat con suoli molto oligotropici, sono però ristrette a nicchie ecologiche molto specifiche. Il guadagno netto della carnivoria sembrerebbe quindi marginale (Adlassnig et al., 2010).

PIANTE CARNIVORE A CALICE

Le piante carnivore a calice (C.P.P.) sfruttano foglie dalla forma conica riempite di fluido per intrappolare e digerire diversi animali, assorbendo i loro componenti solubili. Le C.P.P. si sono sviluppate indipendentemente ben cinque volte in aree geografiche separate. Ciò nonostante, le trappole sono considerevolmente simili in tutte le specie. La cattura avviene per gravità: la preda cade nella foglia cava e non è più capace di arrampicarsi per uscire. Una tipica trappola a calice consiste di quattro zone come evidente in figura 1. (A) La parte più alta è composta da un'appendice che trasporta ghiandole secernenti nettare e composti volatili. Questa appendice può anche formare un cappuccio per proteggere l'interno dalle precipitazioni. (B) Il bordo del calice (o peristomio), anch'esso a volte dotato di ghiandole. Una superficie scivolosa e bagnabile, o dei peli rivolti verso l'interno, facilitano la perdita di equilibrio e la caduta dell'animale nella trappola. (C) La parte superiore del calice serve a trattenere la preda. La sua superficie interna è coperta di peli rivolti verso il basso o cristalli cerosi laschi, che rendono la risalita impossibile. (D) La parte inferiore presenta una cuticola permeabile e assorbe i nutrienti disciolti. Le ghiandole per la produzione di enzimi sono anch'esse in questa zona. (E) La parte più bassa è riempita del fluido del calice. (F) L'esterno della trappola si presenta spesso come ruvido, peloso e dotato di creste longitudinali. Così da facilitare l'accesso alla trappola (Adlassnig et al., 2010).

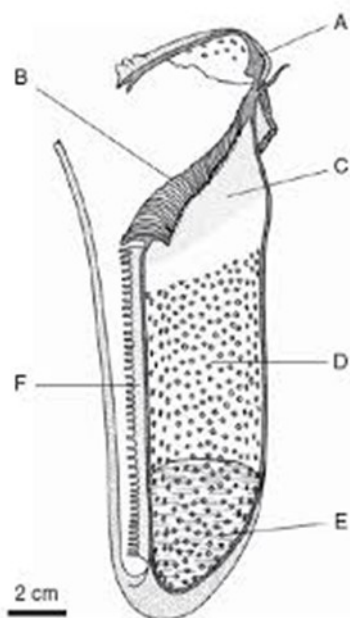


FIG.1 Rappresentazione grafica di una foglia di una pianta C.P.P. Da Adlassnig et al, 2010) www.ncbi.nlm.nih.gov. Per la descrizione si rimanda al testo.

Le trappole delle C.P.P. rientrano nella categoria dei fitotelmi, ossia dei corpi d'acqua contenuti in una pianta terrestre vivente (Adlassnig et al., 2010). Essi sono esclusivi dei climi umidi, poiché nessuna specie è in grado di compensare per la continua evaporazione. Come il substrato di uno specchio d'acqua influenza la composizione dello stesso, così il fitotelma è influenzato dal tessuto della pianta circostante. Le C.P.P. sono l'esempio con la maggior influenza sul proprio fitotelma, infatti il liquido della trappola differisce enormemente a seconda della sua origine, pH e capacità digestive. Alcuni fluidi possono contenere sostanze come narcotici, antibiotici o detergenti. Lo scopo principale del fluido è quello di massimizzare la ritenzione delle prede e, in genere, ad una diminuzione della quantità di fluido corrisponde una riduzione dell'efficacia della trappola; negativo è però anche l'eccesso di fluido, che può portare alla dispersione di prede e nutrienti. Il fluido è prodotto dalla pianta stessa o mediante la raccolta di acqua piovana. Il processo con cui le piante secernono fluido è chiamato guttazione. L'acqua viene trasferita dallo xilema al parenchima ed infine rilasciata attraverso pori o ghiandole (idratodi). Nelle trappole specializzate per l'acqua piovana, si riscontra un'ottimizzazione nella riduzione della traspirazione e una massimizzazione nella raccolta delle precipitazioni. Persino il congelamento notturno è più lento e graduale per il fluido di queste trappole, rispetto a quanto accadrebbe normalmente (Adlassnig et al., 2010)

PROTOCARNIVORIA

Nessuna specie di C.P.P. è in grado di uccidere ogni singolo organismo che entra nelle trappole. Alcuni organismi, dai batteri ai vertebrati, riescono a sopravvivere e a propagarsi nelle trappole (Adlassnig et al., 2010). I fitotelmi, del resto, presentano quasi sempre organismi che abitano al loro interno, i cosiddetti inquilini. Gli inquilini interagiscono

strettamente con il loro ospite. Alcuni vivono come parassiti, ma la maggior parte sono mutualisti. Le attività a beneficio della pianta includono la secrezione di enzimi, il cibarsi delle prede e la successiva secrezione di nutrienti inorganici, la scomposizione meccanica della preda, la rimozione di prede in eccesso e l'assimilazione di N_2 atmosferico (Adlassnig et al., 2010). Tra queste interazioni, una particolarmente degna di nota è quella relativa alla digestione delle prede. Non tutte le piante delle C.P.P. possono infatti produrre enzimi digestivi, affidandosi invece ai propri inquilini. Dopotutto il fine ultimo della carnivoria nella pianta è l'acquisizione di nutrienti inorganici, poco importa da dove; ergo, la degradazione e l'ossidazione delle macromolecole derivanti dalle prede da parte degli inquilini ne aumenta la disponibilità, invece che ridurla. Questo outsourcing ecologico ha portato alla formazione di piante carnivore dotate di meccanismi di digestione indiretti e basati su organismi mutualisti, dette quindi protocarnivore (Schöner et al., 2017). In particolare, tre esempi sono di spicco: formiche, scandenti e pipistrelli.

DISCUSSIONE

ORIGINE DELLA PROTOCARNIVORIA

Il mutualismo è ubiquitario in natura e può essere facoltativo o obbligatorio, nel caso la specie coinvolta si basi completamente sui servizi offerti da un'altra. Questi servizi includono la dispersione dei gameti tra i sessi dell'organismo partner nei mutualismi di trasporto o l'acquisizione ed il processamento dei nutrienti nei mutualismi digestivi. Il livello di dipendenza mutualistica può variare in risposta ad una vasta gamma di fattori ecologici ed ambientali (Schöner et al., 2017). Specie fortemente dipendenti tra loro possono essere soggette a forti pressioni selettive che le spingono a modificare la propria fisiologia ed il proprio comportamento. Pertanto una caratteristica prominente del mutualismo è l'evoluzione di tratti morfologici e/o fisiologici specializzati negli organismi coinvolti. Tuttavia, l'adattamento al mutualismo può anche comportare la perdita di alcuni tratti, in particolare quando una specie "trasferisce" una o più delle sue funzioni biologiche chiave al suo partner. Allo stesso modo, se il mutualismo ha avuto luogo nei primi periodi della storia evolutiva di una specie, il trasferimento può aver portato al mancato sviluppo di alcuni tratti. In analogia con il mondo economico, viene introdotto il termine "ecological outsourcing", definito come il trasferimento di funzioni biologiche ad un partner mutualistico che può ottenere un beneficio maggiore rispetto al singolo organismo originario (Schöner et al., 2017). Nonostante le relazioni mutualistiche siano tanto importanti quanto ubiquitarie, "l'evoluzione ed il mantenimento del mutualismo rimane un mistero tuttora incompleto". Esistono chiare prove che il mutualismo si è ripetutamente evoluto ed è parimenti scomparso, fluttuando dall'autonomia al mutualismo e viceversa. Studi recenti hanno però dimostrato che i rapporti mutualistici non sono così instabili come si era pensato. Le ricerche empiriche sulla stabilizzazione dei mutualismi sono rare, e generalmente concentrate su mutualisti obbligati (Schöner et al., 2017). Un ambiente instabile e soggetto a possibili cambiamenti come il fitotelma di una C.P.P. offre molte possibili casistiche di studio.

SPECIE INTERESSATE

Formiche

Molte piante combattono gli attacchi da parte di erbivori e patogeni in maniera indiretta, attirando i predatori dei loro erbivori. Le relazioni tra formiche e piante sono particolarmente diffuse, vista l'abbondanza delle prime ed i benefici ricevuti da entrambi i mutualisti. Le formiche possono allontanare erbivori o piante parassite, e vengono spesso attratte da offerte di cibo da parte della pianta. Le piante-formica (mirmecofite) tropicali possono addirittura offrire delle cavità specializzate (*domatia*) come nido per le formiche, assicurandosi così che non lascino la pianta.

Le piante carnivore sono però un'eccezione a questo apparente pattern di armonia, spesso uccidendo ed impiegando le formiche come fertilizzante. Ciononostante, un particolare tipo di interazione pianta-formica si è venuto a formare nelle paludi di torba del Borneo, il quale sembra unire le apparentemente inconciliabili attività della carnivoria e del mirmecofitismo.

In questo esempio, una pianta carnivora instaura un mutualismo di tipo nutritivo utilizzando un simile metodo di difesa per ridurre la perdita di nutrienti dovuta all'attività dei kleptoparassiti. Nell'esempio specifico, le specie interessate sono la formica *Camponotus schmitzi* e la pianta carnivora a calice *N. bicalcarata* che intrappola e digerisce quasi ogni insetto, specialmente se formiche, eppure ospita allo stesso tempo un partner obbligato, la formica *Camponotus schmitzi* (Scharmann et al., 2013).

Come altre *Nepenthes*, la pianta è una perenne tropicale che attua un cambiamento ontogenetico nel metodo di crescita, iniziando come rosetta, dotata di calici "bassi" o "terrestri", e poi sviluppandosi in una liana avente calici "alti" o "aerei".

C. schmitzi vive esclusivamente su *N. bicalcarata*, allevando le proprie larve in camere apposite. Sono inoltre capaci di ricavare risorse dai calici senza pericoli, grazie alla loro capacità di camminare sui suoi bordi scivolosi o nuotare ed immergersi nei fluidi digestivi. Questo permette alle formiche di recuperare e consumare le prede della pianta, oltre ad acquisire il nettare extraflorale.

Considerato che le *Nepenthes* tendono a crescere più lentamente se private delle proprie prede, le formiche potrebbero essere viste come in competizione e quindi parassitiche. Al contrario però gli adattamenti dei calici interessati sono unici, nel genere, e volti al mutualismo. Il paradosso sembra quindi relativo ai possibili vantaggi per la pianta nel mantenere un partner così apparentemente negativo, ma anche al motivo perchè le formiche non abbiano scelto una pianta dalla crescita più rapida capace di offrire più ricompense.

Secondo diversi studi, la presenza delle formiche migliora la nutrizione, ma non aumenta la disponibilità di azoto per le *Nepenthes*. Ciò non avviene tramite la diretta attività delle formiche, come sarebbe per un normale caso di mirmecotrofia, ma tramite le loro interazioni con la microfauna che vive nel fitotelma del calice. Il contributo di *C. schmitzi* si manifesta in un aumento della formazione dei calici, in un incremento dell'efficienza di cattura ed infine in una riduzione della perdita di prede dovuta all'attività dei kleptoparassiti; al loro ruolo trofico di predatori si aggiunge una redistribuzione delle risorse di predazione nello spazio e nel tempo.

Si può quindi concludere che questa interazione si sia evoluta in risposta alla pressione selettiva imposta dai kleptoparassiti, molto comune nelle piante carnivore, e che sia paragonabile al processo di difesa contro erbivori e parassiti impiegato dalle piante non carnivore (Scharmann et al., 2013).



Fig.2 Associazione tra *N. bicalcarata* e *C. schmitzi* all'interno dei calici della pianta (Scharmann et al., 2013) journals.plos.org

Scandenti

Sebbene le *Nepenthes* siano piante carnivore che intrappolano prede di origine artropode, soprattutto formiche, gli habitat tropicali montani sono privi di una concentrazione sufficiente delle suddette; il che limita i potenziali benefici della carnivoria. In risposta *Nepenthes lowii*, una specie montana del Borneo, produce due tipi di calici che differiscono grandemente in forma e funzione.

Quelli prodotti da piante immature possiedono tutte le caratteristiche associate alla carnivoria del genere *Nepenthes*. Mentre quelli prodotti da esemplari maturi mancano di caratteristiche associate alla carnivoria, basandosi invece sulle visite di mammiferi dell'ordine scandentia (Clarke et al., 2009).

I calici modificati presentano un'elevata lignificazione ed il cappuccio è distanziato dall'imboccatura, anch'essa più larga del normale. Altre caratteristiche sono le superfici

interne che si presentano ruvide, senza cristalli di cera epicuticolari e non fortemente inclinate, mentre il bordo è stretto ed il peristomio ridotto ad una serie di piccole pieghe. La parte inferiore del coperchio del calice è coperta di setole grossolane e ghiandole nettariifere specializzate secernenti un essudato bianco e burroso (Clarke et al., 2009).

Molti di questi calici aerei sono stati ritrovati senza tracce di prede artropodi, ma con tracce di escrementi di vertebrati. Questi contenuti suggeriscono un'interazione con i vertebrati che si traduce in una riduzione dei tratti per la cattura degli artropodi. Successive osservazioni confermano che, mentre gli esemplari immaturi sono strettamente carnivori e non deviano dalla norma, il passaggio alla fase aerea induce il cambiamento dei tratti relativi alla raccolta di N.

Nell'interazione tipica, *Tupaia montana* salta sul calice aereo per cibarsi dell'essudato prodotto dalle ghiandole del coperchio, defeca all'interno e marca la superficie tramite i secreti delle ghiandole anali. Gli individui di *T. montana* mostrano un comportamento tipico della ricerca di cibo, spostandosi da un calice all'altro e marcandoli come risorse importanti. Essi infatti visitano giornalmente la stessa "sequenza" di calici (Clarke et al., 2009). Nonostante *T. montana* sia frugivoro, non è in grado di processare le parti fibrose del frutto e può solo estrarne e inghiottirne i succhi zuccherini. Si può osservare che le fonti di nettare sono scarse al di sopra dei 1800 metri nel Gunung Mulu, ma questo apparente deficit è compensato dalla *N. lowii*, la cui produzione di essudati è la più alta osservata finora tra le Nepenthacee (Clarke et al., 2009).

Il calice aereo di *N. lowii* è strutturato appositamente per facilitare sia l'approvvigionamento da parte del frequentatore che la defecazione nel suo interno. I viticci spessi ed i calici robusti permettono di supportare un animale della taglia di *T. montana* (circa 150 g) senza rompersi. Il peristomio altamente ridotto permette all'inquilino di aggrapparsi senza scivolare, mentre la forma della bocca e l'orientamento del coperchio impediscono di nutrirsi dai lati o dal retro, obbligando così l'animale a sedersi sull'imboccatura del calice e massimizzando le probabilità che il posteriore sia allineato con l'ingresso del calice.

In conclusione *N. lowii* può avere accesso ad una maggiore quantità di N rispetto ad altre piante della stessa area, come *N. muluensis*, grazie ad una fonte primaria peculiare e ad esse non disponibile. Una possibile spiegazione per lo sviluppo di questa strategia è la pressione evolutiva a cui le Nepenthes montane sono soggette, e che è assente negli habitat di bassa quota: la scarsità di formiche come potenziali prede. Alcuni autori proposero un modello costi-benefici per la carnivoria nelle piante, affermando che essa presenta i maggiori benefici per piante in habitat assolati, umidi e scarsi in nutrienti, come le paludi acide o i picchi montani tropicali. Negli habitat favorevoli alla carnivoria, l'assenza di potenziali prede rappresenta una limitazione ai benefici della stessa. *Nepenthes lowii* ha risposto a questo problema focalizzandosi su una fonte di N alternativa una volta sviluppati i calici aerei (Clarke et al., 2009).

L'associazione tra *N. lowii* e *T. montana* sembra essere mutualistica, basata su uno scambio di risorse nutrizionali altrimenti scarse. L'importanza dell'interazione per ciascuna specie è però tuttora sconosciuta, ma l'areale geografico di *N. lowii* ricade interamente in quello di *T. montana*. L'interazione fornisce il 57-100% del N fogliare della pianta matura, il che potrebbe renderla di considerevole valore per la pianta. Tuttavia *T. montana* ha un'ampia distribuzione geografica nel nord-ovest del Borneo e anche in siti dove *N. lowii* è assente, quindi alcune popolazioni non interagiscono con *N. lowii*.

Questi risultati si aggiungono alla crescente mole di dati che dimostrano come Nepenthes sia in grado di sfruttare una gamma di fonti di N, includendo artropodi, detrito fogliare e feci di vertebrati (Clarke et al., 2009).

Pipistrelli

Nelle interazioni mutualistiche è imperativo stabilire un contatto con la specie partner. Le piante si mettono spesso in mostra con segnali volti a stuzzicare specificatamente le preferenze sensoriali dei loro partner. Per esempio, molte piante hanno sviluppato tratti quali fiori fragranti e molto colorati, che attirano gli impollinatori con stimoli visivi, olfattivi e, nel caso delle poche piante impollinate dai pipistrelli, anche mediante strutture eco-riflettenti con stimoli acustici. Tuttavia, l'attrazione acustica è rara se paragonata alle altre e non è mai stata ritrovata al di fuori del contesto dell'impollinazione, e comunque solo nei Neotropici. Possiamo ugualmente ipotizzare che il fenomeno sia molto più diffuso e diversificato, considerato che esistono interazioni pianta-pipistrello che avvengono anche nei Paleotropici. Nel Borneo, un pipistrello mutualista fertilizza una pianta carnivora a calice mentre fa il nido nelle sue trappole. Le trappole in questione presentano un orifizio con una prolungata struttura concava capace di riflettere le chiamate di ecolocazione dei pipistrelli da diverse angolazioni. Questa struttura servirebbe a facilitare la localizzazione e l'identificazione della trappola anche in un ambiente altamente ostruito. Calici senza la suddetta struttura risultano meno attraenti per i pipistrelli. Altri esperimenti sui calici rivelano che la struttura è effettivamente capace di funzionare come un riflettore multidirezionale di ultrasuoni. Nei test comportamentali in cui venivano presentati ai pipistrelli calici con modifiche differenti, la presenza del riflettore facilitava chiaramente la localizzazione e l'identificazione dei calici. Questi risultati suggeriscono che le piante, in un'istanza di convergenza evolutiva, abbiano acquisito riflettori sia nei Paleotropici che nei Neotropici per attrarre acusticamente i pipistrelli, anche se per ragioni ecologiche completamente differenti (Schöner et al., 2015).

L'evoluzione ed il mantenimento dei mutualismi non sono ancora sufficientemente conosciuti. In particolare, se i partner si separano regolarmente è necessario un meccanismo specie-specifico perchè si ritrovino. Questo è vero per la pianta carnivora a calice *Nepenthes hemsleyana*, che è stata coinvolta in una relazione mutualistica con il pipistrello insettivoro *Kerivoula hardwickii*. Il pipistrello fertilizza la pianta con le sue feci mentre nidifica nei calici. Gli espulsi del pipistrello aumentano l'assunzione di azoto della *N.hemsleyana* di mediamente il 34%. In cambio, la pianta offre ai pipistrelli nidi privi di parassiti, con un microclima stabile e abbastanza spazio per uno o due pipistrelli senza però il rischio di cadere nel fluido digestivo, grazie alla forma particolare e al basso livello dello stesso. Trovare ed identificare i calici di *N.hemsleyana* che crescono nelle dense foreste torbiere del Borneo è però un'ardua sfida per i pipistrelli: devono infatti distinguere i segnali sonori dei calici da quelli dei dintorni ingombrati. In aggiunta, i pipistrelli devono distinguere tra la rara *N.hemsleyana* e le più comuni specie di *Nepenthes* simpatiche, i cui calici sono molto simili ma inadatti alla nidificazione.

Nei Neotropici le piante impollinate dai pipistrelli hanno trovato un metodo efficiente per attrarre i loro impollinatori, sfruttandone l'ecolocalizzazione mediante lo sviluppo di riflettori ultrasonici florali. Simili riflettori non sono però mai stati descritti al di fuori dei Neotropici, probabilmente perchè nei Paleotropici, le piante chiropterofile sono impollinate da pipistrelli fruttivori non avvezzi all'uso dell'ecolocalizzazione per nutrirsi. Diversi studi dimostrano che *N.hemsleyana* non è solo in grado di farsi facilmente trovare da *K.hardwickii*, ma che la zona di maggior riflessione acustica è la stessa da cui i pipistrelli sono soliti approssimare la trappola, oltre ad avere un pattern di spettro specie-specifico. Dal lato dei pipistrelli, le specie del genere *Kerivoula* possiedono chiamate brevi, ad alta frequenza e che coprono un'ampia banda, la cui frequenza aumenta quando si avvicinano ad un oggetto. Queste chiamate, tra le più forti mai registrate nei pipistrelli ed altamente direzionabili, sono ideali per localizzare e classificare bersagli in un ambiente ingombrato, includendo le trappole seminasconde nella vegetazione.

Curiosamente, anche altre interazioni acustiche pianta-pipistrello interessano esemplari con chiamate simili. Come ipotizzato *N.hemsleyana* presenta molti adattamenti simili a quelli presenti nei Neotropici ma sviluppati in maniera indipendente e per motivi completamente differenti (Schöner et al., 2015).

BIBLIOGRAFIA

Adlassnig W, Peroutka M, Lendl T (2010). Traps of carnivorous pitcher plants as a habitat: composition of the fluid, biodiversity and mutualistic activities. *Ann Bot.* 2011 Feb; 107(2): 181–194. doi: 10.1093/aob/mcq238

Clarke CM, Bauer U, Lee CC, Tuen AA, Rembold K, Moran JA (2009). Tree shrew lavatories: a novel nitrogen sequestration strategy in a tropical pitcher plant. *Biol Lett.* 5(5):632-5. doi: 10.1098/rsbl.2009.0311.

Scharmann M , Thornham DG, Grafe TU, Federle W(2013)
A Novel Type of Nutritional Ant–Plant Interaction: Ant Partners of Carnivorous Pitcher Plants Prevent Nutrient Export by Dipteran Pitcher Infauna. *PLOS One*
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063556>

Schöner, M.G., Schöner, C.R., Ermisch, R., Puechmaille, S.J., Grafe, T.U., Tan, M.C. & Kerth, G. (2017): Stabilization of a bat-pitcher plant mutualism. *Scientific Reports* 7: 13170.

Schöner G, Schöner CR, Simon R, Grafe TU, Puechmaille SJ, Ji LL, Kerth G (2015). Bats are acoustically attracted to mutualistic carnivorous plants. *Current Biology* 25, 1911–1916 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2015.05.054>

Schöner CR, Schöner MG, Grafe TU, Clarke CM, Dombrowski L, Tan MC, Kerth G (2017). Ecological outsourcing: a pitcher plant benefits from transferring pre-digestion of prey to a bat mutualist. *Journal of Ecology*, 105: 400-411. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12653>