

## TESTANDO O ETNOCONHECIMENTO: Verificação da Propagação Vegetativa em Pupunha em duas Comunidades Caboclas na Amazônia Central com Marcadores Moleculares

**Cirlande Cabral da Silva<sup>1</sup>; Spartaco Astolfi Filho<sup>2</sup> e Charles R. Clement<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>cirlandecabral@ig.com.br; <sup>2</sup>sastolfi@ufam.edu.br e <sup>3</sup>cclement@inpa.gov.br

### RESUMO

Embora a pupunha possa ser propagada de duas formas, por via seminal ou por via vegetativa, na prática a propagação é quase exclusivamente por sementes. A abundância de relatos entre populações tradicionais sugere, entretanto, que a propagação vegetativa foi usada ocasionalmente, e ainda hoje os povos tradicionais afirmam praticar esta técnica. Em face dessas observações antagônicas, decidiu-se confirmar a veracidade das declarações dos agricultores de duas comunidades caboclas da Amazônia Central com o estudo do DNA usando a técnica molecular RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso). Nessa análise quinze amostras de pupunha foram coletadas junto a quatro produtores do Estado de Amazonas, sendo quatro amostras de dois sítios do Ramal Nova Esperança, Manacapuru e onze amostras de dois sítios da Estrada de Autazes. Os quatro iniciadores geraram 48 produtos de amplificação úteis (bandas), com uma média de 12 bandas por iniciador. As similaridades de Jaccard mostrou um valor de 0,808. O dendrograma baseado nas similaridades de Jaccard e Distância Genética de Nei mostraram dois grandes grupos. Esses grupos se dispuseram a uma distância de 0.55, que é uma distância esperada entre espécies diferentes e não entre raças dentro de uma espécie. Os demais indivíduos formaram subgrupos sem apresentar ordem aparente.

**Palavras-chave:** Análise Genética. Distâncias Genéticas. Relações Filogenéticas. Conhecimento Tradicional

### ABSTRACT

Although the peach palm can be spread in two ways, for seminal road or for vegetative road, in the practice the propagation is almost exclusively for seeds. The abundance of reports among traditional populations suggests, however, that the vegetative propagation was used occasionally, and still the traditional people affirm today to practice this technique. In face of those antagonistic observations, decided to confirm the truthfulness of the farmers of two community's caboclas of Central Amazônia declarations with the study of the DNA using the molecular technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). In that analysis fifteen peach palm samples they were collected four close to producing of the State of Amazonas, being four samples of two ranches of the Extension New Hope, Manacapuru and eleven samples of two ranches of the Highway of Autazes. The four initiators generated 48 useful amplification products (bands), with an average of 12 bands for initiator. The similarities of Jaccard showed a value of 0,808. The dendrograma based on the similarities of Jaccard and Genetic Distance of Nei showed two great groups. Those groups were disposed at a distance of 0.55, that is a distance waited among different species and don't enter races inside of a species. The other individuals formed subgroups without presenting apparent order.

**Key-words:** afforestation; conflict with power network.

<sup>1</sup>Professor do IFAM, Mestre em Genética e Evolução pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

<sup>2</sup>Professor do UFAM, Pós-Doutor em Eng<sup>a</sup>. Genética pelo Instituto de Ciência e Tec. da Universidade de Manchester /UEA

<sup>3</sup>Doutor em Horticultura (Genética) pela University of Hawaii, Pesquisador do INPA.

## 1. INTRODUÇÃO

Os primeiros povos europeus já se referiam à importância da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth, Palmae) e à sua utilização, que aprenderam com os índios. Acredita-se que sua domesticação começou devido ao interesse por sua madeira, usada para fabricação de instrumentos de caça e de guerra devido sua flexibilidade e dureza (Patiño, 1989). Os Europeus observaram também que outras partes da planta poderiam ser aproveitadas: a raiz como vermífida, o tronco como madeira para a construção de casas e fortificações (Patiño, 1989). As flores masculinas serviam como tempero depois de caírem e seu palmito era consumido ocasionalmente (Clement, 2000). Os frutos das populações silvestres, ricos em óleos, oferecem uma importante fonte de energia, o que poderia ter incentivado sua domesticação como fruteira (Clement et al., 1989).

A pupunha ocupou um lugar de destaque na economia indígena antes da conquista das Américas. Acredita-se que foi tão importante quanto a mandioca (*Manihot sculenta*) e o milho (*Zea mays*) em algumas partes de sua distribuição pré-colombiana (Clement, 1988). Esta era uma palmeira tão importante para os ameríndios que eles saudavam com grandes festas o período de fartura que chegava com cada safra. Ainda hoje, os índios que habitam a região do rio Vaupés, na fronteira com a Colômbia, mantêm esses festejos tradicionais, durante os quais, entre cantos e danças, o fruto é cozido e uma bebida é feita à base de pupunha fermentada, ambos sendo consumidos em quantidade.

Atualmente, a pupunha desempenha um papel secundário nos sistemas de agricultura familiar, sendo usada principalmente para a produção de frutos para a subsistência e pequena comercialização, embora seja importante no agronegócio de palmito (Clement, 2000).

Devido a sua importância na subsistência, os agricultores indígenas desenvolveram técnicas que melhoram a produção de frutos nas suas condições agroecológicas. Supõe-se

que a propagação vegetativa, por meio de seus perflhos, foi uma destas técnicas, pois ela era importante técnica em outras espécies americanas (Denevan, 2001; Patiño, 1965). De fato, os povos indígenas de diversas partes da América tropical têm a reputação de terem praticado a propagação vegetativa de pupunha por separação de perflhos (Hoehne, 1946; Patiño, 1960, 1963, 1965).

Patiño (1963: 147) baseou sua suposição no hábito cespitoso (produção de perflhos). Considerando que a tâmara (*Phoenix dactylifera* L.) é cespitosa e propagada vegetativamente há milênios (Zohary & Spiegel-Roy, 1975); esta suposição parece razoável. O problema é a falta de citações claras, diferente das outras informações sobre a pupunha citadas nas crônicas espanholas. Mesmo assim, Patiño (1965: 156) afirmou que “É tradicional no Guaviare (Colômbia) a multiplicação de pupunha por perflhos, que se separam da planta mãe”, mas não citou uma fonte. Não existem observações diretas do processo como praticado pelos índios ou caboclos, nem uma estimativa da porcentagem de pegamento publicados na literatura sobre a pupunha.

Embora a pupunha possa ser propagada de duas formas, por via seminal ou por via vegetativa (Mora Urpí et al., 1997), na prática a propagação é quase exclusivamente por sementes. Na literatura moderna, Popenoe & Jimenez (1921) foram os primeiros a experimentar com a propagação vegetativa, com poucos resultados. Após estes autores, uma longa sequência de experimentos deram resultados similares: baixa sobrevivência, pouco crescimento e pouco perfilhamento nos sobreviventes (Blaak, 1980). A situação não é diferente hoje. Ou seja, mesmo com ferramentas modernas (terçados, machados de aço) a propagação de perflhos continua sendo difícil.

A abundância de relatos entre populações tradicionais sugere, entretanto, que a propagação vegetativa foi usada pelo menos ocasionalmente e ainda hoje os povos tradicionais afirmam praticar esta técnica. No entanto, observações detalhadas sugerem que não é fre-

quente, pois Clement (obs. pess.) verificou diversas vezes que a cor do fruto da pupunha-mãe não mantém semelhança com a do filho, o que seria obrigatório na propagação vegetativa. Durante uma sequência de entrevistas semi-estruturadas com agricultores dos ramais Nova Esperança e Laranjal, em Manacapuru, bem como nos municípios de Castanho e Autazes, Amazonas, detectou-se que os agricultores afirmavam praticar a propagação vegetativa da pupunha, justificando que sua precocidade e a replicação de características tornavam preferencial esta prática. Essas afirmações seriam esperadas se a propagação vegetativa fosse praticada de fato. Em face destes dois conjuntos de observações antagônicas, foi decidido confirmar a veracidade das declarações dos agricultores com o estudo do DNA das matrizes de pupunha e seus perfilhos usando a técnica molecular RAPD, que tem custo relativamente baixo e pode ser usada para examinar paternidade (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Quinze amostras de pupunha foram coletadas junto a quatro produtores do Estado de Amazonas, Brasil, sendo quatro amostras de dois sítios do Ramal Nova Esperança, Manacapuru (Sítio Jesus me deu, Sr. Pedro - Mãe1 & Filha1; sítio do Sr. Donivaldo - M2 & F2), e 11 amostras de dois sítios da Estrada de Autazes (km 48, Sítio Santo Amaro, Sr. Ernesto) km 47, Sítio Santa Maria, Sra. Maria - M5, M6, M7 & F5, F6, F7). Em cada caso o/a produtor/a afirmou que havia propagado vegetativamente um (ou mais) dos perfilhos coletados.

O DNA foi extraído com o DNAsy Plant Mini-Kit da Quiagen utilizando-se 200 mg de folhas jovens submetidas à maceração com auxílio de pistilo e nitrogênio líquido, obtendo-se em média 30 ng de DNA/ul. Os RAPDs foram obtidos conforme Williams et al. (1990), com modificações. Cada reação de amplificação, em volume final de 30 ul, continha 2 ul de DNA

genômico (5 ng/ul), 3 ul de dNTP (2,5 mM), 3,6 ul de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 5 ul de iniciador (10 ng/ul), 1,5 U de enzima Taq Polimerase (CENBIOT/RS) e 3 ul de Tampão 10X (Tris-HCl 200 mM pH = 8,6; KCl 500 mM). As amostras foram amplificadas em termociclador (Perkin Elmer 9600) programado para uma etapa de 2 min. a 94° C, 40 ciclos de 1 min. a 92° C, 1 min. a 36° C e 2 min. a 72° C, mais 1 etapa de 3 min. a 72° C. Os iniciadores utilizados foram da Operon Technologies (Tabela 1). Os RAPDs foram separados em gel de agarose (1,5%), visualizados com brometo de etídio e fotografados para posterior interpretação.

Bandas monomórficas e polimórficas foram codificadas como presentes (1) ou ausentes (0), baseando-se na resolução e grau de amplificação, como descrito por Grattapaglia (1998), para criar a matriz binária. Gerou-se uma matriz de similaridades de Jaccard entre os indivíduos com o programa NTSYS-pc (Rohlf, 1990), e estimou-se a média e desvio padrão das similaridades. As relações entre os indivíduos foram visualizadas por meio de um dendrograma, usando o algoritmo UPGMA (média aritmética não ponderada).

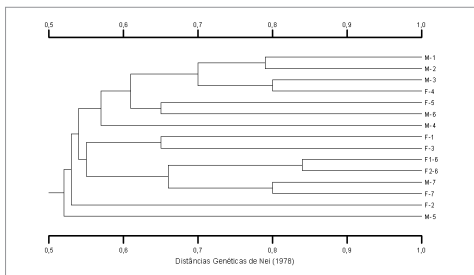
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quatro iniciadores geraram 48 produtos de amplificação úteis (bandas), com uma média de 12 bandas por iniciador (Tabela 1).

Tabela 1- Iniciadores (Operon) usados para gerar marcadores RAPDs das 15 amostras de pupunha (*Bactris gasipaes*), as respectivas sequências de bases nitrogenadas dos iniciadores, e o número de marcadores gerados por iniciador.

Iniciador	Sequência de bases	Número de marcadores
OPA 8	GTGACGTAGC	11
OPA 9	GGGTAAAGCC	15
OPA 18	AGGTGACCGT	12
FC 13	AGACGTCCAC	10

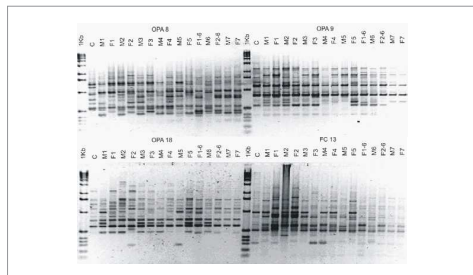
As similaridades de Jaccard entre pares de matrizes e filhos não chegaram perto de 0,95 em nenhum caso, sendo que a maior similaridade foi de 0,87 entre M7 e F7 que é o único par matriz-filha (Figura 1). Os fragmentos (bandas) foram gerados na mesma corrida do termociclador (Figura 2) e separados nos mesmos géis e, portanto, nas mesmas condições, ambos sendo importantes fatores de replicabilidade dos fragmentos (Ferreira & Grattapaglia, 1998).



As similaridades observadas (máximo = 0,808; mínimo = 0,410) são típicas de diferenças entre raças primitivas (Sousa et al., 2001; Rodrigues, 2001), o que sugere que as plantas podem ser de diferentes raças também. Ambos municípios estão fortemente integrados ao mercado de Manaus, onde é fácil obter germoplasma de outras raças primitivas de pupunha.

A matriz de similaridade demonstrou que existem graus de semelhança bastante diversos entre as amostras de pupunha, mas não muito próximos entre si, demonstrando que foram obtidos, possivelmente, por reprodução sexual. Uma outra hipótese sugerida para explicar os resultados obtidos, pode ter sido o afastamento geográfico entre os locais de colheita, que impede a troca de genes entre as plantas através da polinização anemófila ou entomófila, acentuando as suas diferenças genéticas, pois a formação dos dois maiores grupos coincide (quase na totalidade) com as duas áreas de estudo (Autazes e Manacapuru).

Figura 2 - Perfil eletroforético obtido com os iniciadores OPA 8, OPA 9, OPA 18 e FC 13, a partir do DNA de 15 amostras de pupunha (1Kb ladder (Gibco); c= controle).



O dendrograma (Figura – 1), baseado nas similaridades de Jaccard e Distância Genética de Nei (1978) mostrou dois grandes grupos. Esses grupos se dispuseram a uma distância de 0,55, que é uma distância esperada entre espécies diferentes e não entre raças dentro de uma espécie (Sousa, 2001). A distância genética entre esses indivíduos permitiu agregá-los ainda em subgrupos menores baseado em seus graus de semelhança. O primeiro grande grupo corresponde aos indivíduos M1, M2, M3, F4, F5, M6, e M4. O segundo corresponde aos indivíduos F1, F3, F1-6, F2-6, M7, F7, F2 e M5. Os indivíduos M1, M2, M3 e F4 formou um subgrupo único a uma distância considerável de 0,800. Isto sugere que esses indivíduos poderiam pertencer a uma mesma matriz e não de matrizes diferentes como afirmam os agricultores. O mesmo foi observado para o subgrupo F1-6 e F2-6 que se juntaram a uma distância muito similar de 0,830 e uma distância considerada de sua suposta mãe (□ 0,54). Os demais indivíduos formaram subgrupos sem apresentar ordem aparente.

Já os indivíduos M7 e F7, de acordo com o dendrograma de Jaccard e a Distância Genética de Nei (1978), apresentaram uma similaridade de 0,808. Isto sugere que esses indivíduos poderiam ser considerados geneticamente do mesmo grupo. A elevada similaridade entre esses indivíduos, pertencentes ao mesmo agricultor e situados na sua propriedade pode ser explicado pela propagação vegetativa utilizada por esse agricultor.

#### 4. CONCLUSÃO

Embora sete pares de matrizes e filhas não negam a existência de propagação vegetativa em pupunha de outras localidades, nesses quatro sítios podemos afirmar que a propagação vegetativa não ocorreu. Em função da ausência de relatos de observações diretas na literatura, bem como a dificuldade encontrada por pesquisadores modernos (Blaak, 1980), acreditamos que esta prática é rara na região, se é que existe.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

- BLAAK, G. *Vegetative propagation of pejibaye (Bactris gasipaes H.B.K.)*. Turrialba, 30(3):258-261; 1980.
- CLEMENT, C.R. *Pupunha (Bactris gasipaes Kunth, Palmae)*. Série Frutas Nativas, 8, Fundep, Jaboticabal, SP, 2000. 48p
- DENEVAN, W.M. *Cultivated landscapes of native Amazonia and the Andes*. Oxford University Press, Oxford, UK. 2001. 396p.
- FERREIRA, M.E.; GRATAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. Embrapa-CENARGEN, Brasília, DF. 1998. 220p.
- HOEHNE, F.C. *Frutas indígenas*. Instituto de Botânica, São Paulo, SP. 1946. 88p.
- MORA URPI, J.; Weber, J.C.; CLEMENT, C.R. Peach palm. *Bactris gasipaes Kunth. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. 20. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research - IPK, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute - IPGRI, Rome. 1997. 83p.
- PATÍÑO, V.M. *Historia colonial y nombre indígenas de la palma pejibaye (Guilielma gasipaes (H.B.K.) Bailey)*. Revista Colombiana de Antropología 1960. 9: 25-72.
- PATÍÑO, V.M. *Plantas cultivadas y animales domésticos en América Equinoccial*. Tomo I. Frutales. Imprenta Departamental, Cali, Colombia. 1963. 547p.
- PATÍÑO, V.M. *Historia de la actividad agropecuaria en América Equinoccial*. Imprenta Departamental, Cali, Colombia. 1965. 601p.
- POPENOE, W.; JIMENEZ, O. The pejibaye, a neglected food plant of tropical America. *Journal of Heredity*. 1921. 12(4):154-166.
- RODRIGUES, D.B. *Análise das morfo-raças primitivas de pupunha (Bactris gasipaes Kunth) mantidas no Banco Ativo de Germoplasma com marcadores moleculares RAPDs*. 2001. 71p. Tese de Mestrado, Depto. Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 2001.
- ROHLF, F.J. *NTSys-PC - Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.6*. Exeter Software, Setauket, NY. 1990.
- SOUSA, N.R.; RODRIGUES, D.P.; CLEMENT, C.R.; NAGAO, E.O.; ASTOLFI-FILHO, S. *Discriminação de raças primitivas de pupunha (Bactris gasipaes) na Amazônia brasileira por meio de marcadores moleculares (RAPDs)*. 2001. *Acta Amazonica*, 31(4):539-545.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIAVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. *DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful genetic markers*. *Nucleic Acid Research*, 1990. 18:6531-6535.
- ZOHARY, D.; SPIEGEL-ROY, P. *Beginnings of fruit growing in the Old World*. *Science*. 1975. 187:319-327.