

unesp

CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

Mutualismo digestivo entre aranhas, cupins e a planta protocarnívora *Paepalanthus bromelioides* (Eriocaulaceae)

ALINE HIROKO NISHI

Sistemática
Evolução

MESTRADO



PÓS GRADUAÇÃO
EM BIOLOGIA ANIMAL

Biologia
Estrutural

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

ALINE HIROKO NISHI

**MUTUALISMO DIGESTIVO ENTRE ARANHAS,
CUPINS E A PLANTA PROTOCARNÍVORA
PAEPALANTHUS BROMELIOIDES
(ERIOCAULACEAE)**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE
EM BIOLOGIA ANIMAL, ÁREA DE
ECOLOGIA E COMPORTAMENTO DO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, LETRAS
E CIÊNCIAS EXATAS DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL
PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”, CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO
PRETO

ORIENTADOR: Dr. GUSTAVO QUEVEDO ROMERO

CO-ORIENTADOR: DR. JOÃO VASCONCELLOS-NETO

Nishi, Aline Hiroko.

Mutualismo digestivo entre aranhas, cupins e a planta protocarnívora
Paepalanthus bromelioides (Eriocaulaceae) / Aline Hiroko Nishi. - São
José do Rio Preto : [s.n.], 2011.
68 f.; 30 cm.

Orientador: Gustavo Quevedo Romero

Co-orientador: João Vasconcellos Neto

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biotecnologia, Letras e Ciências Exatas

1. Ecologia animal. 2. Mutualismo. 3. Interação animal-planta. 4.
Aracnídeo - Comportamento. I. Romero, Gustavo Quevedo. II.
Vasconcellos Neto, João. III. Universidade Estadual Paulista, Instituto
de Biotecnologia, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU – 591.5

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE

Campus de São José do Rio Preto - UNESP

Data da defesa: 31 de janeiro de 2011

BANCA EXAMINADORA

TITULARES:

DR. GUSTAVO QUEVEDO ROMERO (ORIENTADOR)

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – SP

PROF. DR. MARTIN FRANCISCO PAREJA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS – MG

PROF. DR. VINICIUS FORTES FARJALLA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – RJ

SUPLENTES:

DR. VITOR HUGO MENDONÇA DO PRADO

UNESP/Rio Claro – SP

DR. PETERSON RODRIGO DEMITE

UNESP/São José do Rio Preto – SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Eduardo e Alice que sempre estiveram ao meu lado com muito carinho.

Aos meus tios Ademar e Leico que mesmo não tendo a oportunidade de ver este trabalho concluído, procuraram me incentivar o quanto puderam.

Ao meu companheiro Leandro Padulla com todo o meu amor.

“I went to the woods because i wanted to live deliberately, I wanted to live deep and suck out all the marrow of life, to put to rout all that was not life and not, when i had come to die, discover that I had not lived.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito ao Gustavo, um grande mestre, que sempre me incentivou a crescer, a buscar algo melhor. Admiro-o muito.

Aos meus grandes amigos “irmãos” Kikulino (vulgo Adriano Magrelo) e Hilário, companheiros incansáveis de trabalho de campo e laboratório. Agradeço por compartilharem um momento da vida de vocês com o meu.

À Ana, que me apresentou ao professor Gustavo e que desde então participou de cada etapa do desenvolvimento de meu trabalho. Muito obrigada pelo companheirismo.

À Tânia e Maria Helena pela ajuda essencial em laboratório.

Ao chefe do Parque Nacional da Serra do Cipó Henry Collet, uma pessoa que sempre me recebeu com um sorriso no rosto. Dotada de muita serenidade e ética, me fez acreditar que ainda existe solução, só depende da nossa vontade. Juntamente com Edward, que sempre estava ao nosso lado, nos apoiando em qualquer necessidade. E ao professor João Vasconcellos-Neto por vme apresentar o campo rupestre.

Ao setor administrativo do PARNA Cipó por ter autorizado o desenvolvimento deste projeto. E a todos os funcionários do parque, analistas, guardas, pessoal da secretaria. Em especial, aos amigos queridos que fiz na Serra do Cipó. Claudinho, pessoa mais doce que já conheci e que faz uma feijoada deliciosa! Amilton, companheiro e amigo pra qualquer hora. Dani, uma bióloga fofa com muita garra e vontade de fazer sempre o melhor. Piolho e Pinguinho, dupla dinâmica que deixa saudade. E outros que embora não trabalhassem lá, lembro com muito carinho, Dani Fuhro, Thomaz, Kelly e sua turma, alunos do projeto Cipó Vivo e curiosos.

Aos amigos de laboratório e pós-graduação Cauê, Cabeça (Toyoyo), Zé Careca, Vivian, Pablito, Jaílson, Zezão, Fe (Felipe), Petérso, Fernanda, Dioguinho, Elizeu, Raquel, Moniquinha pelas horas divertidas de muito trabalho, acompanhadas de um cafezinho.

Às amigas de longa data Fanny, Gel, Fernanda e Renata, que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos.

Às amigas Rafaela, Susana, Paula, Melissa e Camila por todo o companheirismo. Sem vocês meus dias de estresse não seriam os mesmos! Claro que os dias de descontração também não!

Aos professores Lílian Casatti e Vitor Hugo que participaram da minha banca de qualificação e deram muitas sugestões e críticas proveitosas.

Agradeço principalmente a meus pais, Eduardo e Alice, por todo o esforço e dedicação SEMPRE. Ao meu irmão Alessandro apesar do excesso de preocupação. E ao meu noivo Leandro por cada momento de paciência e amizade. Sou muito feliz por tê-los comigo.

Este projeto foi financiado pela FAPESP (2008/56516-7).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
Fluxo de nutrientes de animais para plantas:	2
• Carnivoria e protocarnivoria	4
• Mutualismo digestivo entre animais e plantas	7
Sistema de Estudo	10
Objetivos e hipóteses	11
Literatura citada	20
2. CAPÍTULO I. Mutualismo digestivo entre aranhas, cupins e a planta protocarnívora <i>Paepalanthus bromelioides</i> (Eriocaulaceae)	28
Resumo	29
Introdução	31
Material e Métodos	35
Resultados	46
Discussão	48
Referências	54
3. SÍNTESE	67

1. INTRODUÇÃO GERAL

Fluxo de nutrientes de animais para plantas

Compartimentos ecológicos podem interagir entre si através do fluxo de nutrientes e energia (Anderson & Polis, 1999; Romero *et al.*, 2010). Poucos estudos sobre a influência de animais no fluxo de nutrientes para as plantas têm sido realizados, enquanto os processos envolvidos na transferência de nutrientes de produtores primários a níveis tróficos mais elevados são muito bem conhecidos (Anderson & Polis, 1999; Romero *et al.*, 2010). No entanto, uma mudança na abordagem dos estudos recentes tem enfatizado os efeitos gerados pelos animais na transformação, translocação e ciclagem de elementos essenciais como o nitrogênio, carbono e fósforo (Purtauf & Scheu, 2005), como tem sido levantada a importância dos animais como fontes diretas, via dejetos que são absorvidos pelas plantas, ou indiretas, via deposição de restos de presas (carcaças), de recursos para organismos vegetais.

A variabilidade espacial e temporal da disponibilidade de recursos pode afetar processos ecológicos em níveis que vão desde os indivíduos até a estrutura e dinâmica de comunidades (Anderson *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2008). Eventos caracterizados pela baixa frequência (raridade), grande magnitude (intensidade) e de curta duração (brevidade) denominados pulsos de recursos, levam a um aumento da disponibilidade de recursos em determinados sistemas (Yang *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2010). Embora, pensava-se que estes episódios fossem incomuns, atualmente sua importância tem sido enfatizada e sua ocorrência demonstrada em diversos sistemas naturais, como por exemplo, pulsos de chuvas geradas pelo El Niño, surtos de insetos, serapilheiras geradas por furacões em florestas tropicais e afloramentos marinhos (Yang *et al.*, 2010).

O fluxo de nutrientes dos animais para as plantas pode ocorrer em grande escala, no qual os animais modificam a disponibilidade de recursos no solo, afetando as

comunidades terrestres, a riqueza de espécies e a biomassa das plantas (Wait *et al.*, 2005). Em estudos de comunidade, como o das ilhas desérticas no Golfo da Califórnia, foi comprovado que ao ocorrerem pulsos de chuva, o guano (*i.e.*, fezes) de aves marítimas, associado à entrada de nutrientes via macroalgas, animais marítimos mortos, são mobilizados para as plantas (Anderson & Polis, 1999; Anderson *et al.*, 2008). Tanto cactos, quanto plantas anuais e arbustivas exibiram maior taxa de crescimento e produtividade, variando de 1,6 a 2,4 vezes a concentração de nitrogênio e fósforo em ilhas habitadas pelas aves em comparação com as que não eram habitadas (Anderson & Polis, 1999). Em outro estudo, foi verificado que lobos no Isle Royale National Park (EUA) modulam a heterogeneidade de nutrientes e de microrganismos presentes no solo, influenciando a biodiversidade e produtividade de plantas por meio de predação de alces (Bump *et al.*, 2009). Estes *hotspots* de nutrientes são gerados pela deposição de carcaças dos alces pelos lobos que afetam diretamente os processos biogeoquímicos tanto abaixo quanto acima do solo (Bump *et al.*, 2009). Foi evidenciada também a existência de pulsos de recursos gerados por indivíduos de *Ochotona princeps* (Lagomorpha) e sua influência sobre a comunidade de plantas que habitam as proximidades de seu abrigo (Aho *et al.*, 1998). Análises de nitrogênio de tecidos das plantas demonstraram que a biomassa vegetal armazenada por estes organismos como depósito de alimento para a estação fria, e suas fezes, são fontes de nutrientes para as plantas (Aho *et al.*, 1998).

Em escalas menores, a entrada de nutrientes em plantas via animais pode resultar de uma adaptação dos organismos vegetais a variações nutricionais do meio, isto é, como o ambiente é caracterizado por uma distribuição aleatória de nutrientes e, frequentemente, sua quantidade é inferior à necessidade dos organismos (Chapin, 1980), muitas espécies de plantas desenvolveram táticas alternativas para aquisição e/ou

conservação de recursos limitantes, como o nitrogênio e fósforo (Butler & Ellison, 2007). De fato, enquanto algumas espécies de plantas evoluíram adaptações similares para o comportamento carnívoro, outras espécies se associaram a animais em interações mutualísticas digestivas.

- **Carnivoria e protocarnivoria**

Plantas carnívoras têm atraído atenção de ecólogos e botânicos evolutivos desde Darwin, o primeiro a fornecer evidências detalhadas para carnivoria em vários gêneros de plantas (Ellison & Gotelli, 2001; Ellison *et al.*, 2003). Desde então, foram identificadas aproximadamente 600 espécies de plantas carnívoras entre monocotiledôneas e dicotiledôneas com adaptações similares (Ellison & Gotelli, 2001). Dados moleculares e morfológicos suportam essa origem múltipla e polifilética de plantas carnívoras (Albert *et al.*, 1992; Adamec, 1997; Ellison & Gotelli, 2001). Estas plantas geralmente são encontradas em áreas abertas, com alta incidência de luz solar e com grande umidade em pelo menos uma estação do ano (Givnish *et al.*, 1984; Benzing, 2000; Ellison & Gotelli, 2001). Supõe-se que o processo adaptativo para a carnivoria tenha se desenvolvido em resposta à necessidade de sobrevivência em habitats com solos pobres em nutrientes (Butler & Ellison, 2007), principalmente de nitratos e fosfatos. Assim, de acordo com o modelo de custo/benefício para a evolução da carnivoria, o investimento para adaptações ao hábito carnívoro foi compensado por vantagens energéticas potenciais (Givnish *et al.*, 1984).

O desempenho fotossintético das plantas carnívoras torna-se menor quando as folhas realizam fotossíntese e capturam presas, apresentando, frequentemente, taxas fotossintéticas máximas baixas em torno de 50% menores comparadas a outras plantas

(Méndez & Karlsson, 1999; Ellison & Gotelli, 2001; Lambers *et al.*, 2008). E a absorção de nutrientes adicionais pelas plantas através da carnivoría pode levar a maiores taxas de crescimento (Pate & Dixon, 1978; Dixon *et al.*, 1980; Aldenius *et al.*, 1983; Givnish *et al.*, 1984; Schulze *et al.*, 1991), resultando em alocação de biomassa para órgãos fotossintéticos (*e.g.* filódios das plantas carnívoras) , além de serem alocados para a reprodução, aumentando o nível de nutrientes das sementes ou da sua produção (Givnish *et al.*, 1984; Farnsworth & Ellison, 2008).

Segundo a definição de Givnish *et al* (1984), uma planta só pode ser tratada como carnívora se absorver nutrientes depositados sobre a superfície foliar e possuir adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais de atração ativa, captura e/ou digestão de presas. São encontrados, neste grupo, alguns representantes da família Droseraceae, caracterizados pela presença de um padrão de coloração atrativo e por produzirem tricomas glandulares cobertos por fluído viscoso que aprisionam artrópodes, sendo que algumas espécies possuem mecanismos ativos de captura, e digerem insetos em sua superfície (Darwin, 1875). Especializações dentro deste grupo também são encontradas como, por exemplo, em plantas que possuem uma digestão de materiais em um reservatório central mediada por bactérias. Dentre elas está a bromélia *Brocchinia reducta* que atrai insetos pela capacidade de refletir raios ultravioletas em função de sua superfície cerosa e por emitir no tanque um cheiro doce semelhante ao liberado pela planta carnívora *Heliamphora heterodoxa*, além de exibir tricomas capazes de absorver aminoácidos (Givnish *et al.*, 1984). Outras plantas que possuem digestão por bactérias são denominadas carnívoras por apresentarem glândulas nectaríferas dispostas externamente às flores, como em *Byblia* sp., *Heliamphora* sp. e *Sarracenia* sp. (Jolivet & Vasconcellos-Neto, 1993).

No entanto, esta definição de Givnish exclui espécies que possuem somente alguns destes atributos (Darnowski *et al.*, 2006) ou que possuem adaptações que funcionem para atração, captura ou digestão de presas mas que não os desenvolveram primariamente para o hábito carnívoro (Givnish *et al.*, 1984), sendo consideradas protocarnívoras. Spomer (1999) sugeriu que da mesma maneira em que foi evidenciado o hábito de protocarnivoría em *Geranium viscosissimum* e *Potentilla arguta*, resultante da capacidade de digestão de presas justapostas à sua superfície, inúmeras espécies que também se caracterizam pela presença de glândulas adesivas (*i.e.*, tricomas) podem se adequar neste grupo. Adicionalmente, a bromeliácea epifítica *Catopsis berteroniana* foi inserida em protocarnivoría, uma vez que, apresenta folhas cobertas por uma superfície cerosa que reflete raios ultravioleta e aprisiona insetos nos compartimentos formados entre as folhas que se enchem de água (Frank & O'Meara, 1984; Jolivet & Vasconcellos-Neto, 1993).

Uma modificação do modelo de custo/benefício de Givnish *et al.* (1984) foi sugerida por Karlsson *et al.* (1991). Em seus experimentos, estes pesquisadores demonstraram que a captura de presas não afetou de forma distinta a sobrevivência e o crescimento dos espécimes de *Pinguicula alpina*, *P. vulgaris*, *P. villosa* e *Drosera rotundifolia* em habitats ricos e pobres em nutrientes. Dessa forma, supõe-se que a pouca ocorrência de plantas carnívoras em habitats ricos em nutrientes esteja relacionada a uma diminuição em sua taxa de crescimento mediada pela competição com outras espécies de plantas (Aldenius *et al.*, 1983; Karlsson *et al.*, 1991; Millett *et al.*, 2003; Adlassnig, 2005). No entanto, outros trabalhos demonstram que algumas espécies perdem suas adaptações ao hábito carnívoro quando estão em ambientes com alta quantidade de suprimento de nutrientes. Por exemplo, *Sarracenia purpurea* possui uma aparente plasticidade de seus órgãos para carnivoría, talvez por ser um predador

pouco eficiente (*e.g.*, 10% de seus nutrientes são derivados de insetos) (Ellison & Gotelli, 2001). Com a adição direta de nutrientes, há uma alteração na morfologia de suas folhas, chegando à ausência de folhas em formato de funil (*i.e.*, aquelas especializadas à carnivoría) (Ellison & Gotelli, 2002). Além disso, outros trabalhos evidenciam a mortalidade de indivíduos quando expostos a um excesso de minerais (Adamec, 1997).

- **Mutualismo digestivo entre animais e plantas**

Mutualismos interespecíficos são associações que resultam em benefícios para ambos os parceiros (Begon *et al.*, 2007). Supõe-se que tanto mutualismos facultativos quanto obrigatórios são originados de interações antagonistas e comensais (Pellmyr *et al.*, 1996). São interações muito difundidas que desempenham um papel fundamental em todos os ecossistemas (Bronstein, 1994; Doebeli & Knowlton, 1998; Morais-Filho & Romero, 2010). A maioria dos trabalhos que relatam mutualismos entre animais e plantas envolve a dispersão de sementes, a polinização e o comportamento defensivo (*i.e.*, parceiros, como formigas, defendem as plantas hospedeiras de ação herbívora), embora existam também mutualismos digestivos que resultem em provimento de nutrientes de predadores para as plantas hospedeiras. Nestes sistemas, quase todas as interações envolvem o fornecimento de nutrientes de um mutualista para o parceiro (Boucher, 1985). A dispersão de sementes por animais tende a ser menos especializada em comparação aos sistemas planta-polinizador (Ricklefs, 2003). Aves, por exemplo, tendem a se alimentar de diversos tipos de frutos disponíveis no ambiente em que forrageia, enquanto polinizadores como a mariposa-da-yucca (Prodoxidae) mantém uma relação estreita com a hospedeira *Yucca* (Agavaceae) ao polinizá-la obrigatoriamente,

em troca de alimento para suas larvas que se nutrem das sementes da hospedeira (Ricklefs, 2003). Mutualismos defensivos são encontrados em associações entre formigas e plantas e entre ácaros e plantas, cujas plantas hospedeiras disponibilizam domáceas (*i.e.*, estruturas especializadas encontradas nas folhas, troncos e galhos utilizadas para nidificação das formigas) e alimento (*e.g.*, corpúsculos müllerianos, néctar extrafloral) em troca de defesa contra herbivoria (Janzen, 1966; Del Val & Dirzo, 2003; Nishi & Romero, 2008). Estas interações mirmecofíticas podem também se estabelecer em uma relação nutricional (Romero & Benson, 2004), cujos parceiros fornecem nutrientes para as plantas hospedeiras. Diversos trabalhos baseados em métodos isotópicos têm confirmado que formigas contribuem para a nutrição de suas hospedeiras ao se estabelecerem nas domáceas, como em *Maieta* sp. (Solano & Dejean, 2004), *Dischidia major* (Treseder *et al.*, 1995), *Piper* sp. (Fischer *et al.*, 2003) e *Schomburgkia tibicinis* (Rico-Gray *et al.*, 1989).

A definição de mutualismo digestivo foi primeiramente sugerida por Anderson & Midgley (2003) como uma ampliação da definição de carnivoría de Givnish *et al.* (1984). Segundo os autores, plantas carnívoras não necessitam de órgãos convencionais atrativos e digestivos se mantiver um mutualismo persistente com um predador espécie-específico (Anderson & Midgley, 2003). Ao estudarem a interação entre a planta protocarnívora *Roridula gorgonias* (Roridulaceae) e o hemíptera *Pameridae roridula*, verificaram a capacidade da planta em absorver nutrientes derivados da secreção líquida e das excretas sólidas eliminados pelo hemíptera, que sobrepõe os tricomas glandulares presentes na planta e se alimentam dos artrópodes aprisionados (Ellis & Midgley, 1996; Anderson & Midgley, 2003).

Enquanto existem poucos trabalhos que relatam a interação entre aranhas e plantas, outros estudos averiguando o hábito predador de aranhas e a sua influência sobre cadeias tróficas são abundantes. Aranhas são organismos muito diversos no ambiente terrestre e ocupam todos os tipos de hábitat (Foelix, 1996). Existem cerca de 41.000 espécies descritas distribuídas em todos habitats terrestres (Platnick, 2010). Como são estritamente predadoras, afetam diretamente a dinâmica de populações de presas, em sua maioria insetos e, conseqüentemente, a estrutura das comunidades as quais pertencem. A maioria das espécies vive em determinados ambientes limitados por fatores abióticos como temperatura, umidade, vento e intensidade luminosa, e por fatores bióticos como tipo de vegetação, suprimento alimentar e interações interespecíficas (por ex., competidores). Plantas podem beneficiar aranhas diretamente, fornecendo pólen e néctar como alimento (Jackson *et al.*, 2001), ou indiretamente ao proporcionar substrato para construção de teias e/ou locais de forrageamento. As aranhas podem melhorar o *fitness* das plantas, podendo proporcionar resultados positivos ao evitar ataques de herbívoros nas hospedeiras, podem simplesmente não afetá-las ou afetá-las negativamente (Romero, 2005).

Existem dois tipos de mutualismos descritos no sistema aranha-planta, o mutualismo defensivo e o mutualismo digestivo (Romero *et al.*, 2006; Romero *et al.*, 2008). As associações mutualísticas defensivas envolvem a remoção de fitófagos potencialmente prejudiciais às hospedeiras, como observado por Romero & Vasconcellos-Neto (2003) ao estudarem esta relação em aranhas Thomisidae habitantes de *Trichogoniopsis adenantha*. Neste sistema, artrópodes que se fixam nos tricomas da planta se tornam presas das aranhas, enquanto esta aumenta o *fitness* reprodutivo da planta ao remover fitófagos. Já o mutualismo digestivo envolve o provimento de nutrientes pelos predadores à planta hospedeira. Estes predadores melhoram o *fitness* da

planta ao removerem herbívoros e defecarem na superfície foliar, em troca, a planta fornece abrigo (Romero *et al.*, 2006). Trabalhos recentes, desenvolvidos com espécies da família Bromeliaceae, comprovam a contribuição nutricional de invertebrados e vertebrados que as utilizam como abrigo e local de forrageamento (Benzing, 2000). Romero *et al.* (2006) observaram que indivíduos da aranha *Psecas chapoda* habitam as rosetas de *Bromelia balansae* e contribuem para sua nutrição e crescimento, com o fornecimento indireto de nutrientes gerados pela captura e digestão de presas. Além disso, foi demonstrada que esta interação é espacialmente condicional, ou seja, a contribuição de nitrogênio das aranhas para as folhas das plantas varia com a densidade destes predadores (Romero *et al.*, 2008). A aranha *Psecas chapoda* foi encontrada em abundância em bromélias de áreas abertas (*i.e.*, “grassland”), enquanto em áreas fechadas (*i.e.*, áreas de floresta), foi raramente encontrada, provavelmente devido à menor disponibilidade de abrigo gerada pela mudança estrutural da planta hospedeira ao acumular folhas caídas das árvores e pela menor quantidade de presas (Romero *et al.*, 2008). Em outro estudo, foi verificada a contribuição de 27,7% do nitrogênio total de *Vriesea bituminosa* originada das fezes do anuro arborícola *Scinax hayii* e de 49,6% de térmitas usadas para simular insetos que caem no fitotelmata (*i.e.*, microecossistema formado por porção de água acumulada) da planta (Romero *et al.*, 2010).

O sistema de estudo

A planta *Paepalanthus bromelioides* Silvestri (Eriocaulaceae) é encontrada nos campos rupestres de Minas Gerais e Bahia (Fig. 1), e em “tepuis” ao sul da Venezuela (Giulietti & Hensold, 1990; Giulietti *et al.*, 1995). Caracterizada por possuir uma arquitetura foliar em roseta e fitotelmata, estas plantas constituem um microclima mais

estável e ameno comparado ao ambiente circundante, podendo abrigar espécies de vertebrados e invertebrados que as utilizam como abrigo e local de forrageamento (Fig. 2). Apesar de possuir algumas características ao hábito carnívoro como as folhas cobertas de cera que refletem a radiação UV (proteção contra luminosidade excessiva), tanque central com líquido ácido lubrificante e tricomas na base de suas folhas com possíveis funções de atrair, capturar, digerir, e absorver nutrientes, respectivamente, são consideradas protocarnívoras (Jolivet & Vasconcellos-Neto, 1993). No entanto, *P. bromelioides* pode estar associada à mutualistas digestivos potenciais que habitam a roseta e que vivem associados ao solo onde a planta se estabelece. Dentre os predadores mais comuns encontrados em sua roseta pode-se destacar: a aranha *Alpaida quadrilorata* (Araneidae) que captura insetos que visitam as inflorescências e constrói sua teia acima da roseta; a aranha *Latrodectus geometricus* (Theridiidae) que geralmente captura artrópodes que buscam abrigo ou caçam próximo ao tanque; representantes de Anyphaenidae que caçam presas ativamente sem construir teias e indivíduos de Thomisidae que esperam imóveis as presas que chegam às inflorescências (Figueira & Vasconcellos-Neto, 1991). Além disso, as plantas crescem sobre termiteiros formados pela erosão da porção não abrangida pela proteção da roseta e o acúmulo de sedimentos respingados pela chuva ou trazidos pelo vento, que se acumulam abaixo da roseta e nas paredes do termiteiro (Figueira & Vasconcellos-Neto, 1991). A ciclagem de nutrientes proporcionada pelas térmitas pode disponibilizar minerais que podem ser absorvidos pelas raízes da planta.

Objetivos e hipóteses

A ocorrência de espécies animais predadores que se estabelecem na roseta da *P. bromelioides* ao procurarem abrigo e alimento e de cupins que desenvolvem seus termiteiros sob a planta, pode sugerir a existência de associações mutualistas específicas, e, mais especificamente, de mutualismos digestivos (Fig. 6). Assim, com o desenvolvimento deste trabalho, espera-se que estes parceiros possam contribuir com a nutrição da planta hospedeira, funcionando como *pools* nutricionais. Cada possível fonte de nitrogênio no sistema através da roseta foi testada com a adição de materiais enriquecidos com isótopo de ^{15}N . Fezes de *L. geometricus* representaram as fezes das aranhas que naturalmente ocorrem na planta; carcaças de *Tenebrio* representaram os restos das presas alimentadas pelas aranhas; e larvas de *Tenebrio* simularam insetos que ocasionalmente caem no fitotelmata da planta (Fig. 3). E para verificar o fluxo do solo para a planta via cupins, foram adicionados tiras de papelão enriquecido com ^{15}N como fonte de alimento no termiteiro (Fig. 4). Além disso, o papel das bactérias na ciclagem dos materiais frequentemente depositados no fitotelmata, fezes e carcaças, foi analisada (Fig. 5).

Portanto, este trabalho teve como objetivo geral testar a existência de contribuição nutricional de cada grupo que mantém uma associação com a *Paepalanthus bromelioides* por meio da quantificação do nitrogênio absorvido pelas plantas. Constitui-se de um capítulo que aborda as associações mutualísticas digestivas entre a aranha *Latrodectus geometricus*, cupins e a planta protocarnívora *Paepalanthus bromelioides*. Além da coleta de dados para análise de abundância natural de ^{15}N , a realização de experimentos de campo utilizando traçador isotópico é fundamental, pois estas plantas apresentam idade média de 15-20 anos e vários fatores, como a quantidade de matéria orgânica que entra no sistema, via insetos, predadores, térmitas, e alterações climáticas locais influenciam no enriquecimento por ^{15}N .

Especificamente, esta dissertação respondeu as seguintes questões: (i) quanto de nitrogênio dos dejetos de predadores residentes (carcaças de presas e fezes de aranhas *Latrodectus geometricus* que se alimentaram de *Tenebrio* enriquecido) e de insetos que eventualmente são atraídos para as rosetas (larvas enriquecidas de *Tenebrio*) é absorvido pelas folhas das plantas? (ii) bactérias aceleram a ciclagem e disponibilização de nutrientes derivados de predadores (fezes, carcaças) para as plantas? (iii) quanto de nitrogênio é absorvido pelas plantas por meio de suas raízes, a partir de reciclagem de nutrientes por cupins?

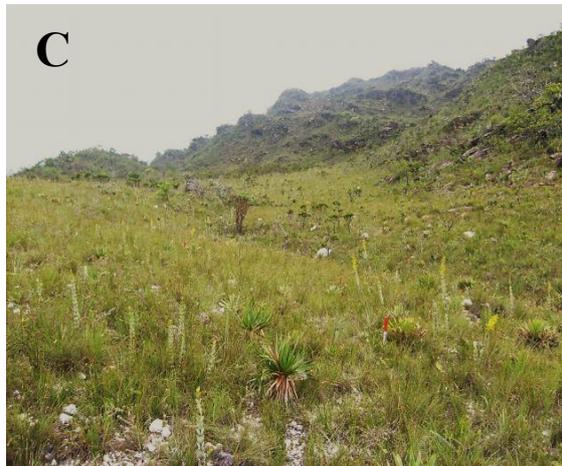


Fig. 1. Campo rupestre (A); Mancha de indivíduos de *Paepalanthus bromelioides* (B); Vegetação característica herbácea e arbustiva (C); Indivíduo de *Paepalanthus bromelioides* com marcação para experimento/tratamento (D).



Fig. 2. *Paepalanthus bromelioides* em estágio vegetativo (A); Associação de predadores: *Alpaida quadrilorata* (B) e *Latrodectus geometricus* (C); Utilização do fitotelmata como abrigo: espécie de Orthoptera (D) e espécie de Hylidae (E); Fitotelmata repleto de detrito (F).

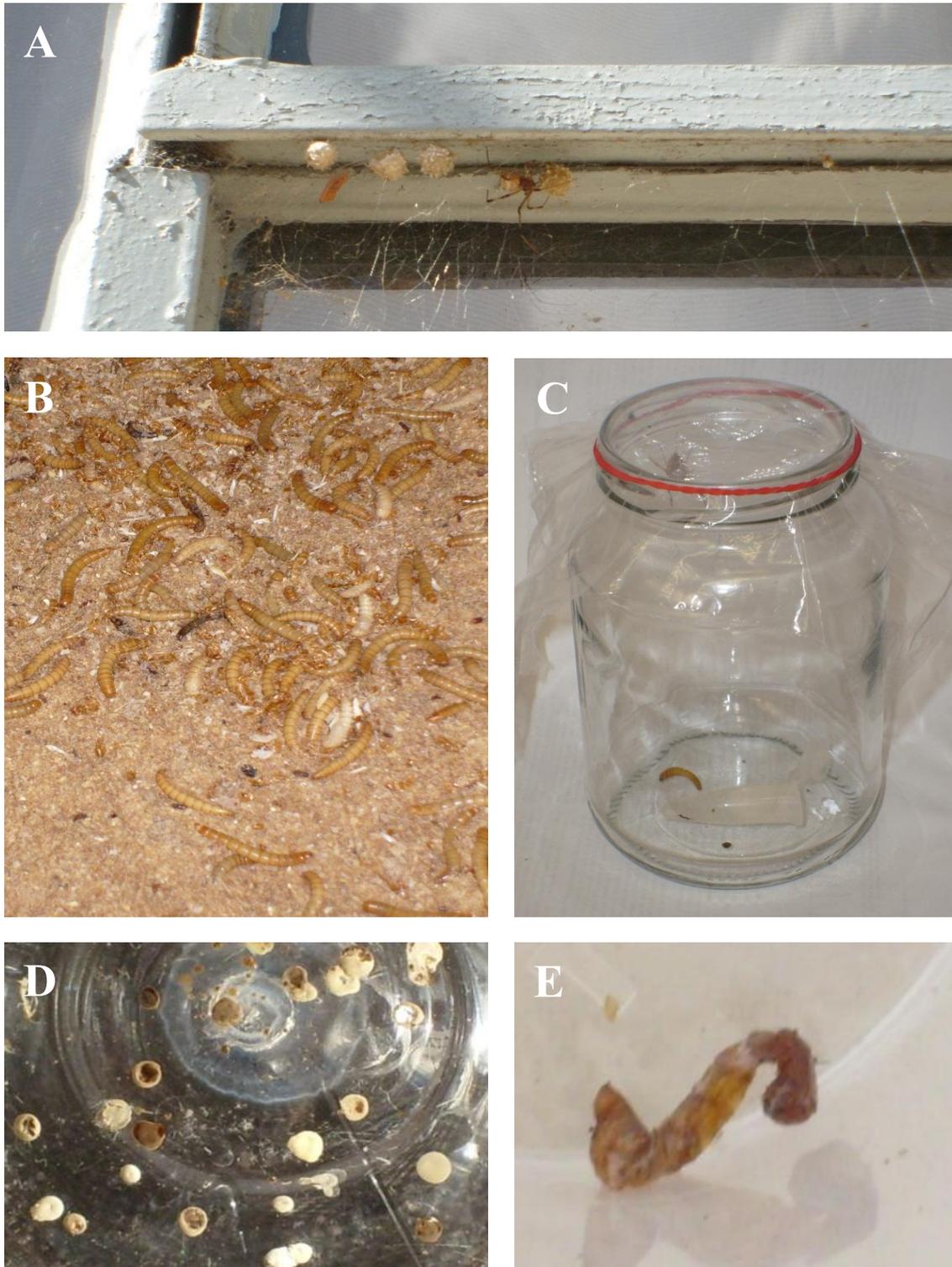


Fig. 3. *Latrodectus geometricus* em seu habitat (A); Larvas de *Tenebrio* em substrato de ração e farinha de mandioca enriquecido em ^{15}N (B); Espécime de *Latrodectus geometricus* mantido em laboratório (C); Fezes de *Latrodectus geometricus* (D); Carcaça de *Tenebrio* (E).



Fig. 4. Termiteiro (A); Papelão inserido no termiteiro (B); Cupins se alimentando do papelão (C).

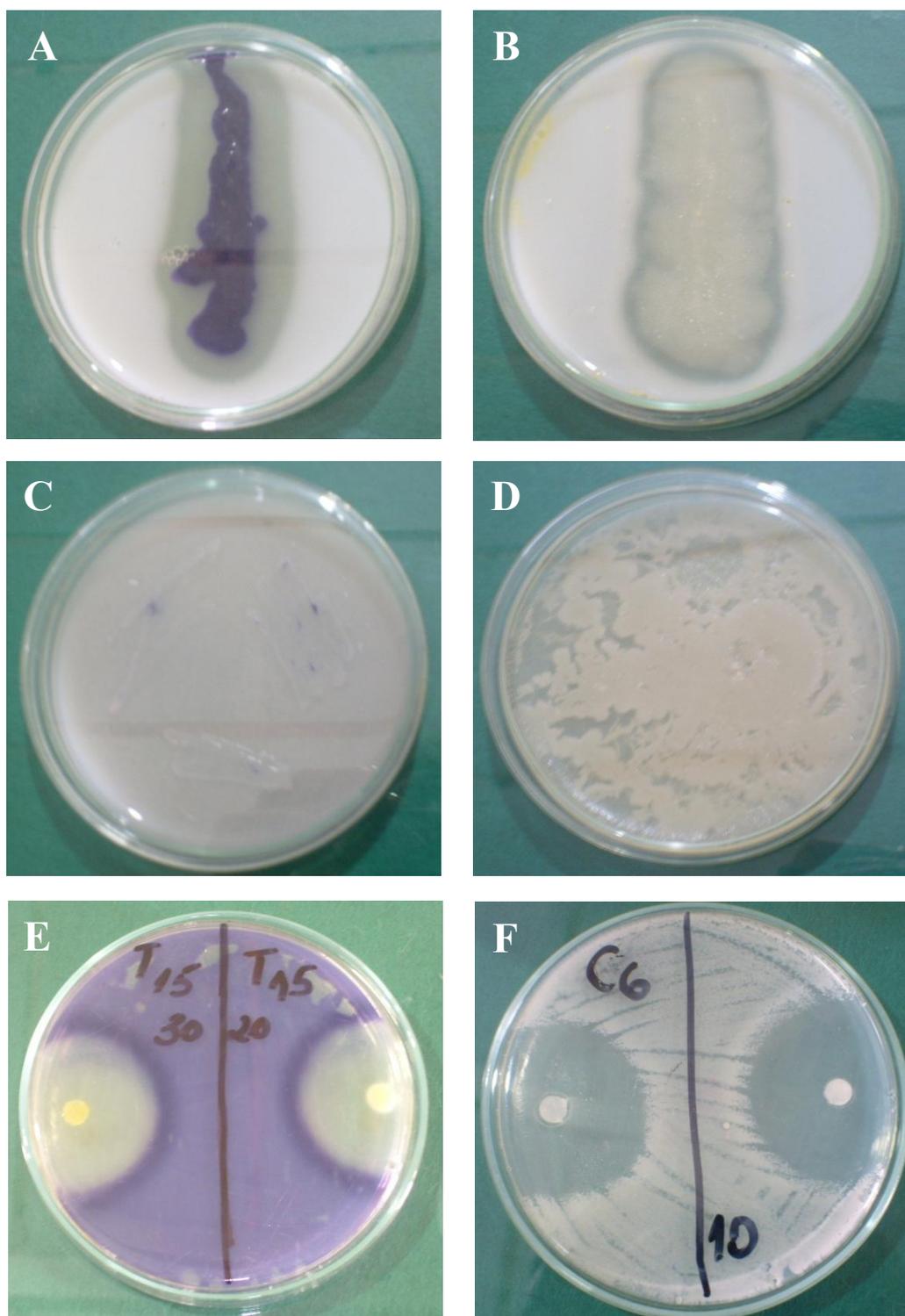


Fig. 5. Testes de duas colônias de bactérias coletadas dos fitotelmatas de *Paepalanthus bromelioides*. Averiguação de atividade proteolítica: degradam proteína (A) e (B); Averiguação de degradação de guanina: não degrada (C) e degrada (D); Meio antibiograma: são inibidas com antibióticos (E) e (F).

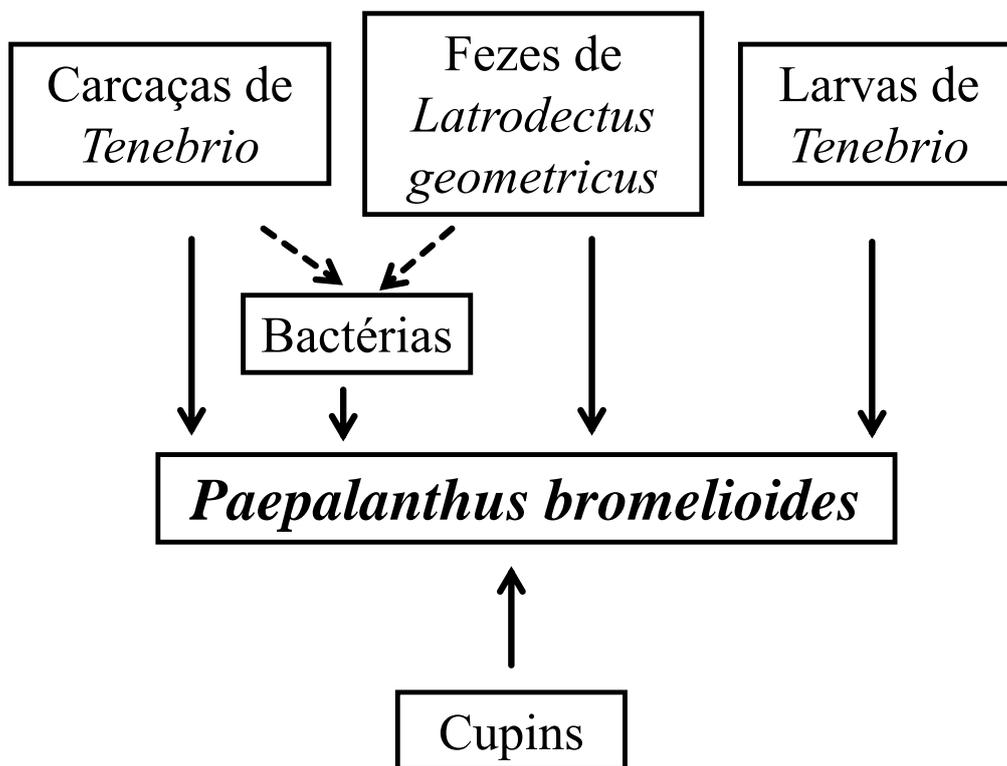


Fig. 6. Direção dos possíveis fluxos de nutrientes de animais para *Paepalanthus bromelioides*. Diversos predadores que habitam as rosetas se alimentam de presas e eliminam seus restos, representados pelas carcaças de *Tenebrio*, no tanque central. Além disso, suas fezes, simuladas nos experimentos com fezes de *Latrodectus geometricus*, também são depositadas no fitotelmata. Insetos que eventualmente caem no tanque são representados por larvas de *Tenebrio*. Estes materiais podem ser degradados por bactérias que disponibilizam os nutrientes em formas absorvíveis pelas plantas. Fluxo de nitrogênio do solo para as plantas foi testado com a adição de papelão, fonte de alimento para cupins. Fontes utilizadas nos experimentos são enriquecidas em ^{15}N .

Literatura citada

- Adamec L. 1997.** Mineral nutrition of carnivorous plants: a review. *Botanical review*, **63**: 273-299.
- Adlassnig W, Peroutka M, Lambers H, Lichtscheidl IK. 2005.** The roots of carnivorous plants. *Plant and soil*, **274**: 127-140.
- Aho K, Huntly N, Moen J, Oksanen T. 1998.** Pikas (*Ochotona princeps*: Lagomorpha) as allogenic engineers in an alpine ecosystem. *Oecologia*, **114**: 405-409.
- Aldenius J, Carlsson B, Karlsson S. 1983.** Effects insect trapping on growth and nutrient content of *Pinguicula vulgaris* L. in relation to the nutrient content of the substrate. *New Phytologist*, **93**: 53-59.
- Albert VA, Williams SE, Chase MW. 1992.** Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science*, **257**: 1491-1495.
- Anderson WB, Polis GA. 1999.** Nutrient fluxes from water to land: seabirds effects plant nutrient status on Gulf of California islands. *Oecologia*, **118**: 324-332.
- Anderson B, Midgley JJ. 2003.** Digestive mutualism, an alternate pathway in plant carnivory. *Oikos*, **102**:221-224.
- Anderson WB, Wait DA, Stapp P. 2008.** Resources from another place and time: responses to pulses in a spatially subsidized system. *Ecology*, Special Feature.
- Begon M, Townsend CR, Harper JL. 2007.** *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. Quarta edição, Artmed, Porto Alegre, BR.

- Benzing DH. 2000.** *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Boucher DH, James S, Keeler KH. 1982.** The ecology of mutualism. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **13**: 315-347.
- Bronstein JL. 1994.** Our current understanding of mutualism. *The Quarterly Review of Biology*, **69**: 31-51.
- Bump JK, Peterson RO, Vucetich JA. 2009.** Wolves modulate soil nutrient heterogeneity and foliar nitrogen by configuring the distribution of ungulate carcasses. *Ecology*, **90**: 3159-3167.
- Butler JL, Ellison AM. 2007.** Nitrogen cycling dynamics in the carnivorous northern pitcher plant, *Sarracenia purpurea*. *Functional Ecology*, **21**: 835-843.
- Chapin FS III. 1980.** The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review Ecology Systematics*, **11**: 233-260.
- Darnowski DW, Carroll DM, Plachno B, Kabanoff E, Cinnamon E. 2006.** Evidence of protocarnivory in Triggerplants (*Stylidium* spp.; Stylidiaceae). *Plant Biology*, **8**: 805-812.
- Darwin C. 1875.** *Insectivorous plants*. D. Appleton e Company, New York, USA.
- Del Val E, Dirzo R. 2003.** Does ontogeny cause changes in the defensive strategies of the myrmecophyte *Cecropia peltata*? *Plant Ecology*, **169**: 35-41.
- Dixon KW, Pate JS, Bailey WJ. 1980.** Nitrogen nutrition of the tuberous sundew *Drosera erythroriza* Lindl. with special reference to catch of arthropod fauna by its glandular leaves. *Australian Journal of Botany*, **28**: 283-297.

- Doebeli M, Knowlton N. 1998.** The evolution of interspecific mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95**: 8676-8680.
- Ellis AG, Midgley JJ. 1996.** A new plant-animal mutualism involving a plant with sticky leaves and a resident hemipteran insect. *Oecologia*, **106**:478-481
- Ellison AM, Gotelli NJ. 2001.** Evolutionary ecology of carnivorous plants. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**: 623-629.
- Ellison AM, Gotelli NJ. 2002.** Nitrogen availability alters the expression of carnivory in the northern pitcher plant, *Sarracenia purpurea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99**: 4409-4412.
- Ellison AM, Gotelli NJ, Brewer JS, Cochran-Stafira DL, Kneitel J, Miller TE, Worley AC, Zamora R. 2003.** The evolutionary ecology of carnivorous plants. *Advances in Ecological Research*, **33**: 1-74.
- Farnsworth EJ, Ellison AM. 2008.** Prey availability directly affects physiology, growth, nutrient allocation and scaling relationships among leaf traits in 10 carnivorous plant species. *Journal of Ecology*, **96**: 213-221.
- Figueira JEC, Vasconcellos-Neto J. 1991.** *Paepalanthus*, cupins e aranhas. *Ciência Hoje*, **13**: 20-26.
- Fischer RC, Wanek W, Richter A, Mayer V. 2003.** Do ants feed plants? A ¹⁵N labelling study of nitrogen fluxes from ants to plants in the mutualism of *Pheidole* and *Piper*. *Journal of Ecology*, **91**: 126-134.
- Foelix RF. 1996.** *Biology of spiders*. Segunda edição, Oxford University Press, New York, USA.

- Frank JH, O'Meara GF. 1984.** The bromeliad *Catopsis berteroniana* traps terrestrial arthropods but harbors *Wyeomyia* larvae (Diptera: Culicidae). *Florida Entomologist*, **67**: 418-424.
- Giulietti AM, Hensold N. 1990.** Padrões de distribuição geográfica dos gêneros de Eriocaulaceae. *Acta Botanica Brasilica*, **4**:133-159.
- Giulietti AM, Amaral MCE, Bittrich V. 1995.** Phylogenetic analysis of inter-and infrageneric relationships of *Leiothrix* Ruhland (Eriocaulaceae). *Kew Bulletin*, **50**: 55-71.
- Givnish TJ, Burkhardt EL, Happel RE, Weintraub JD. 1984.** Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous plants to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *The American Naturalist*, **124**:479-497.
- Jackson RR, Pollard SD, Nelson XJ, Edwards GB, Barrion AT. 2001.** Jumping spiders (Araneae: Salticidae) that feed on nectar. *Journal of Zoology*, **255**: 25-29.
- Janzen DH. 1966.** Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution*, **20**: 574-630.
- Jolivet P, Vasconcellos-Neto J. 1993.** Convergence chez les plantes carnivores. *La Recherche*, **24**: 456-458.
- Karlsson PS, Nordell KO, Carlsson BA, Svensson BM. 1991.** The effects of soil nutrient status on prey utilization in four carnivorous plants. *Oecologia*, **86**: 1-7.
- Lambers H, Chapin, FS III, Pons TL. 2008.** *Plant Physiological Ecology*. Segunda edição. Springer Science, New York, USA.

- Méndez M, Karlsson PS. 1999.** Costs and benefits of carnivory in plants: insights from the photosynthetic performance of four carnivorous plants in a subarctic environment. *Oikos*, **86**: 105-112.
- Millett J, Jones RI, Waldron S. 2003.** The contribution of insect prey to the total nitrogen content of sundews (*Drosera* spp.) determined *in situ* by stable isotope analysis. *New Phytologist*, **158**: 527-534.
- Morais-Filho JC, Romero GQ. 2010.** Plant glandular trichomes mediate protective mutualism in a spider-plant system. *Ecological Entomology*, **35**: 485-494.
- Nishi AH, Romero GQ. 2008.** Colonization pattern of *Cecropia* by *Azteca* ants: influence of plant ontogeny, environment and host plant choice by queens. *Sociobiology*, **52**: 367-376.
- Pate JS, Dixon KW. 1978.** Mineral nutrition of *Drosera erythrorhiza* Lindl. with special reference to its tuberous habit. *Australian Journal of Botany*, **26**: 455-464.
- Pellmyr O, Thompson JN, Brown JM, Harrison RG. 1996.** Evolution of pollination and mutualism in the yucca moth lineage. *The American Naturalist*, **148**: 827-847.
- Pellmyr O, Krenn HW. 2002.** Origin of a complex key innovation in an obligate plant-insect mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99**: 5498-5502.
- Platnick, NI. 2010.** *World Spider Catalog*. The American Museum of Natural History.
- Purtauf T, Scheu S. 2005.** Understanding the mutual relationships between the dynamics of food webs, resources and nutrients. No: Ruiter P, Wolters V, Moore

JC (Eds) *Dynamic food webs: multispecies assemblages, ecosystem development, and environmental change*. Academic Press, MA.

Ricklefs RE. 2003. *Economia da natureza*. Quinta edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, BR.

Rico-Gray V, Barber JT, Thien LB, Ellgaard EG, Toney JJ. 1989. An unusual animal-plant interaction: feeding of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae) by ants. *American Journal of Botany*, **76**: 603-608.

Romero GQ, Vasconcellos-Neto J. 2003. Natural history of *Misumenops argentus* (Thomisidae): seasonality and diet on *Trichogoniopsis adenantha* (Asteraceae). *Journal of Arachnology*, **31**: 297-304.

Romero GQ, Benson WW. 2004. Leaf domatia mediate mutualism between mites and a tropical tree. *Oecologia*, **140**: 609-616.

Romero GQ. 2005. *Associações entre aranhas Salticidade e Bromeliaceae: história natural, distribuição espacial e mutualismos*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.

Romero GQ, Mazzafera P, Vasconcellos-Neto J, Trivelin PCO. 2006. Bromeliad-living spiders improve host plant nutrition and growth. *Ecology*, **87**: 803-808.

Romero GQ, Vasconcellos-Neto J, Trivelin PCO. 2008. Spatial variation in the strength of mutualismo between a jumping spider and a terrestrial bromeliad: evidence from the stable isotope ^{15}N . *Acta Oecologica*, **33**: 380-386.

- Romero GQ, Nomura F, Gonçalves AZ, Dias NYN, Mercier H, Conforto E de C, Rossa—Feres D de C. 2010.** Nitrogen fluxes from treefrogs to tank epiphytic bromeliads: an isotopic and physiological approach. *Oecologia*, **162**: 941-949.
- Schulze ED, Gebauer G, Schulze W, Pate JS. 1991.** The utilization of nitrogen from insect captured by different growth forms of *Drosera* from Southwest Australia. *Oecologia*, **87**: 240-246.
- Solano PJ, Dejean A. 2004.** Ant-fed plants: comparison between three geophytic myrmecophytes. *Biological Journal of the Linnean Society*, **83**: 433-439.
- Spomer GG. 1999.** Evidence of protocarnivorous capabilities in *Geranium viscosissimum* and *Potentilla arguta* and other sticky plants. *International Journal of Plant Sciences*, **160**: 98-101.
- Treseder KK, Davidson DW, Ehleringer JR. 1995.** Absorption of ant-provided carbon dioxide and nitrogen by a tropical epiphyte. *Nature*, **375**: 137-139.
- Wait DA, Aubrey DP, Anderson WB. 2005.** Seabird guano influences on desert islands: soil chemistry and herbaceous species richness and productivity. *Journal of Arid Environments*, **60**: 689-695.
- Yang LH, Bastow JL, Spence KO, Wright AN. 2008.** What we can learn from resource pulses? *Ecology*, **89**: 621-634.
- Yang LH, Edwards KF, Byrnes JE, et al. 2010.** A meta-analysis of resource pulse-consumer interactions. *Ecological Monographs*, **80**: 125-151.

Zamora R, Gómez JM, Hódar JA. 1997. Responses of a carnivorous plants to prey and inorganic nutrients in a Mediterranean environment. *Oecologia*, **111**: 443-451.

2. CAPÍTULO 1

Mutualismo digestivo entre aranhas, cupins e a planta protocarnívora

***Paepalanthus bromelioides* (Eriocaulaceae)**

RESUMO

A espécie de planta protocarnívora *Paepalanthus bromelioides* (Eriocaulaceae) assemelha-se a uma bromélia por possuir arquitetura em roseta e acumular água da chuva (*e.g.*, fitotelmata). Enquanto suas rosetas são frequentemente habitadas por predadores (*e.g.*, aranhas), suas raízes são envoltas por cupinzeiros construídos sob a planta. Portanto, estas plantas podem derivar nutrientes tanto de processos de reciclagem de nutrientes por cupins, como de atividades de predadores nas rosetas (fezes e carcaças de presas), e até mesmo de insetos que eventualmente caem no fitotelmata. Bactérias habitantes destes fitotelmatas podem acelerar a ciclagem de nutrientes derivados dos predadores. Para testar estas predições, desenvolvemos vários experimentos em campo utilizando métodos isotópicos de ^{15}N . Análises de abundância natural de ^{15}N mostram que a assinatura isotópica da *P. bromelioides* é semelhante à de plantas carnívoras e superior a das demais plantas não carnívoras da área de estudo, sugerindo a utilização de presas como fonte de nutrientes. Modelos lineares de mistura mostraram que insetos que eventualmente caem na roseta, carcaças de insetos (*Tenebrio*) e fezes de aranhas (*Latrodectus geometricus*) enriquecidos isotopicamente contribuíram com $8,6 \pm 1,1\%$ (EP), $7,5 \pm 0,6\%$ e $19 \pm 3,1\%$ para a nutrição de *P. bromelioides*, respectivamente. Embora plantas sobre cupinzeiros tenham valores isotópicos superiores às plantas sem associação com cupins, não detectamos fluxo de nitrogênio de cupins para plantas a partir de decomposição de papelão enriquecido. Bactérias não afetaram a ciclagem de nutrientes e absorção de nitrogênio proveniente de carcaças de presas e fezes das aranhas. Estes resultados sugerem que *P. bromelioides* obtém nitrogênio tanto a partir de predadores associados como de cupins, porém, a velocidade da ciclagem de nitrogênio parece ser maior via predadores do que via cupins. Esse é o primeiro estudo a particionar efeitos de múltiplos mutualistas em interações

envolvendo mutualismos digestivos e, a partir da manutenção destas associações que funcionam como órgãos digestivos, sugerir que *P. bromelioides* possui todos os atributos para ser considerada como carnívora.

Palavras chave: Interação animal-planta, plantas protocarnívoras, *Paepalanthus bromelioides*, *Latrodectus geometricus*, Isoptera, isótopo estável ^{15}N , fluxo de nitrogênio.

INTRODUÇÃO

O advento de estudos de relações entre energia e nutrientes tem permitido identificar os processos que estão relacionados aos padrões de distribuição e abundância das espécies e da dinâmica populacional nos ecossistemas em que estão inseridos (Wakefield *et al.*, 2005). Os nutrientes são distribuídos de maneira aleatória no ambiente e, frequentemente, a quantidade encontrada é inferior à necessidade dos organismos (Chapin, 1980). Além disso, estes nutrientes podem estar disponíveis sob formas nas quais as plantas não conseguem absorver diretamente (*e.g.*, nitrogênio orgânico). Embora trabalhos recentes tenham comprovado a capacidade de absorção de aminoácidos em alguns grupos de plantas como bromelícolas (Endres & Mercier, 2002) e carnívoras (Karagatzides *et al.*, 2009), muitas espécies conseguiram sobrepor esta limitação ao sustentarem associações com micorrizas, organismos capazes de mineralizar o nitrogênio orgânico e disponibilizarem-no na forma inorgânica para as plantas (Karagatzides *et al.*, 2009).

Essa variação na quantidade de nitrogênio disponível tem efeito primário na taxa de crescimento das plantas (Berendse & Aerts, 1987; Karagatzides *et al.*, 2009), e muitas espécies minimizaram os efeitos de variações nutricionais do meio ao investir em estratégias alternativas para obtenção e conservação de recursos (Butler & Ellison, 2007). De fato, várias espécies de plantas evoluíram adaptações similares para o comportamento carnívoro. Esta forma de aquisição de nutrientes alternativa à fotossíntese está presente em aproximadamente 600 espécies de plantas entre monocotiledôneas e dicotiledôneas (Ellison & Gotelli, 2001). Sugere-se que a carnivoría tenha se desenvolvido em resposta à necessidade de sobrevivência em determinadas condições ambientais estritas como, habitats ensolarados, úmidos pelo

menos em uma estação do ano e com solos pobres em nutrientes, principalmente de nitratos e fosfatos, cujos benefícios para o investimento do hábito carnívoro excedem seus custos (Givnish *et al.*, 1984; Ellison & Gotelli, 2002; Butler & Ellison, 2007; Lambers *et al.*, 2008). O suplemento nutricional promovido pela adição de presas reduz o estresse fotossintético e os nutrientes absorvidos podem ser alocados para a reprodução, o que resulta em um aumento do nível de nutrientes das sementes ou da sua produção (Givnish *et al.*, 1984; Farnsworth & Ellison, 2008). Estão inclusas na definição de carnivoria as espécies de plantas capazes de absorver nutrientes de animais justapostos em sua superfície e que possuem adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais de atração, adesão/captura e/ou digestão de presas (Givnish *et al.*, 1984). Por exemplo, embora *Brocchinia reducta* (Bromeliaceae) possua digestão indireta mediada por comunidade microbiana presente no fitotelmata, apresenta adaptações específicas para atração de presas, sendo, portanto classificada como carnívora (Givnish *et al.*, 1984).

Recentemente, Anderson & Midgley (2003) sugeriram uma ampliação da definição de carnivoria, propondo que plantas carnívoras não necessitam de órgãos convencionais atrativos e digestivos se a planta mantiver um mutualismo persistente com um predador espécie-específico. Nesta relação animal-planta, denominado mutualismo digestivo, plantas capturam ou atraem a presa e também fornecem sítios de forrageamento para predadores associados, que melhoram o *fitness* da planta ao remover os herbívoros e disponibilizar nutrientes por meio de suas fezes, que são mais facilmente absorvidos pela superfície da planta (Ellis & Midgley, 1996; Romero *et al.*, 2006). Dentro desta nova definição, a planta *Roridula gorgonias* que mantém um mutualismo digestivo com o hemíptero *Pameridae roridula* pode ser julgada como carnívora, baseado nos seus mecanismos de adesão de presas por meio de tricomas e

pela quantidade absorvida de nutrientes derivados das presas (Anderson & Midgley, 2003).

Muitas espécies de plantas que também são encontradas em habitats iluminados e pobres em nutrientes, mas que não possuem todos os atributos para a carnivoría, (Darnowski *et al.*, 2006) ou que possuem adaptações que funcionem para atração, captura ou digestão de presas mas que não os desenvolveram primariamente para o hábito carnívoro, denominam-se protocarnívoras (Givnish *et al.*, 1984). São sugeridas que inúmeras espécies que possuem glândulas adesivas (*i.e.*, tricomas), como *Geranium viscosissimum* e *Potentilla arguta* capazes de digerir e absorver nutrientes na sua superfície se adequam neste grupo (Spomer, 1999). Em bromeliáceas cuja digestão é mediada por bactérias presentes no tanque central, a protocarnivoría é observada na espécie de planta epifítica *Catopsis berteroniana* (Frank & O'Meara, 1984; Jolivet & Vasconcellos-Neto, 1993).

Paepalanthus bromelioides Silvestri (Eriocaulaceae) vive em habitats bem iluminados e pobres em nutrientes e matéria orgânica, mantidos por violenta erosão gerada pelas enxurradas de verão e, frequentemente, recebem um incremento nutritivo depois de queimadas naturais e/ou antrópicas (Rizzini, 1997). Possui várias características ao hábito carnívoro, como as folhas cobertas de cera que refletem a radiação UV, tanque central com líquido ácido lubrificante e tricomas na base de suas folhas com possíveis funções de atrair, capturar, digerir, e absorver nutrientes. Porém são consideradas protocarnívoras porque, aparentemente, dependem de bactérias para digerir e mineralizar os nutrientes depositados na roseta (Jolivet & Vasconcellos-Neto, 1993; Figueira *et al.*, 1994) e não apresentam adaptações características que indiquem investimento energético para o desenvolvimento da carnivoría (Givnish *et al.*, 1984).

No entanto, *P. bromelioides* pode estar associada à mutualistas digestivos potenciais que habitam a roseta e que vivem associados ao solo onde a planta se estabelece. Entre os organismos encontrados na roseta estão assembleias de predadores, como formigas, escorpiões e especialmente aranhas que buscam alimento e um microclima mais estável e ameno proporcionado por sua estrutura (Figueira & Vasconcellos-Neto, 1991). Além disso, *P. bromelioides* tipicamente cresce sobre cupinzeiros cilíndricos de até 30 cm de altura, construídos por cupins pertencentes aos gêneros *Velocitermes*, *Spinitermes*, *Nasutitermes* e *Armiterms* (Figueira & Vasconcellos-Neto, 1991). Como estes cupins atuam na reciclagem de nutrientes por meio de trituração, decomposição, humificação e mineralização de recursos celulósicos (Lima & Costa-Leonardo, 2007), podem também disponibilizar nutrientes para *P. bromelioides* através de suas raízes. Portanto, estas plantas podem se adequar na definição de carnivoría proposta por Anderson & Midgley (2003) se captarem nutrientes dos processos que envolvem interações com mutualistas, através da reciclagem de nutrientes por cupins e atividades de predadores nas rosetas (fezes e carcaças de presas), e até mesmo insetos que eventualmente caem no fitotelmata atraídos por reflexões UV, e mediadas por bactérias habitantes destes fitotelmata que podem acelerar a ciclagem de nutrientes derivados dos predadores. Para testar estas predições, desenvolvemos vários experimentos em campo utilizando métodos isotópicos de ^{15}N (Fig. 1). As principais questões foram: (i) quanto de nitrogênio dos dejetos de predadores residentes (carcaças de presas e fezes de aranhas *Latrodectus geometricus* que se alimentaram de *Tenebrio* enriquecido) e de insetos que eventualmente são atraídos para as rosetas (larvas enriquecidas de *Tenebrio*) é absorvido pelas folhas das plantas? (ii) bactérias aceleram a ciclagem e disponibilização de nutrientes derivados de predadores (fezes, carcaças) para as plantas? (iii) quanto de

nitrogênio é absorvido pelas plantas por meio de suas raízes, a partir de reciclagem de nutrientes por cupins?

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e organismos

Este estudo foi realizado na Área de Proteção Ambiental (APA) Morro da Pedreira, cidade de Santana do Riacho, Minas Gerais Brasil. A APA está localizada em região montanhosa (elevação superior a 1000 m), caracterizada por campos rochosos de grande altitude (Complexo do Espinhaço) formados por rochas quartzíticas. Estas áreas são compostas de vegetação herbácea e arbustiva, que cresce sobre rochas e solos pobres em nutrientes e matéria orgânica, com baixa capacidade de retenção de água (Giulietti *et al.*, 1987; Giulietti & Pirani, 1988). Os campos rupestres são divididos em complexos vegetacionais ao formar conjuntos de ambientes contrastantes que ocorrem em mosaicos – campos graminóides, charcos, afloramentos rochosos e capões de mata. Nesta região há uma predominância de espécies vegetais pertencentes às famílias Poaceae (130 spp.), Asteraceae (119 espécies), Fabaceae (107 spp.), Melastomataceae (90 spp.), Eriocaulaceae (84 spp.), Orchidaceae (80 spp.), Velloziaceae (58 spp.), Xyridaceae (47 spp.), Rubiaceae (47 spp.), Myrtaceae (45 spp.), Bromeliaceae (36 spp.), Cyperaceae (32 spp.) (ICMBio, 2009).

Uma vez que os valores isotópicos de ^{15}N são em torno de 3‰ mais positivos a cada nível trófico (Martinelli *et al.*, 2009), espécies de plantas que utilizam insetos como fonte adicional de nutrientes, podem apresentar valores maiores de $\delta^{15}\text{N}$ em suas folhas. No presente sistema, *Paepalanthus bromelioides* abriga diversas espécies de

vertebrados (Hylidae, observação pessoal) e invertebrados, como aranhas que predam os insetos que visitam suas rosetas. Comumente, são encontradas aranhas da espécie *Latrodectus geometricus* (Theridiidae), que geralmente captura artrópodes que buscam abrigo ou caçam próximo ao tanque, a *Alpaida quadrilobata* (Araneidae), que captura principalmente insetos que visitam as inflorescências e constrói sua teia acima da roseta e a aranha *Arachosia proseni* (Anyphandidae) que captura ativamente suas presas sem construir teias (Figueira & Vasconcellos-Neto, 1991). A manutenção destas associações pode ser benéfica para a planta, pois a atividade dos predadores sobre a roseta se torna uma fonte potencial de nutrientes. Além disso, as plantas estão associadas a térmitas que podem disponibilizar nutrientes resultantes da ciclagem de materiais celulósicos. Os termiteiros são formados pela erosão da porção não abrangida pela proteção da roseta e o acúmulo de sedimentos respingados pela chuva ou trazidos pelo vento que se acumulam abaixo da roseta e nas paredes do termiteiro (Figueira & Vasconcellos-Neto, 1991).

Abundância natural de ^{15}N

A coleta de dados de abundância natural de ^{15}N foi realizada em duas áreas, na Fazenda do proprietário Geraldo Wilson Fernandes (19°17'40''S; 43°53'47''O) e no Parque Nacional Serra do Cipó (19°20'36''S; 43°44'14''O).

Para verificar se *P. bromelioides* absorve nutrientes originados de atividades de predadores (*i.e.*, fezes, carcaças das presas) que habitam suas rosetas, coletamos duas folhas novas expandidas de dez indivíduos de *P. bromelioides*. Adicionalmente, coletamos folhas novas e expandidas de algumas espécies de plantas referência encontradas em maior abundância na mesma área para comporem o perfil da vegetação.

Como existe variação na distribuição do nitrogênio do solo, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das plantas referência também podem variar dependendo da profundidade das suas raízes; portanto usamos mais de uma planta de referência para reduzir possíveis erros dos valores de $\delta^{15}\text{N}$ (Schulze *et al.*, 1991). Processos envolvidos na associação micorriza-planta podem gerar diferenças nas assinaturas isotópicas das plantas (Hobbie *et al.*, 2000), assim, uma vez que *P. bromelioides* mantém estas associações, somente plantas referência com micorrizas foram utilizadas. As plantas que atenderam a estes requisitos foram: *Lychnophora* sp. nov. (Asteraceae) (n = 5 plantas), *Barbacenia* sp. (Velosiaceae) (n = 10) e *Hyptis* sp. (Lamiaceae) (n= 10). Além disso, coletamos folhas de duas plantas carnívoras *Drosera montana* (n = 10 plantas) e *D. aff. villosa* (n = 5) para análises comparativas.

Para verificar se *P. bromelioides* se beneficia nutricionalmente com a associação com cupinzeiros, coletamos duas folhas novas das rosetas de *P. bromelioides* associadas (n = 9) e não associadas com cupinzeiros (n = 10). Além disso, foram coletados três térmites de cinco cupinzeiros.

A abundância natural de ^{15}N de insetos coletados (12 cigarrinhas, 39 formigas, 11 dípteras, 6 hemípteros, 12 gafanhotos, 1 borboleta, 3 vespas e 3 besouros) com rede *sweep* na vegetação próximos às rosetas de *P. bromelioides* também foi quantificada. Nove amostras de fezes dos predadores *Alpaida quadrilorata* (Araneidae), *Arachosia proseni* (Anyphaenidae) e *Latrodectus geometricus* (Therididae) foram coletadas. Cada amostra fecal consistiu de fezes de 3-5 indivíduos de *A. quadrilorata*, *A. proseni* e *L. geometricus* diluídas em água destilada (150 μl). Estas aranhas foram mantidas em frascos de vidro (7 cm de diâmetro e 10 cm de altura) individualizados por cinco dias. Em adição, coletamos 20 corpúsculos de fezes de 10 indivíduos de uma espécie de

gafanhoto comumente encontrada nas rosetas da *P. bromelioides*, que foram homogeneizados e diluídos em água destilada (150µl). Quatro aranhas (duas *A. quadrilobata*, uma *A. proseni* e uma *L. geometricus*) também foram enviadas para determinação isotópica.

Experimentos de enriquecimento com ^{15}N

I. Fluxo de nitrogênio de predadores e presas para plantas

A contribuição de nitrogênio de predadores para a planta foi testada experimentalmente na Fazenda do proprietário Roberto Baruqui (19°17'37,80''S; 43°35'45,91''O) em uma área de aproximadamente 10 ha. Foram adicionados nos tanques da planta *P. bromelioides*, amostras de fezes de *Latrodectus geometricus*, carcaças de *Tenebrio molitor* e fragmentos de larvas de *T. molitor* que representaram, respectivamente, as fezes das aranhas associadas às rosetas, os restos das presas eliminados pelas aranhas (*i.e.*, carcaças) e insetos que buscam abrigo na roseta e eventualmente caem no fitotelmata. As larvas de *T. molitor* foram mantidas em laboratório em substrato constituído de ração para ratos Labina-Purina® e farinha de mandioca aspergida com solução de sulfato de amônio enriquecido [$(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 % de excesso de átomos, da Cambridge Isotope Laboratories, MA], na proporção 100 g_{ração}/20 mL_{solução}. Este material foi colocado em estufa de desidratação por 24 h a 60°C para secagem e posteriormente foi homogeneizado por 30 min com auxílio de uma espátula.

Para obtenção das fezes das aranhas, 70 fêmeas de *L. geometricus* coletadas no Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas (UNESP, São José do Rio Preto, SP) e

no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP, São José do Rio Preto, SP) foram mantidas em frascos de vidro de aproximadamente 7 cm de diâmetro e 10 cm de altura. Cada aranha foi alimentada com uma larva de *T. molitor* enriquecida com ^{15}N a cada dois dias, tempo suficiente para captura e ingestão das larvas (dado obtido em bioensaios prévios desenvolvidos em laboratório). As duas primeiras amostras coletadas de cada aranha foram descartadas para evitar o efeito da alimentação prévia nas análises isotópicas, ou seja, para que o ^{15}N das fezes coletadas resultasse somente da alimentação fornecida (larvas enriquecidas). Em intervalos de dois dias, as fezes enriquecidas foram coletadas com micropipeta e diluídas em água destilada (150 μL) e mantidas em congelador até o período de aplicação no campo. Adicionalmente, as carcaças das larvas e as larvas inteiras também foram mantidas congeladas até a aplicação.

Em campo, 40 indivíduos de *P. bromelioides* de tamanhos semelhantes (*i.e.*, diâmetro da planta, diâmetro da roseta e altura) foram sorteados e receberam os seguintes tratamentos: (1) fezes de *L. geometricus* (n = 10 plantas); (2) carcaças de *T. molitor* (n = 10 plantas); (3) larvas de *T. molitor* (n = 10 plantas); e (4) plantas controle (*i.e.*, inalteradas e sem adição de material enriquecido) (n=10 plantas). Cada planta estava a uma distância de no mínimo 3 m uma da outra. As aplicações ocorreram a cada dois dias e em cada aplicação, as plantas do primeiro tratamento receberam três amostras de fezes (1 mg cada), as plantas do segundo tratamento receberam uma amostra de carcaça de *T. molitor* (3 mg) e as plantas do terceiro tratamento receberam uma larva de *T. molitor* (3 mg). No total, realizamos 30 aplicações de amostras. Este experimento foi realizado em dois períodos: foi iniciado em 11 de dezembro de 2009 e interrompido após cinco aplicações e as aplicações das amostras recomeçaram em 16 de janeiro de 2010 a 5 de março de 2010. Este intervalo de tempo de aplicação não

prejudicou os resultados das análises isotópicas de ^{15}N , uma vez que as amostras adicionadas ao fitotelmata continuaram a se degradar e a serem absorvidas pelas plantas. No final do experimento, três folhas jovens (*i.e.*, folhas do primeiro, segundo e terceiro nó do interior da roseta) de cada planta foram coletadas. Estas folhas, fezes, carcaças e larvas de *T. molitor* foram analisadas isotopicamente.

II. Papel das bactérias para fluxo de nitrogênio

Para verificar se nos tanques de *P. bromelioides* existem bactérias proteolíticas que podem contribuir para mineralização dos compostos de origem animal (*e.g.*, guanina, quitina), inicialmente coletamos em campo amostras do tanque central de quinze indivíduos de *P. bromelioides* selecionados aleatoriamente. Com auxílio de uma pinça de inóculo e uma fonte de calor para evitar contaminação na coleta de um fitotelmata a outro, fizemos plaqueamentos nas placas de Petri (quinze placas referentes às quinze amostras) compostas de meio ágar. Em laboratório, fizemos plaqueamentos para isolamento de colônia: (1) meio de proteína (leite desnatado), (2) meio de guanina, (3) meio antibiograma (Cloranfenicol) e (4) meio antibiograma (Tetraciclina). Foram realizados testes com dois antibióticos para analisar se havia diferença na efetividade da inibição das culturas bacterianas. Estes testes foram desenvolvidos no laboratório de Engenharia de Alimentos da UNESP, departamento de Microbiologia.

O experimento para testar se as bactérias aceleram a ciclagem de nitrogênio favorecendo sua absorção pela planta foi realizado na Fazenda do proprietário Roberto Baruqui (19°17'37,80''S; 43°35'45,91''O). Em campo, em uma área de aproximadamente 10 ha, 40 indivíduos de *P. bromelioides* de tamanhos semelhantes (*i.e.*, diâmetro da planta, diâmetro da roseta e altura) foram sorteados, numerados e

receberam os seguintes tratamentos: (1) fezes de *L. geometricus* e 10 ml de água destilada (n = 10 plantas); (2) fezes de *L. geometricus* e 10 ml de solução de antibiótico (Tetraciclina a 2mg/ml_{água destilada}) (n = 10 plantas); (3) carcaças de *Tenebrio* e 10 ml de água destilada (n = 10 plantas); e (4) carcaças de *Tenebrio* e 10 ml de solução de antibiótico (Tetraciclina a 2mg/ml_{água destilada}) (n=10 plantas). Cada planta estava a uma distância de no mínimo 3 m de outra. Nenhuma literatura foi encontrada a respeito do uso experimental de antibiótico em plantas que formam tanque, por isso a metodologia utilizada não foi baseada em testes anteriores. Este antibiótico é um dos mais importantes para o controle de patologias vegetais (Agrios, 2005) e a adição deste antibiótico não acarretou efeitos aparentes na fisiologia das plantas que resultassem em mudança de coloração das folhas ou a morte dos indivíduos. Em cada aplicação, as plantas do primeiro e segundo tratamentos receberam três amostras de fezes (1mg cada) e as plantas do terceiro e quarto tratamentos receberam uma amostra de carcaça de *Tenebrio* (3mg). No total, realizamos 25 aplicações de amostras. Este experimento foi realizado no período de 16 de janeiro de 2010 a 5 de março de 2010. No final do experimento, três folhas jovens (*i.e.*, folhas do primeiro, segundo e terceiro nó do interior da roseta) de cada planta foram coletadas. Estas folhas foram analisadas isotopicamente.

III. Fluxo de nitrogênio do solo para as plantas

Este experimento foi realizado na Fazenda Serra do Cipó (19°17'17,81''S; 43°35'26,49''O) em uma área de aproximadamente 10 ha. Para quantificar o nitrogênio absorvido pelas raízes de *P. bromelioides* foram utilizadas tiras de papelão que simularam a deposição de material vegetal no solo. O papelão foi cortado em 100

retângulos de 50 cm², de 2 g ou 2,5 g (dependendo da densidade do papelão). Ele foi realizado em dois períodos: para o primeiro período, 20 indivíduos de *P. bromelioides* de tamanhos semelhantes (*i.e.*, diâmetro da planta, diâmetro da roseta, altura da planta e altura dos cupinzeiros) foram sorteados e receberam os seguintes tratamentos: (1) oito pedaços de papelão enriquecidos (n=10); e (2) oito pedaços de papelão não enriquecidos (n=10). Cada planta estava a uma distância de no mínimo 8 m da outra. O papelão foi adicionado aos cupinzeiros em 11 de dezembro de 2009, quando foram colocados quatro pedaços de papelão de 2,5 g cada e em 02 de março de 2010, quando os cupinzeiros receberam quatro pedaços de 2,0 g cada.

O papelão foi enriquecido com ¹⁵N pela sua imersão durante 5 segundos em solução de sulfato de amônio [(¹⁵NH₄)₂SO₄, 10 % de excesso de átomos, da Cambridge Isotope Laboratories, MA] com 5 g sulfato de amônio / 1 L água destilada. O papelão não enriquecido foi imerso por 5 segundos em água destilada. As tiras do papelão enriquecido continham uma média de 5,26 ± 0,34 (EP) µg de nitrogênio. No final do experimento, três folhas jovens (*i.e.*, folhas do primeiro, segundo e terceiro nó do interior da roseta) de cada planta foram coletadas. Térmites coletados em cinco plantas de cada tratamento, fragmentos de papelão enriquecidos e não enriquecidos, e as folhas das plantas foram analisados isotopicamente.

Para o segundo período, foi adicionado um tratamento. Em campo, em uma área de 10 ha, 30 indivíduos de *P. bromelioides* de tamanhos semelhantes (*i.e.*, diâmetro da planta, diâmetro da roseta, altura da planta e altura dos cupinzeiros) foram sorteados e receberam os seguintes tratamentos: (1) solução de inseticida e oito pedaços de papelão enriquecidos (n=10); (2) oito pedaços de papelão enriquecidos (n=10); e (3) oito pedaços de papelão não enriquecidos (n=10). Cada planta estava a uma distância de no

mínimo 8 m da outra. Para os cupinzeiros do primeiro tratamento foram aspergidos 19,75 mL de solução de mesmo inseticida Termitox a uma concentração de 10 mL_{inseticida}/L_{água destilada} utilizado no controle de cupins e formigas de plantações e no controle de pragas em sementes (Aquino *et al.*, 2007; Link, D & Link, FM, 2008; ANVISA). Este O papelão foi adicionado aos cupinzeiros em 17 de janeiro de 2010, quando foram colocados quatro pedaços de papelão de 2,5 g cada e em 02 de março de 2010, quando os cupinzeiros receberam quatro pedaços de 2,0 g cada.

Os procedimentos da preparação das tiras de papelão durante o experimento e a coleta das amostras de folhas, cupins e papelão para determinação isotópica foram iguais ao do primeiro período.

Análises isotópicas

As folhas coletadas para as análises isotópicas foram lavadas em água corrente por três minutos e escovadas para retirar pequenas partículas aderidas às folhas. Para a manutenção de suas características físico-químicas durante o transporte do campo até o laboratório, as folhas foram congeladas em freezer a -18°C e transportadas em isopor com garrafas plásticas contendo água congelada. Em laboratório, as folhas permaneceram em estufa a 60°C por 24h e foram moídas em moinho micro facas (Marconi, Piracicaba, Brasil). Amostras do papelão enriquecidas e não enriquecidas foram secas e moídas pelos mesmos procedimentos. As amostras de fezes foram mantidas em centrífuga (13.000 rpm) por 30 min para a formação do corpo de fundo (*i.e.*, fezes concentradas), secas em estufa a 50°C por 20 min e moídas manualmente. Aranhas e insetos foram secos utilizando o mesmo método das folhas e moídos manualmente.

A existência de isótopo raro mais pesado do nitrogênio, ^{15}N , possibilita a produção de compostos marcados ou enriquecidos com estes isótopos, caracterizados por apresentarem abundâncias isotópicas acima da abundância natural (0,37%). Por isso, estes compostos podem ser usados como traçadores isotópicos (Maximo *et al.* 2005). Para obtenção dos valores de porcentagem de átomos de ^{15}N e de $\delta^{15}\text{N}$ [= ((^{15}N : ^{14}N amostra/ ^{15}N : ^{14}N padrão) - 1) x 1000 (‰ vs. At-ar)], as amostras foram enviadas para o Laboratório de Isótopos Estáveis na Universidade da Califórnia em Davis [(espectrômetro de massas analisador elementar 20-20, PDZ Europa, Sandbach, England) posterior combustão das amostras a N_2 em 1000°C por um analisador elementar on-line (PDZ Europa ANCA-GSL)]. O cálculo da porcentagem de nitrogênio (%N) encontrada nas plantas originado das diferentes fontes de nutrientes adicionados, representados pelas fezes de *L. geometricus*, carcaças de *Tenebrio* e de larvas de *Tenebrio* foi baseado nas equações do modelo linear de mistura de duas fontes (*e.g.*, solo e fezes/carcaças/larvas) com um único elemento ($\delta^{15}\text{N}$) (Phillips & Gregg, 2001). Foram adicionadas nestes cálculos as taxas de fracionamento (*i.e.*, processo de partição de isótopos leves e pesados entre um substrato, fonte, e o produto) que o nitrogênio pode sofrer durante os processos metabólicos das plantas e assimilação. Segundo Phillips & Gregg (2001), a contribuição de uma fonte (f_A) pode ser expressado como:

$$f_A = \frac{\delta_M - \delta_B - \Delta\delta^{15}\text{N}}{\delta_A - \delta_B}$$

Onde, f_A é a proporção da contribuição de fezes de *L. geometricus*, cupins, carcaças de *Tenebrio* ou larvas de *Tenebrio* (%), δ_M é a razão isotópica das plantas que receberam as fezes, cupins, carcaças ou larvas, δ_A e δ_B são as razões isotópicas das fontes de nutrientes e $\Delta\delta^{15}\text{N}$ é a diferença do valor de $\delta^{15}\text{N}$ entre a planta e as fontes. Os valores de

$\Delta\delta^{15}\text{N}$ usados foram $+3,3 \pm 0,26\%$ (média e erro padrão) para as plantas que receberam fezes e $+1,4 \pm 0,2\%$ para as plantas que receberam cupins, carcaças e larvas (McCutchan *et al.*, 2003).

O cálculo para determinar a fração de nitrogênio da planta (% N) proveniente do papelão enriquecido em ^{15}N foi baseado no APE (% atômica de ^{15}N em excesso), de acordo com a seguinte equação:

$$\%N_{\text{papelãoenriquecido}} = \left(\frac{APE_{Pb}}{APE_{\text{papelãoenriquecido}}} \right) \times 100$$

na qual APE_{Pb} ($APE_{Pb} = AP_{Pb} - AP_{\text{controle}}$) e $APE_{\text{papelão enriquecido}}$ ($APE_{\text{papelão enriquecido}} = AP_{\text{papelão enriquecido}} - AP_{\text{controle}}$) são a média de porcentagem de átomos de ^{15}N em excesso para as folhas das ericoidáceas que receberam papelão enriquecido em ^{15}N , e para o $\delta^{15}\text{N}$ do papelão enriquecido, respectivamente. AP é a média da porcentagem de átomos de ^{15}N em excesso para cada amostra.

Análises estatísticas

Os dados referentes à abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) de *P. bromelioides*, *D. aff villosa*, *D. montana*, *Hyptis* sp., *Barbacenia* sp., e *Lychnophora* sp. foram comparados usando ANOVA de fator único para as duas áreas juntas. As espécies foram comparadas entre si usando testes *a posteriori* de Fisher LSD. Para os experimentos de enriquecimento com ^{15}N foi utilizada ANOVA de fator único para comparar os tratamentos e teste *a posteriori* de Fischer LSD. Os valores de contribuição de nitrogênio das amostras adicionadas no fitotelmata, fezes, carcaças e larvas, foram

comparadas estatisticamente utilizando o ANOVA de fator único com teste *a posteriori* de Tukey.

RESULTADOS

Nossos resultados de abundância natural de ^{15}N demonstraram que as folhas das plantas *Paepalanthus bromelioides* apresentaram assinatura isotópica similar ao de *Drosera montana*, embora tenha sido menor que o da outra planta carnívora encontrada na mesma área *Drosera aff villosa* e maior que das plantas referência não carnívoras *Barbacenia* sp., *Lychnophora* sp. e *Hyptis* sp. (Fig. 2, $P < 0,001$; comparações *a posteriori* por Fisher LSD, *P. bromelioides* vs. *D. montana* $P = 0,126$; *D. montana* vs. *D. aff villosa* $P = 0,082$; *D. aff villosa* vs. *Hyptis* sp. $P < 0,001$; *Hyptis* sp. vs. *Lychnophora* sp. $P = 0,155$; *Lychnophora* sp. vs. *Barbacenia* sp. $P = 0,299$). Rosetas de *P. bromelioides* que receberam fezes de aranhas, carcaças de presas e larvas de *Tenebrio* tiveram valores isotópicos superiores às rosetas controle ($F_{3, 34} = 33.30$; $P < 0,001$; Fig. 3A, LSD *a posteriori*, fezes vs. controle $P < 0,001$; carcaças vs. controle $P = 0,001$; larvas vs. controle $P = 0,003$). As folhas de *P. bromelioides* do tratamento com fezes tiveram assinatura isotópica maior que dos tratamentos que receberam carcaças e larvas (Fig. 3A, ANOVA/LSD, fezes vs. carcaças $P < 0,001$; fezes vs. larvas $P < 0,001$), mas entre os tratamentos envolvendo material derivado de *Tenebrio* não diferiram estatisticamente (ANOVA/LSD, $P = 0,67$, Fig. 3A). As fezes enriquecidas tiveram um valor de $\delta^{15}\text{N}$ de $99,1 \pm 4,9$ ‰ (\pm EP), as carcaças tiveram um valor médio de $92,6 \pm 4,0$ ‰ e as larvas de $68,8 \pm 3,3$ ‰. Entre os materiais depositados no fitotelmata de *P. bromelioides*, estimamos, segundo o modelo linear misto de duas fontes, que as fezes contribuíram com $19,0 \pm 3,1\%$ do nitrogênio total da planta, enquanto as carcaças e

larvas contribuíram respectivamente com $7,5 \pm 0,6\%$ e $8,6 \pm 1,1\%$ (Fig. 3B). Os valores de contribuição de fezes foram maiores que os de carcaças e larvas (Fig. 3B, ANOVA/Tukey, fezes vs. carcaças $P < 0,05$; fezes vs. larvas $P < 0,05$), enquanto os valores de contribuição de carcaças e o de larvas não diferiram estatisticamente (Fig. 3B, ANOVA/Tukey, carcaças vs. larvas $P > 0,05$).

Bactérias coletadas nos fitotelmatas das *P. bromelioides* liberam enzimas proteolíticas, e, especificamente, são capazes de degradar guanina. Das quinze culturas de bactérias, duas não cresceram em meio de proteína, e cinco não cresceram em meio de guanina. Além disso, os dois tipos de antibióticos, Cloranfenicol e Tetraciclina, inibiram similarmente as culturas bacterianas (*i.e.*, todas as culturas de bactérias tiveram seu crescimento inibido pelos antibióticos). Ao comparar os tratamentos com mesma fonte de nitrogênio (*i.e.*, fezes e carcaças) na ausência e presença de bactérias, é possível verificar que não houve diferença significativa entre eles (Fig. 4, ANOVA/LSD, fezes vs. fezes + antibiótico = 0,077; carcaças vs. carcaças + antibiótico = 0,294).

Rosetas de *P. bromelioides* associadas a cupinzeiros tiveram valores em abundância natural de $\delta^{15}\text{N}$ superiores aos das rosetas sem associação com cupins (Fig. 5A, Teste T: $F_{1, 17} = 9.11$; $P < 0,007$). No entanto, no experimento realizado em campo, o $\delta^{15}\text{N}$ das folhas de *P. bromelioides* que receberam tiras de papelão enriquecidas na ausência de cupins (adição de inseticida) não diferiu estatisticamente das plantas que também receberam as tiras de papelão enriquecidas e que estavam associadas ao cupinzeiro (Fig. 5B, ANOVA, $F_{2, 24} = 4.25$; $P < 0,05$), e as plantas destes tratamentos possuíram uma assinatura isotópica maior que as plantas controle (papelão não enriquecido) (Fig. 5B, ANOVA/LSD, papelão enriquecido/sem cupim vs. controle =

0,042; papelão enriquecido/com cupim vs. controle = 0,011). No outro experimento, plantas associadas a cupins e que receberam as tiras de papelão enriquecidas, também apresentaram valor isotópico maior que as plantas associadas a cupins e que receberam tiras de papelão não enriquecidas (Fig. 5C, ANOVA: $F_{1,18} = 6.77$, $P = 0,017$). Além disso, não houve diferença significativa entre as assinaturas isotópicas dos térmites coletados nos cupinzeiros com papelão enriquecido comparado aos térmites do tratamento com papelão não enriquecido (4,5‰ e 2,52‰, respectivamente; Teste T: $F_{1,8} = 1.08$, $P = 0,327$) e o papelão apresentou média de $14359,6 \pm 603,30\%$ de $\delta^{15}\text{N}$.

Cálculos de modelo linear misto de duas fontes não foram realizados com os dados de abundância natural de ^{15}N devido a fatores como a quantidade de matéria orgânica que entra no sistema via insetos, predadores, térmites, e alterações climáticas locais que podem influenciar no enriquecimento por ^{15}N .

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostram claramente a existência de um fluxo nutricional de predadores e insetos que habitam e/ou visitam as rosetas de *P. bromelioides* em busca de abrigo e alimento. Entretanto, ao contrário de nossas expectativas iniciais, a presença de bactérias não afetou a absorção de nitrogênio pelas plantas. Adicionalmente, apesar das análises de abundância natural de ^{15}N sugerirem um fornecimento nutricional via cupins às plantas, os resultados dos nossos experimentos de campo realizados não confirmam essa hipótese.

Enquanto fezes de *Latrodectus geometricus* contribuíram com 19% do nitrogênio presente nas folhas de *P. bromelioides*, carcaças e larvas de *Tenebrio*

contribuíram com 7,5% e 8,6%, respectivamente. Estes resultados corroboram nossa hipótese de que predadores como *L. geometricus* e *A. quadrilobata* fornecem grande quantidade de minerais nutrientes gerados durante seu ciclo de vida. Porém, a contribuição de nutrientes deve ser maior, uma vez que outros materiais eliminados por estes organismos como ootecas e exúvias podem se acumular na roseta e serem degradados. Similar a estes resultados, Romero *et al.* (2006) demonstraram que as fezes da aranha *Pseca chapoda* que habita as rosetas da bromélia terrestre *Bromelia balansae* contribuíram com 15% do nitrogênio das folhas da planta, enquanto as carcaças de suas presas (drosófilas) responderam com 3% do nitrogênio total. Em adição, estudos posteriores em outros sistemas envolvendo interações específicas entre aranhas e bromélias já documentadas (Romero & Vasconcellos-Neto, 2004; Romero, 2005), poderiam também identificar o estabelecimento de relações nutricionais entre os parceiros, ou seja, as aranhas poderiam prover nitrogênio para a planta.

As diferenças demonstradas nas contribuições do nitrogênio total da *P. bromelioides* entre fezes e carcaças (19% e 7,5%) possivelmente resultaram das diferenças em suas composições. As aranhas eliminam em suas excretas, compostos nitrogenados simples, como hipoxantina, ácido úrico, adenina e, principalmente guanina (Foelix, 1996) que podem ser diretamente absorvidos pelos tricomas (Romero *et al.*, 2006) e podem resultar em uma maior porcentagem de contribuição para planta. Por outro lado, carcaças e larvas de *Tenebrio* são constituídas de materiais mais complexos, como quitina (Brusca & Brusca, 2007), que devem primeiramente ser degradados a compostos simples para poderem ser absorvidos pelas plantas.

A ocorrência de bactérias proteolíticas em *P. bromelioides*, especificamente que degradam guanina, foi comprovada em experimento desenvolvido em laboratório. No

entanto, nossos resultados demonstraram que na presença destes micro-organismos não houve maior efetividade na absorção de nitrogênio derivado das fezes e carcaças adicionadas. De maneira similar a plantas carnívoras em que são encontradas diversas espécies de inquilinos (*i.e.*, organismos heterotróficos) habitando o fitotelmata (Jaffe *et al.*, 1992; Cochran-Stafira & Ende, 1998), *P. bromelioides* também poderia conter outros organismos agindo na ciclagem de nutrientes, *i.e.*, carcaças e insetos, como larvas de Culicidae (Diptera) e Scirtidae (Coleoptera) (Mendonça, AL, observação pessoal). Embora Butler *et al.* (2008) demonstraram em *Sarracenia purpurea* que a existência de uma cadeia trófica (organismos detritívoros) não tenha favorecido a absorção de nutrientes pelas plantas, alguns estudos sugerem que a existência de bactérias e fungos em espécies de *Nepenthes* e *Sarracenia* tem importância na ciclagem de nutrientes ao secretarem enzimas, no entanto, nenhum estudo especificou sua exata função nem quantificou sua possível contribuição para as plantas (Adlassnig *et al.*, 2010).

Nossos resultados de abundância natural de ^{15}N sugerem a ocorrência de um fluxo de nutrientes do solo, via cupins, para a planta. No entanto, os experimentos de campo demonstram que na presença de cupins não houve diferença na absorção de nitrogênio pela planta em relação aos indivíduos não associados a cupinzeiros. Embora tenhamos detectado uma diferença significativa entre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das folhas de *P. bromelioides* que receberam papelão enriquecido e os tratamentos que receberam papelão não enriquecido, estes valores de enriquecimento foram muito abaixo dos valores correspondentes aos materiais introduzidos. Como estas plantas se desenvolvem juntamente com os termiteiros e apresentam idade média de 15-20 anos, é possível que não tenhamos detectado o fluxo de nitrogênio do solo, via cupins, às plantas, devido ao curto período de tempo do experimento (84 dias no primeiro período e 47 dias no

segundo período). Sabe-se que a composição granulométrica e a quantidade de nutrientes retida em termiteiros são maiores quando estão associados a *P. bromelioides* (Figueira & Vasconcellos-Neto, 1991; Figueira, Vasconcellos-Neto e Romero, dados não publicados), mas provavelmente a velocidade de absorção pelas raízes de nutrientes provenientes do termiteiro (*e.g.*, cupins mortos, dejetos, restos de alimento) e da ciclagem promovida pelos cupins seja mais lenta em relação à ciclagem ocorrida no tanque central.

Embora tenha sido verificado que a atividade dos predadores é uma fonte adicional de nutrientes para as plantas (26,5%, fezes + carcaças), nossos resultados contrastaram com os valores de contribuição de insetos encontrados em *Roridula gorgonias* (70%) (Anderson & Midgley, 2003), e em plantas carnívoras que acumulam água, *Darlingtonia californica* e *Nepenthes mirabilis*, respectivamente, 76% e 61% (Schulze *et al.*, 1997). Apesar disso, a contribuição foi semelhante à *Bromelia balansae* que por ser terrestre e não formar tanque, provavelmente utiliza como fonte principal de nutrientes o solo, e a das plantas carnívoras *Cephalotus follicularis* (26%) que absorve nitrogênio pelas raízes mesmo com os órgãos para carnivoría já desenvolvidos (Schulze *et al.*, 1997), e *Sarracenia purpurea* (10%) que absorve nitrogênio tanto em sua forma inorgânica quanto orgânica (rota alternativa) por meio de deposição atmosférica (Ellison & Gotelli, 2001; Karagatzides *et al.*, 2009). Apesar de não termos captado esse fluxo nos experimentos, *P. bromelioides* provavelmente absorve nutrientes derivados do solo, além de poder assimilar nutrientes dissolvidos no fitotelmata via deposição atmosférica. Portanto, ao avaliar suas características para o hábito carnívoro, *i.e.*, capacidade de absorver nutrientes de animais mortos (*i.e.*, tricomas) e possuir adaptações para atração (*i.e.*, reflexão UV) e captura (*i.e.*, cera sobre folhas e tanque constituído de líquido viscoso) de insetos e a digestão de presas mediada por mutualistas digestivos, *P.*

bromelioides pode ser considerada uma planta carnívora *sensu* Anderson & Midgley (2003).

A sobrevivência de *P. bromelioides* em um habitat com condições ambientais peculiares possivelmente foi favorecida por meio das relações bióticas entre diferentes grupos animais. Predadores associados (*e.g.*, aranhas) às plantas são beneficiados pela disposição foliar que atrai diversos artrópodes que buscam temperaturas mais amenas e mais umidade. Nutrientes em forma de carcaças, restos das presas, rejeitos dos animais que caem no interior das rosetas acumulam-se e são degradados (Figueira e Vasconcellos-Neto, 1991). Bactérias que habitam o fitotelmata podem ser importantes nesse processo de mineralização dos nutrientes depositados disponibilizando-os em compostos que podem ser absorvidos pelas plantas. Embora não tenhamos analisado a existência de outros inquilinos, possivelmente bactérias sejam importantes também na manutenção de uma cadeia trófica, ao disponibilizarem minerais absorvíveis por estes organismos, ou ao se tornarem fontes de alimento para eles (Adlassnig *et al.*, 2010). Cupins associados reduzem a quantidade de material combustível da roseta e misturam ao solo seus excrementos ricos em nutrientes que podem ser aproveitados pelas plantas. Além disso, o cupinzeiro desempenha um importante papel na diminuição dos danos gerados pelo fogo, funcionando como isolante térmico e sua estrutura coesa diminui as perdas de nutrientes por lixiviação (Figueira e Vasconcellos-Neto, 1991).

Como *P. bromelioides* é encontrada em regiões com baixa concentração de nutrientes (Giulietti *et al.*, 1987; Giulietti & Pirani, 1988), a manutenção de mutualismos com predadores como estratégia alternativa para obtenção de minerais limitantes, diminuiria efeitos de variações ambientais no meio. De fato, em nossos experimentos de campo, verificamos que aranhas associadas a rosetas provêm

nitrogênio para a planta (*e.g.*, rejeitos, carcaças). Ainda que estes materiais sejam degradados por bactérias, os nutrientes não são disponibilizados em maior quantidade para as plantas na sua presença, provavelmente outros organismos que podem habitar o fitotelmata desempenham esse papel. Além disso, apesar das *P. bromelioides* estarem sobre termiteiros, a contribuição de cupins não foi detectada, possivelmente a velocidade de ciclagem de nutrientes é menor no solo que no fitotelmata. Embora muitos estudos tenham comprovado a capacidade de plantas hospedeiras absorverem nutrientes derivados de atividades de predadores (Treseder *et al.*, 1995; Anderson & Midgley, 2003; Solano & Dejean, 2004; Romero *et al.*, 2006), este é o primeiro estudo a verificar e quantificar o fornecimento de nutrientes em um sistema envolvendo múltiplos parceiros em mutualismos digestivos. Associações estas que, juntamente com a capacidade de atração, captura e absorção de nutrientes, preenchem as condições necessárias para *P. bromelioides* ser considerada uma planta carnívora.

REFERÊNCIAS

- Adlassnig W, Peroutka M, Lendl T. 2010. Review: Traps of carnivorous pitcher plants as a habitat: composition of the fluid, biodiversity and mutualistic activities. *Annals of Botany*, doi:10.1093/aob/mcq238.
- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Quinta edição, Academic Press, MA.
- Anderson B, Midgley JJ. 2003. Digestive mutualism, an alternate pathway in plant carnivory. *OIKOS*, 102:221-224.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Disponível em <<http://migre.me/3B1fY>>. Acesso em 12 janeiro de 2011.
- de Aquino DC, Santos PM, Filho PRG, Solci CB de M, Batista LAR. 2007. Avaliação do efeito do fipronil sobre a germinação, número de perfilhos e produção de massa seca de *Paspalum regnellii*. 44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.
- Berendse F, Aerts R. 1987. Nitrogen-use-efficiency: a biologically meaningful definition? *Functional Ecology*, 1: 293-296.
- Brusca RC, Brusca GJ. 2007. *Invertebrados*. Segunda edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, BR.
- Butler JL, Ellison AM. 2007. Nitrogen cycling dynamics in the carnivorous northern pitcher plant, *Sarracenia purpurea*. *Functional Ecology*, 21: 835-843.
- Butler JL, Gotelli NJ, Ellison AM. 2008. Linking the brown and green: nutrient transformation and fate in the *Sarracenia purpurea* microecosystem. *Ecology*, 89: 898-904.

- Chapin FS III. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review Ecology Systematic*, 11: 233-260.
- Cochran-Stafira DL, von Ende CN. 1998. Integrating bacteria into food webs: studies with *Sarracenia purpurea* inquilines. *Ecology*, 79: 880-898.
- Darnowski DW, Carroll DM, Plachno B, *et al.* 2006. Evidence of protocarnivory in Triggerplants (*Stylidium* spp.; Styliaceae). *Plant Biology*, 8: 805-812.
- Ellis AG, Midgley JJ. 1996. A new plant-animal mutualism involving a plant with sticky leaves and a resident hemipteran insect. *Oecologia*, 106:478-481
- Ellison AM, Gotelli NJ. 2001. Evolutionary ecology of carnivorous plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 16: 623-629.
- Ellison AM, Gotelli NJ. 2002. Nitrogen availability alters the expression of carnivory in the northern pitcher plant, *Sarracenia purpurea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99: 4409-4412.
- Endres L, Mercier H. 2003. Amino acid uptake and profile in bromeliads with different habits cultivated in vitro. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 181-187.
- Farnsworth EJ, Ellison AM. 2008. Prey availability directly affects physiology, growth, nutrient allocation and scaling relationships among leaf traits en 10 carnivorous plant species. *Journal of Ecology*, 96: 213-221.
- Figueira JEC, Vasconcellos-Neto J. 1991. *Paepalanthus*, cupins e aranhas. *Ciência Hoje*, 13: 20-26.

- Figueira JEC, Vasconcellos-Neto J, Jolivet P. 1994. Une nouvelle plante protocarnivore *Paepalanthus bromelioides* Silv. (Eriocaulaceae) du Brésil. *Revue d'Écologie*, 49: 3-9.
- Foelix RF. 1996. *Biology of spiders*. Segunda edição, Oxford University Press, New York.
- Frank JH, O'Meara GF. 1984. The bromeliad *Catopsis berteroniana* traps terrestrial arthropods but harbors *Wyeomyia* larvae (Diptera: Culicidae). *Florida Entomologist*, 67: 418-424.
- Giulietti, AM, Menezes, NL, Pirani, JR, *et al.* 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. *Boletim de Botânica*, 9: 1-151.
- Giulietti, AM, Pirani, JR. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. No: Heyer WR, Vanzolini PE (Eds), *Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns*, 39–69. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
- Givnish TJ, Burkhardt EL, Happel RE, Weintraub JD. 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous plants to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *The American Naturalist*, 124:479-497.
- Hobbie EA, Macko SA, Williams M. 2000. Correlations between foliar $\delta^{15}\text{N}$ and nitrogen concentrations may indicate plant-mycorrhizal interactions. *Oecologia*, 122: 273-283.

- ICMBio, 2009. *Plano de Manejo do Parque Nacional da Serra do Cipó*. Brasília, encartes 1-4, 772 páginas.
- Jaffe K, Michelangeli F, Gonzalez JM, Miras B, Ruiz MC. 1992. Carnivory in pitcher plants of the genus *Heliamphora* (Sarraceniaceae). *New Phytologist*, 122: 733-744.
- Jolivet P, Vasconcellos-Neto J. 1993. Convergence chez les plantes carnivores. *La Recherche*, 24: 456-458.
- Karagatzides JD, Butler JL, Ellison AM. 2009. The pitcher plant *Sarracenia purpurea* can directly acquire organic nitrogen and short-circuit the inorganic nitrogen cycle. *PloS ONE*, 4 (7): e6164.
- Lambers H, Chapin, FS III, Pons TL. 2008. *Plant Physiological Ecology*. Segunda edição. Springer Science, New York, USA.
- Lima JL, Costa-Leonardo AM. 2007. Recursos alimentares explorados pelos cupins. *Biota Neotropica*, 7 (2): 243-250.
- Link D, Link FM. 2008. Avaliação de doses de Fipronil, aplicadas em área total, no controle da formiga saúva, *Atta sexdens piriventris*, na cultura de milho. 53ª Reunião Técnica Anual de Milho e 36ª Reunião Técnica Anual de Sorgo - RTAMS. EMBRAPA CLIMA TEMPERADO.
- Martinelli LA, Ometto JPF, Ferraz ES, Victoria RL, de Camargo PB, Moreira MZ. 2009. *Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis*. Oficina de Textos, São Paulo.

- Maximo E, Bendassolli JA, Trivelin PCO, Rossete ALRM, de Oliveira CR, Prestes CV. 2005. Produção de sulfato de amônio duplamente marcado com isótopos estáveis ^{15}N e ^{34}S . *Química Nova*, 28: 211-216.
- McCutchan JH, Lewis WM, Kendall C, McGrath CC. 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *OIKOS*, 102: 378-390.
- Phillips DL, Gregg JW. 2001. Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. *Oecologia*, 127: 171-179.
- Rizzini CT. 1997. *Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos*. Segunda edição, Âmbito cultural, São Paulo, BR.
- Romero GQ, Vasconcellos-Neto J. 2004. Spatial distribution patterns of jumping spiders associated with terrestrial bromeliads. *Biotropica*, 36: 596-601.
- Romero GQ. 2005. *Associações entre aranhas Salticidade e Bromeliaceae: história natural, distribuição espacial e mutualismos*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Romero GQ, Mazzafera P, Vasconcellos-Neto J, Trivelin PCO. 2006. Bromeliad-living spiders improve host plant nutrition and growth. *Ecology*, 87: 803-808.
- Schulze ED, Gebauer G, Schulze W, Pate JS. 1991. The utilization of nitrogen from insect captured by different growth forms of *Drosera* from Southwest Australia. *Oecologia*, 87: 240-246.
- Schulze W, Schulze ED, Pate JS, Gillinson AN. 1997. The nitrogen supply from soils and insects during growth of the pitcher plants *Nepenthes mirabilis*, *Cephalotus follicularis* and *Darlingtonia californica*. *Oecologia*, 112: 464-471.

- Solano PJ, Dejean A. 2004. Ant-fed plants: comparison between three geophytic myrmecophytes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 83: 433-439.
- Spomer GG. 1999. Evidence of protocarnivorous capabilities in *Geranium viscosissimum* and *Potentilla arguta* and other sticky plants. *International Journal of Plant Sciences*, 160: 98-101.
- Treseder KK, Davidson DW, Ehleringer JR. 1995. Absorption of ant-provided carbon dioxide and nitrogen by a tropical epiphyte. *Nature*, 375: 137-139.
- Wakefield AE, Gotelli NJ, Wittman SE, *et al.* 2005. Prey addition alters nutrient stoichiometry of the carnivorous plant *Sarracenia purpurea*. *Ecology*, 86: 1737-1743.

Legendas das figuras

Fig. 1. Direção dos possíveis fluxos de nutrientes de animais para *Paepalanthus bromelioides*. Diversos predadores que habitam as rosetas se alimentam de presas e eliminam seus restos, representados pelas carcaças de *Tenebrio*, no tanque central. Além disso, suas fezes, simuladas nos experimentos com fezes de *Latrodectus geometricus*, também são depositados no fitotelmata. Insetos que eventualmente caem no tanque são representados por larvas de *Tenebrio*. Estes materiais podem ser degradados por bactérias que disponibilizariam os nutrientes em formas absorvíveis pelas plantas. Fluxo de nitrogênio do solo para as plantas foi testado com a adição de papelão, fonte de alimento para cupins. Fontes utilizadas nos experimentos são enriquecidas em ^{15}N .

Fig. 2. Abundância natural de ^{15}N de *Paepalanthus bromelioides*, *Drosera montana*, *Drosera aff villosa*, *Hyptis* sp., *Lychnophora* sp., *Barbacenia* sp., fezes de aranha, fezes de gafanhoto, aranhas e insetos. Barras indicam o erro padrão e letras indicam o teste *a posteriori* Fisher LSD ($\alpha < 0,05$).

Fig. 3. (A) $\delta^{15}\text{N}$ de folhas de *Paepalanthus bromelioides* que receberam fezes de *Latrodectus geometricus*, carcaças de *Tenebrio*, larvas de *Tenebrio* enriquecidos e controle (*i.e.*, sem adição de material enriquecido). Barras indicam o erro padrão e letras indicam o teste *a posteriori* Fisher LSD ($\alpha < 0,05$). **(B)** Porcentagem de nitrogênio

de *P. bromelioides* derivado de fezes de *Latrodectus geometricus*, carcaças e larvas de *Tenebrio*. Barras indicam o erro padrão e letras indicam o teste *a posteriori* Tukey ($\alpha < 0,05$).

Fig. 4. $\delta^{15}\text{N}$ de folhas de *Paepalanthus bromelioides* que receberam fezes de *Latrodectus geometricus*, fezes de *Latrodectus geometricus* e antibiótico, carcaças de *Tenebrio* e carcaças de *Tenebrio* mais antibiótico. Material adicionado enriquecido em ^{15}N . Barras indicam o erro padrão e letras indicam o teste *a posteriori* Fisher LSD ($\alpha < 0,05$).

Fig. 5. (A) Abundância natural de ^{15}N de *Paepalanthus bromelioides* associados a cupinzeiros, não associados a cupinzeiros e cupins. Barras indicam o erro padrão. **(B)** $\delta^{15}\text{N}$ de folhas de *Paepalanthus bromelioides* que receberam inseticida e papelão enriquecido, papelão enriquecido e papelão não enriquecido. **(C)** $\delta^{15}\text{N}$ de folhas de *Paepalanthus bromelioides* que receberam papelão enriquecido e papelão não enriquecido. Barras indicam o erro padrão e letras indicam o teste *a posteriori* Fisher LSD ($\alpha < 0,05$).

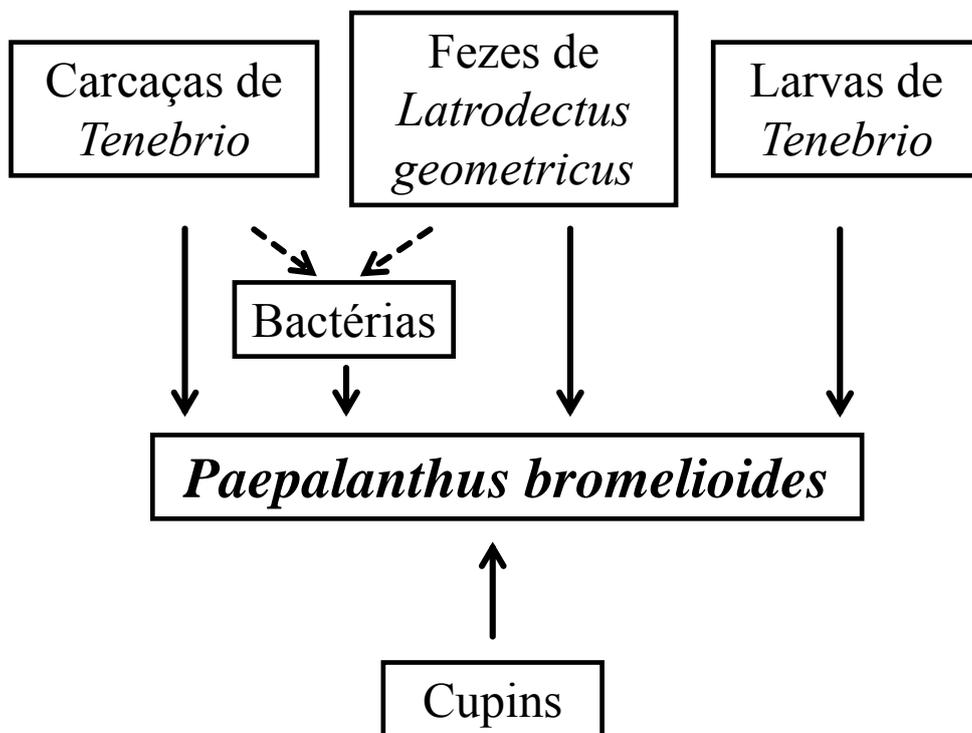


Fig. 1

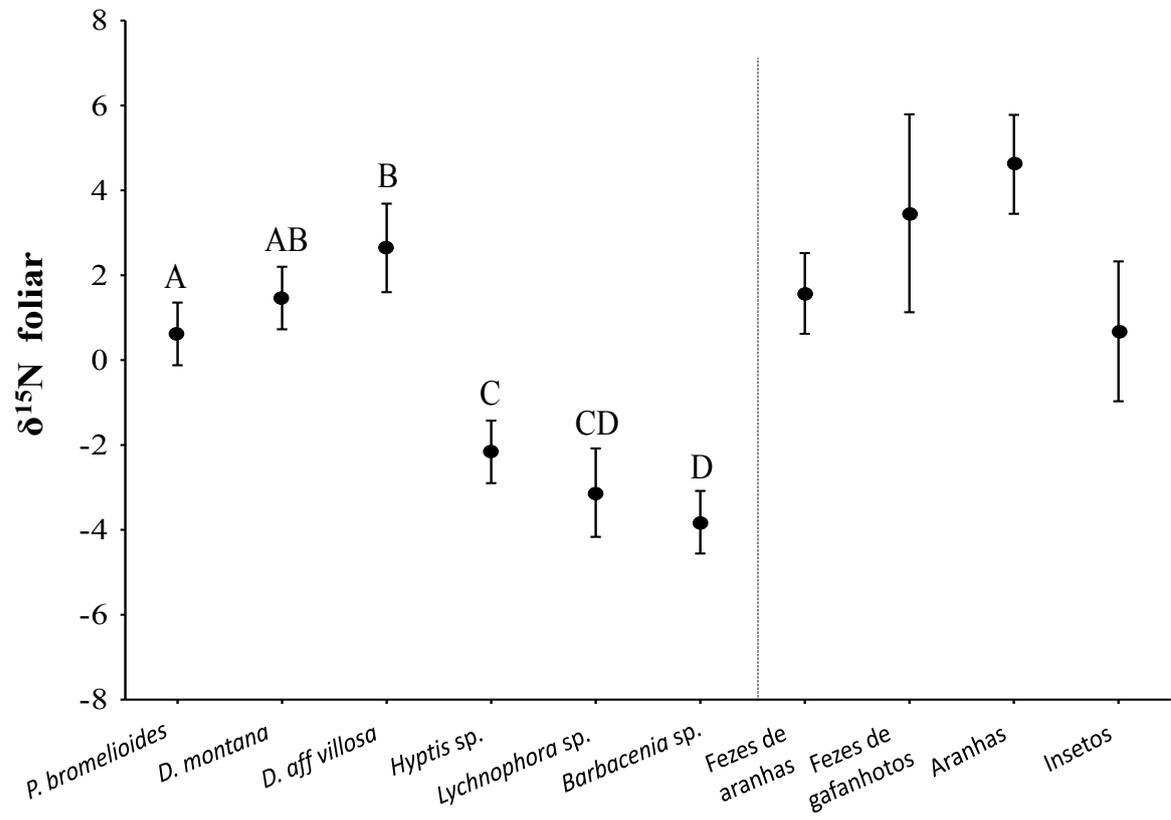


Fig. 2

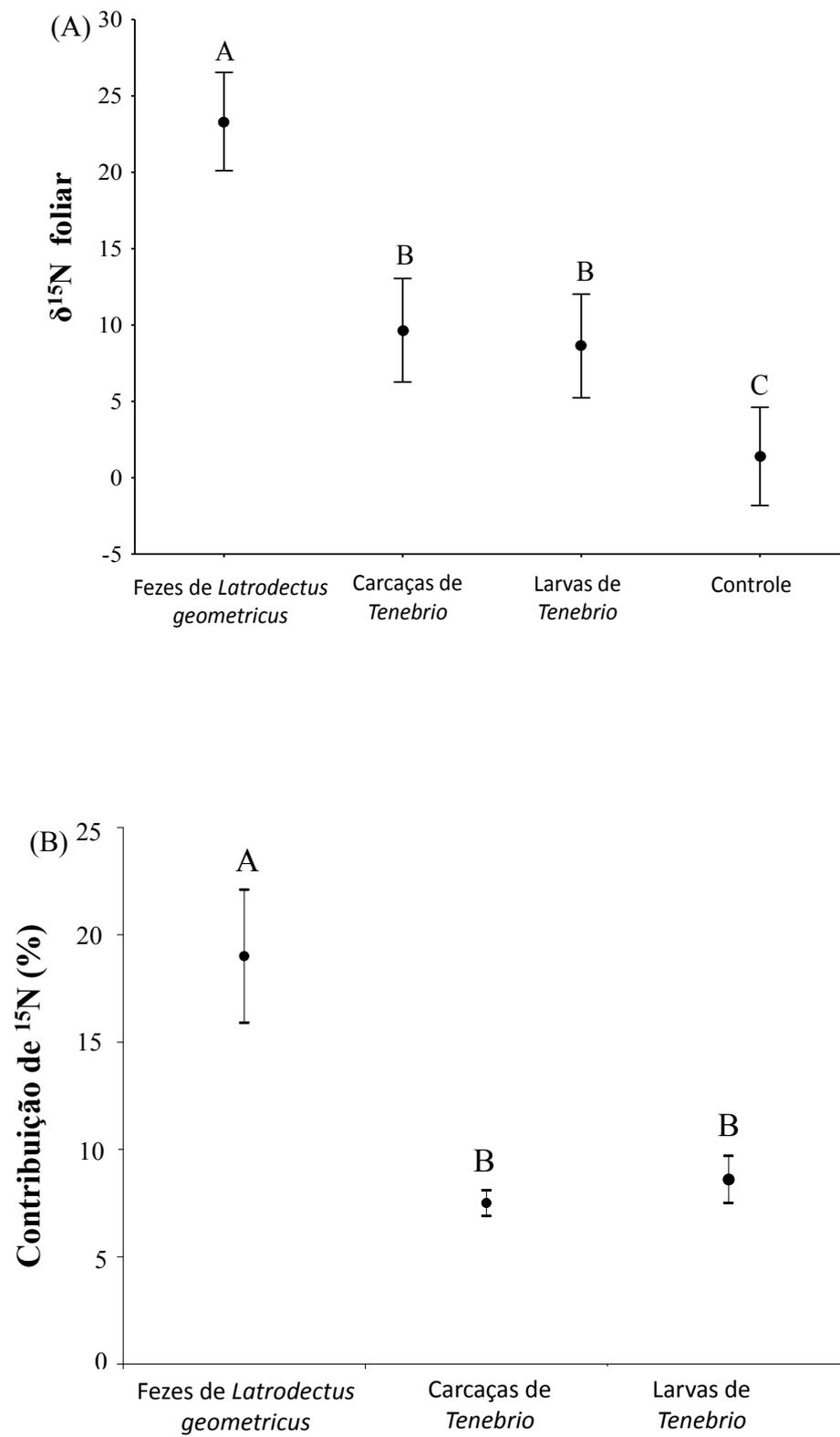


Fig. 3

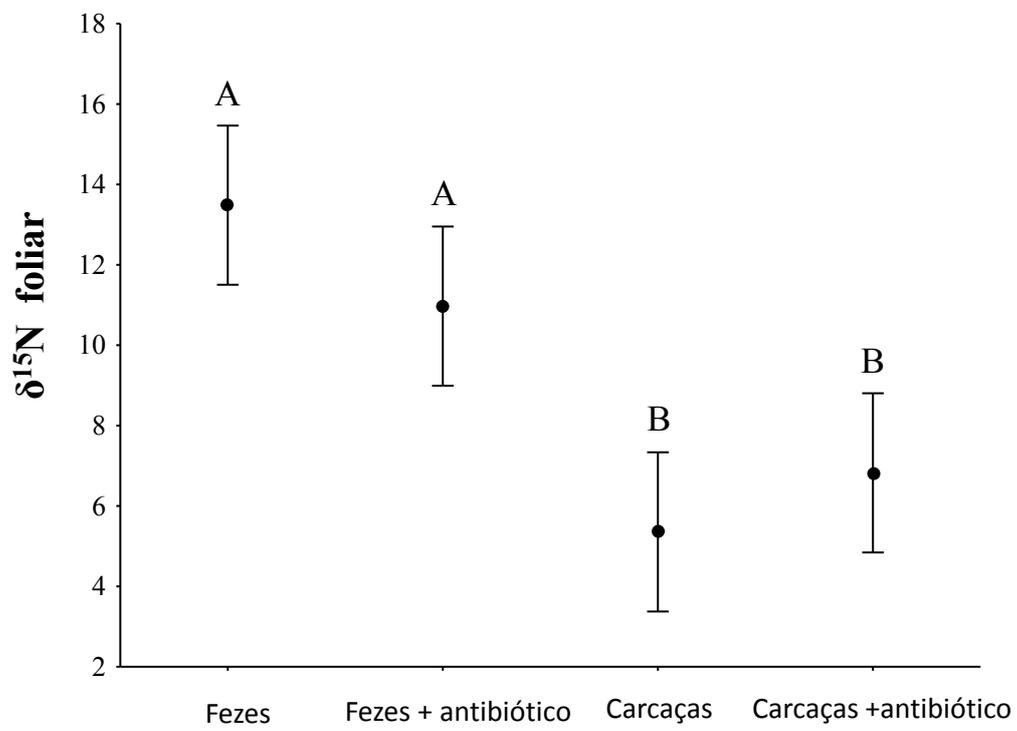


Fig. 4

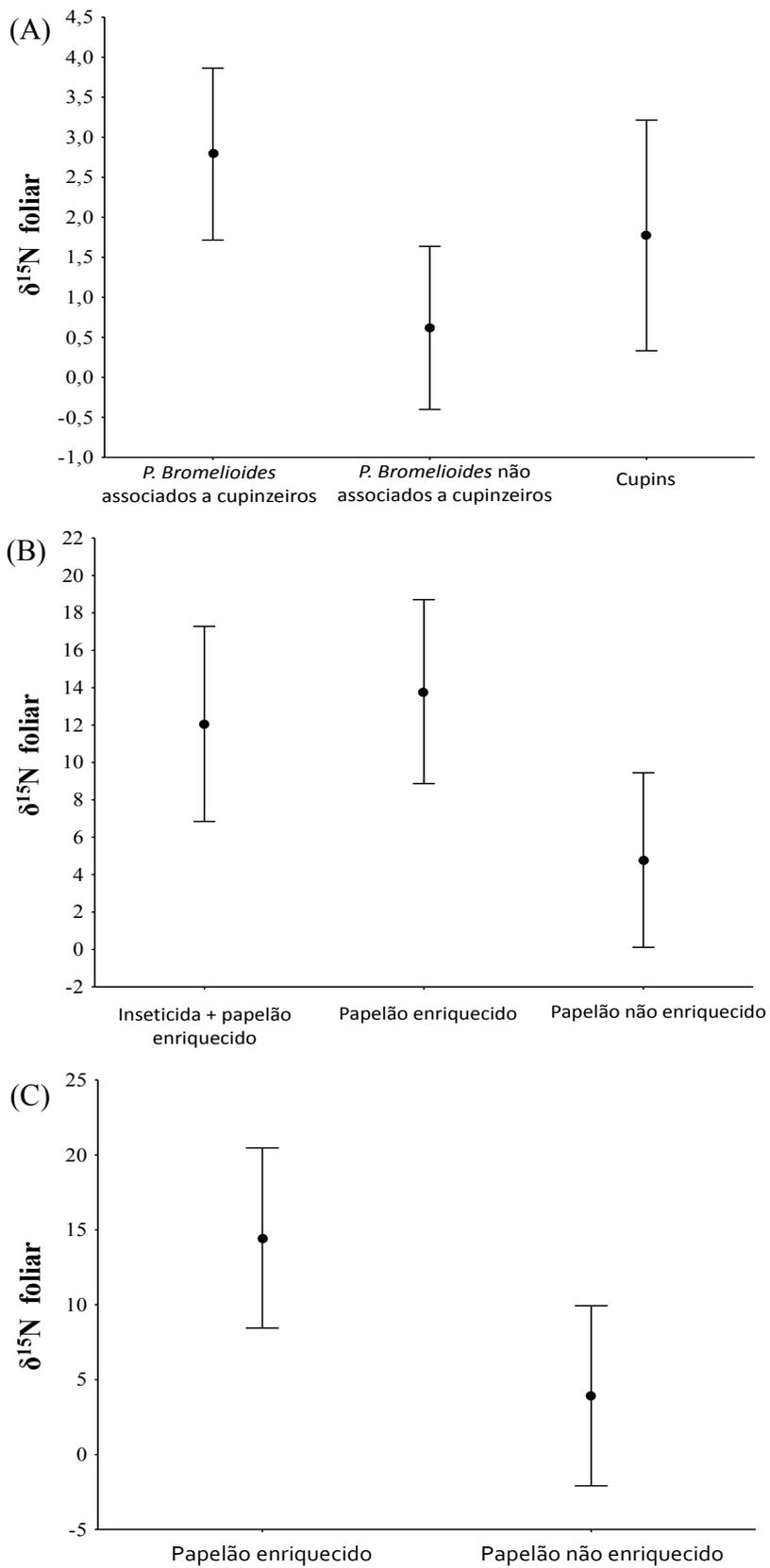


Fig.5

3. SÍNTESE

Neste trabalho realizamos análises de abundância natural de ^{15}N e desenvolvemos experimentos de campo para testar e quantificar as contribuições nutricionais de diferentes fontes para a *Paepalanthus bromelioides*. Além disso, testamos, em experimento de campo, a existência de bactérias proteolíticas e sua efetividade na ciclagem de nutrientes depositados no fitotelmata, refletida na assinatura isotópica das folhas da *P. bromelioides*. Pudemos corroborar a hipótese de contribuição nutricional derivada de predadores, restos de presas e insetos que ocasionalmente visitam a planta e caem no tanque central. Embora demonstramos a presença de bactérias proteolíticas, sua presença não beneficiou a absorção de nitrogênio pelas plantas. Adicionalmente, não confirmamos nossa hipótese de que os cupins contribuem para a nutrição das plantas. Esse é o primeiro estudo a demonstrar a existência de mutualismo digestivo envolvendo múltiplos mutualistas.