

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

ASPECTOS ECOLÓGICOS E GENÉTICOS DA DOMESTICAÇÃO DE
POPULAÇÕES DE *Pourouma cecropiifolia* Mart. DA AMAZÔNIA
OCIDENTAL

HERMÍSIA COÊLHO PEDROSA

Manaus, Amazonas
Agosto, 2017

HERMÍSIA COÊLHO PEDROSA

**ASPECTOS ECOLÓGICOS E GENÉTICOS DA DOMESTICAÇÃO DE
POPULAÇÕES DE *Pourouma cecropiifolia* Mart. DA AMAZÔNIA
OCIDENTAL**

Juliana Schietti

Charles Roland Clement

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional
de Pesquisas da Amazônia como parte dos
requerimentos para a obtenção do título de
Mestre em Biologia (Ecologia) em agosto de
2017.

Manaus, Amazonas
Agosto, 2017



MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA.

Aos 16 dias do mês de agosto do ano de 2017, às 14h00min, no Auditório dos PPG's ECO/ATU/CFT, Campus III, INPA/V8. Reuniu-se a Comissão Examinadora de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: o(a) Prof(a). Dr(a). **Flávia Regina Capelotto Costa**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, o(a) Prof(a). Dr(a). **Rogério Gribel Soares Neto**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, e o(a) Prof(a). Dr(a). **Alberto Vicentini**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, tendo como suplentes o(a) Prof(a). Dr(a). Maristerra Lemes, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, e o(a) Prof(a). Dr(a). Fernando Oliveira Gouvêa de Figueiredo, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, sob a presidência do(a) primeiro(a), a fim de proceder a arguição pública do trabalho de **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO** de **HERMÍSIA COËLHO PEDROSA**, intitulado: "**ASPECTOS ECOLÓGICOS E GENÉTICOS DA DOMESTICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *Pourouma cecropiifolia* Mart. DA AMAZÔNIA OCIDENTAL**", orientado(a) pelo(a) Prof(a). Dr(a). Juliana Schietti, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, e coorientado(a) pelo(a) Prof(a). Dr(a). Charles Roland Clement, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

Após a exposição, o(a) discente foi arguido(a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

APROVADO(A)

REPROVADO(A)

POR UNANIMIDADE

POR MAIORIA

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof(a).Dr(a). FLÁVIA REGINA CAPELLOTTO COSTA

Prof(a).Dr(a). ROGÉRIO GRIBEL SOARES NETO

Prof(a).Dr(a). ALBERTO VICENTINI

Prof(a).Dr(a). MARISTERRA LEMES

Prof(a).Dr(a). FERNANDO O. G. DE FIGUEIREDO

Coordenação PPG-ECO/INPA

P372 Pedrosa, Hermízia Coêlho

Aspectos ecológicos e genéticos da domesticação de populações de *Pourouma cecropiifolia* Mart. da Amazônia Ocidental /Hermízia Coêlho Pedrosa. --- Manaus: [s.n.], 2017.

83 f.: il.

Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2017.

Orientadora: Juliana Schietti

Coorientador: Charles Roland Clement

Área de concentração: Ecologia

1. *Pourouma cecropiifolia*.
2. Domesticação de plantas amazônicas.
3. Diversidade genética. I. Título.

CDD 583.73

Sinopse

Estudamos a domesticação de populações de *Pourouma cecropiifolia* da Amazônia Ocidental. Avaliamos as diferenças e variações nas características morfológicas, alometria de frutos e sementes e o efeito das condições ambientais sobre as características em populações silvestres e domesticadas. Investigamos também as diferenças na diversidade genética e as relações filogenéticas entre populações silvestres e domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*.

Palavras-chave: seleção humana, árvores frutíferas, alometria, efeito ambiental, diversidade genética, centro de origem de domesticação.

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho. Aqui comunico meu agradecimento a elas.

Agradeço inicialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia pela oportunidade de cursar o mestrado. Obrigada a Albertina Lima e a coordenação do curso e, em especial a Val, que foi sempre muito dedicada e muito me ajudou com as questões burocráticas da Pós-Graduação. Sou muito grata também a Flávia Costa, ao Bill, ao Zé Luiz, ao Paulinho, ao Fabrício, ao Thiago André (UFOPA), a Nara Moura, ao Beto Vicentini e todos os professores que contribuíram com a nossa formação ao longo do curso durante as disciplinas, ou que participaram da construção da dissertação, através das bancas e revisão de projeto e manuscritos.

Agradeço ao CNPq pela bolsa de estudos concedida durante os dois anos de curso.

Sou imensamente grata aos meus orientadores, Juliana Schietti e Charles Clement, pelo aceite em me orientar, por todo conhecimento compartilhado e ao tempo e paciência a mim dedicados durante esses dois anos de mestrado, desde a construção do projeto até a conclusão da dissertação.

Agradeço também a Carol Levis pelas diversas conversas e conselhos enriquecedores sobre esse mundo da Ecologia Histórica que muito me inspiraram para os resultados desta pesquisa. Agradeço ainda aos integrantes do Planteco, que muitas vezes discutiram e colaboraram com os resultados da minha pesquisa.

Agradeço a professora Doriane Picanço e todos os integrantes do Laboratório de Evolução Aplicada da UFAM, em particular a Tiara e a Hallana pela paciência em me ensinar as práticas no meu laboratório de genética. Um agradecimento especial a incrível e dedicada Thamiles, que executou muitas etapas do processo de laboratório e análises genéticas da minha pesquisa.

Agradeço a Funai pela autorização do ingresso nas Terras Indígenas. Aos povos indígenas do Alto Solimões/Amazonas pela concessão de realizar essa pesquisa em suas aldeias, por me permitir entrar em suas casas e andar em seus territórios e florestas e por toda a sabedoria compartilhada. A ideia para a execução desta pesquisa se iniciou antes do mestrado ao trabalhar com os indígenas Ticuna. Meu tempo trabalhando junto com eles foi dos mais enriquecedores da minha vida. Por isso, esse trabalho é dedicado especialmente para o povo Ticuna, o maior povo indígena do Brasil. RESISTÊNCIA INDÍGENA, SEMPRE!!!

Agradeço ao pesquisador André Gaglioti pela disponibilização de suas amostras de *Pourouma cecropiifolia* para as análises moleculares e por colaborar com a construção do segundo capítulo. Ao pesquisador Ângelo Manzatto pela coleta e envio de amostras da região do rio Madeira. Ao Dr. Hans ter Steege e a rede de pesquisa Amazon Tree Diversity Network (ATDN) pela disponibilização dos dados de ocorrência e abundância de *Pourouma cecropiifolia* em suas parcelas permanentes.

Um agradecimento especial aos meus assistentes de campo Cláudia Reis Mendonça e Bernardo Cruz Gabriel que estiveram ao meu lado durante uma jornada de mais de 50 dias contínuos nas aldeias Ticunas. Muito obrigada pelo esforço e competência em nosso trabalho.

Agradeço a todos os meus amigos do INPA, especialmente aos parceiros da turma de Ecologia 2015, pelo companheirismo diário e por tornar minha vida em Manaus mais divertida e feliz. Algumas pessoas precisam de agradecimentos especiais. Ao Carlos Alberto, pelas inúmeras vezes que me ajudou com as análises estatísticas e no temido R. Ao Jefferson, Kelly, Ivan, Pantoja, Azeitona, os parceiros da república John Power, que foi um verdadeiro lar, durante esses dois anos longe da família.

À minha família, principalmente ao meus pais, pela formação pessoal incrível que me deram e por todo amor e carinho, que mesmo à distância, acalentaram meus dias longe de casa.

Ao Nicolas, pela compreensão, atenção e amor a mim dedicado. O teu companheirismo foi fundamental para tornar a minha vida mais leve e feliz durante esses mais de dois anos de mestrado.

“A nossa riqueza está na terra. Na terra podemos formar nossas aldeias. Podemos cultivar nossas roças. Nos rios, igarapés e lagos podemos pescar. Na floresta que cobre a terra tem caça, remédios, frutas. Tem madeira para construir a casa. E madeira para construir a canoa. Tem materiais para fabricar os objetos da casa, os brinquedos e os enfeites, as tintas para pintar. Tem materiais para fazer a festa, as máscaras e os instrumentos musicais, para fazer música. Da floresta vêm as histórias para contar e os espíritos que ajudam a curar. Nossa vida anda junto com a floresta”.

Trecho do Livro das Árvores da Organização Geral dos Professores Ticuna Bilíngues

Resumo

O estudo do conjunto dos diferentes aspectos, morfológicos, ecológicos e genéticos que marcam as mudanças geradas com seleção humana, nos fornece informações integradas e robustas sobre a história da domesticação de plantas. Os objetivos desse trabalho foram: i) identificar a magnitude das diferenças entre as populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia* e as populações silvestres encontradas em áreas de floresta adjacentes; ii) avaliar se a seleção humana alterou relações alométricas de frutos e sementes em plantas domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*; iii) investigar se existe relação entre as características morfológicas de *Pourouma cecropiifolia* e variações nas condições ambientais e se essa relação difere entre populações domesticadas e silvestres; iv) quantificar a diferença na diversidade genética entre as populações silvestres e domesticadas de *Pourouma cecropiifolia* e v) identificar o centro de origem de domesticação de *Pourouma cecropiifolia* baseada na diversidade cloroplastidial. Para responder as questões do estudo, nós comparamos características morfológicas de frutos e sementes entre populações silvestres e domesticadas para quantificar os efeitos diretos da domesticação. Para entender o efeito correlacionado da seleção humana e da seleção natural, quantificamos as diferenças nas características da planta inteira, avaliamos os efeitos da seleção artificial sobre a alometria de frutos e sementes e investigamos a relação entre as características e as condições ambientais. Para avaliar os efeitos genéticos da domesticação, quantificamos a diversidade e a diferenciação genética entre os grupos silvestres e domesticados de *Pourouma cecropiifolia* usando sequências de DNA de cloroplasto. Nas plantas domesticadas, os frutos tiveram dobro de polpa comestível e massa 20x maior do que os frutos das plantas silvestres. Os valores de razão altura:diâmetro da planta e densidade da madeira foram 42.15% e 21.74% respectivamente maiores nas populações silvestres. As populações domesticadas apresentaram maior variabilidade morfológica em características sob seleção direta: tamanho e massa de frutos, sementes e polpa. A atuação conjunta entre a seleção natural e a seleção humana modificou o padrão esperado na alometria entre a massa da semente e a massa do fruto, devido aos efeitos contrastantes entre os filtros ambientais, que promovem a redução da semente e a seleção humana, que promove o aumento da semente. As variações ambientais não tiveram efeito significante quando comparadas aos efeitos da seleção humana sobre as mudanças morfológicas associadas a domesticação. As populações domesticadas foram geneticamente menos diversas que as populações silvestres. A relação entre as linhagens sugere que a domesticação de *Pourouma cecropiifolia* se originou no Alto Solimões.

Abstract

The study of the different aspects, morphological, ecological and genetic that mark the changes generated with human selection, provides integrated and robust information about the plant domestication history. The objectives of this study were: i) identify the magnitude of the differences between the domesticated populations of *Pourouma cecropiifolia* and the wild populations located in adjacent forests; ii) evaluate whether human selection altered fruits and seeds allometric relationships in domesticated plants of *Pourouma cecropiifolia*; iii) investigate if there is a relation between the morphological characteristics of *Pourouma cecropiifolia* and variations in the environmental conditions and whether this relationship differs between domesticated and wild populations; iv) quantify the difference in genetic diversity between the wild and domesticated populations of *Pourouma cecropiifolia* and v) identify the *Pourouma cecropiifolia* domestication origin center based on chloroplastidial diversity. To answer the study questions, we compared the fruits and seeds morphological characteristics between wild and domesticated populations to quantify the direct effects of domestication. To understand the correlated effect between human selection and natural selection, we quantify the differences in the characteristics of the whole plant, evaluated the effects of artificial selection on the fruits and seeds allometry, and investigate the relation of the characteristics with the environmental conditions. To evaluate the domestication genetic effects, we quantified the diversity and genetic differentiation between the wild and domesticated groups of *Pourouma cecropiifolia* using chloroplast DNA sequences. In the domesticated plants, the fruits had double edible pulp and 20x greater mass than the wild plants fruits. The values of plant height: DBH ratio and wood density were, respectively, 42.15% and 21.74% higher in the wild populations. The domesticated populations showed greater morphological variability in characteristics under direct selection: size and mass of fruits, seeds and pulp. The combined action of natural selection and human selection modified the expected pattern in the allometry between seed mass and fruit mass, due to the contrasting effects between environmental filters, which promote seed reduction and human selection, which promotes the seed increase. Environmental variations did not have a significant effect when compared to the effects of human selection on the morphological changes associated with domestication. The domesticated populations were 32% less diverse than wild populations. The relation between the lineages suggests that the domestication of *Pourouma cecropiifolia* originated in Alto Solimões.

Sumário

Lista de Figuras.....	ix
Introdução Geral.....	1
Objetivos.....	2
Capítulo I. THE DOMESTICATION OF THE AMAZON TREE GRAPE (POUROUMA CECROPIIFOLIA) UNDER ECOLOGICAL LENS.....	3
INTRODUCTION.....	5
MATERIAL AND METHODS.....	7
RESULTS.....	9
DISCUSSION.....	10
CONCLUSIONS.....	14
REFERENCES.....	15
Capítulo II. DIVERSIDADE DO DNA CLOROPLASTIDIAL SUGERE CENTRO DE ORIGEM DE DOMESTICAÇÃO DE POUROUMA CECROPIIFOLIA NA AMAZÔNIA OCIDENTAL.....	27
INTRODUCÃO.....	30
MATERIAL E METÓDOS.....	33
RESULTADOS.....	37
DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
Síntese.....	55
Referências Bibliográficas.....	56
APÊNDICE A – MATERIAL SUPLEMENTAR DO MANUSCRITO EM PREPARAÇÃO PARA <i>Functional Ecology</i> (Capítulo I).....	65

Lista de Figuras

Capítulo I.

Figura 1.....	19
Figura 2.....	20
Figura 3.....	21
Figura 4.....	23
Figura 5.....	24
Figura 6.....	25

Capítulo II.

Figura 6.....	47
Figura 7.....	53

Introdução Geral

A domesticação de plantas é um processo evolutivo (Harlan, 1992), no qual a seleção humana leva populações de plantas cultivadas a divergir morfológica e geneticamente de seus progenitores silvestres (Clement, 1999; Pickersgill, 2007; Miller & Gross, 2011). O conjunto de traços que marcam a divergência de populações de plantas domesticadas de seus progenitores silvestres é definido como a “síndrome de domesticação” (Harlan, 1992). Os traços mais comuns da síndrome de domesticação em plantas são as mudanças nos compostos secundários, seguido por alterações na morfologia das partes vegetativas aéreas e alterações nos frutos (Pickersgill, 2007; Meyer *et al.*, 2012). Uma abordagem recente, focada em aspectos ecológicos, sugere que, além das alterações nas partes domesticadas, ocorrem mudanças em outros órgãos das plantas domesticadas, que não estão sob seleção direta, devido a correlação entre as características da planta inteira e do efeito das condições ambientais sobre o fenótipo das populações domesticadas (Milla *et al.*, 2015). Além dos aspectos morfológicos e ecológicos, outro aspecto marcante da domesticação em plantas é a redução da diversidade genética das populações domesticadas quando comparada às populações silvestres, devido ao pequeno número de indivíduos selecionados da população silvestre original que são levados para colonizar um novo ambiente (Nei, Maruyama & Chakraborty, 1975; Zohary, 2004; Zeder *et al.*, 2006). Portanto, estudar o conjunto dos diferentes aspectos morfológicos, ecológicos e genéticos que marcam as mudanças geradas com a seleção humana nos fornece informações integradas e robustas sobre a história da domesticação de plantas.

No primeiro capítulo, utilizamos uma abordagem ecológica para testar a magnitude das diferenças entre as populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia* e as populações silvestres encontradas em áreas de floresta adjacentes. Também avaliamos a alteração das relações alométricas de alocação de recursos em plantas domesticadas, e as relações entre as características morfológicas de *Pourouma cecropiifolia* e variações nas condições ambientais. No segundo capítulo, quantificamos a diferença na diversidade genética entre as populações silvestres e cultivadas de *Pourouma cecropiifolia* e identificamos as relações entre as linhagens silvestres e domesticadas para a encontrar o centro de origem de domesticação de *Pourouma cecropiifolia* baseada na diversidade cloroplastidial.

Objetivos

Objetivo Geral

Investigar os aspectos ecológicos e genéticos da domesticação de populações de *Pourouma cecropiifolia* da Amazônia Ocidental.

Objetivos Específicos

- Identificar se as populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia* possuem características morfológicas distintas em relação às populações silvestres encontradas em áreas de floresta adjacentes e, em caso afirmativo, quantificar a magnitude dessas diferenças;
- Verificar se a seleção humana aumentou a variabilidade fenotípica de características sob seleção em populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*;
- Avaliar se a seleção humana alterou relações alométricas de alocação de recursos em plantas domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*;
- Investigar se existe relação entre as características morfológicas de *Pourouma cecropiifolia* e variações nas condições ambientais e se essa relação difere entre populações domesticadas e silvestres;
- Quantificar a diferença na diversidade genética entre as populações silvestres e domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*;
- Identificar o centro de origem de domesticação de *Pourouma cecropiifolia* baseada na diversidade cloroplastidial.

CAPÍTULO I.

Pedrosa H. C.; Clement C. R. & Schietti J.

**The domestication of the Amazon tree grape
(*Pourouma cecropiifolia*) under ecological lens.**

Manuscrito submetido para *Functional Ecology*.

The domestication of the Amazon tree grape (*Pourouma cecropiifolia*) under an ecological lens

Tree grape domestication under an ecological lens

Hermísia C. Pedrosa^{* a}, Charles R. Clement^b and Juliana Schietti^a

^a Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Avenida André Araújo, 2936, Manaus, AM, Brazil

^b Coordenação de Tecnologia e Inovação, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Avenida André Araújo, 2936, Manaus, AM, Brazil

* Corresponding author: hermisia.pedrosa@gmail.com

Summary

Domestication studies traditionally focus on the differences in morphological characteristics between wild and domesticated populations that are under direct selection, the components of the domestication syndrome. Here, we consider that other aspects can be modified, because of the interdependence between plant characteristics and the forces of natural selection. We investigated the domestication of *Pourouma cecropiifolia* populations in Western Amazonia, using an ecological approach. We compared fruit characteristics between wild and domesticated populations to quantify the direct effects of domestication. To examine the characteristics that are not under direct selection and the correlated effects of human selection and natural selection, we investigated the differences in vegetative characteristics, changes in seed:fruit allometric relations and the relations of these characteristics with variation in environmental conditions summarized in a Principal Component Analysis. Domestication generated great changes in fruit characteristics, as expected in fruit crops. The fruits of domesticated plants had 20x greater mass and twice as much edible pulp as wild fruits. The plant height:DBH ratio and wood density were, respectively, 42.15 % and 21.74 % smaller in domesticated populations, probably in response to greater luminosity and higher sand content of the cultivated landscapes. Seed:fruit allometry was modified by domestication: although domesticated plants have heavier seeds, the domesticated fruits have proportionally (46 %) smaller seed mass compared to wild fruits. The high light availability and poor soils of cultivated landscapes may have contributed to seed mass reduction, while human selection promoted seed mass increase in correlation with fruit mass increase. These contrasting effects generated a proportionately smaller increase in seed mass in domesticated plants. In this study, it was not possible to clearly dissociate the environmental effects from the domestication effects in changes in the morphological characteristics, because the environmental gradient also represents a gradient of human management. However, an environmental variable that is less correlated with human management, specifically potassium, suggested phenotypic plasticity of wood density, a characteristic not associated with the domestication of fruit trees. Our results suggest that evaluation of environmental conditions together with

human selection on domesticated phenotypes provide a better understanding of the changes generated by domestication in plants.

Key words: allometry, Amazonia, domestication syndrome, ecological perspective, environmental effects, perennial fruit crop.

Introduction

Plant domestication resulted in populations more useful to humans and better adapted to cultivated landscapes (Harlan, 1992; Clement, 1999). Although humans have domesticated populations of many species, currently only 12 annual crops account for 75 % of world food consumption (FAO, 2004). In the tropics, however, many fruit trees were domesticated in different degrees (Miller and Gross, 2011; Meyer et al., 2012), and in the Amazonia, most species with domesticated populations are fruit trees (Clement, 1999). One of these species is the Amazon tree grape (*Pourouma cecropiifolia*, Urticaceae), a fruit species especially popular among the Ticuna people of Brazil, Colombia and Peru. Wild populations occur in the Amazon basin in both floodplain and upland (terra firme) forests (Figure 1). Because of its ample distribution across different ecosystems that provide different selective pressures, and because it is used by many indigenous peoples and traditional communities, it is possible that the *P. cecropiifolia* domestication syndrome has been influenced by factors other than only human selection, especially ecological factors. In our study, we examined wild and domesticated populations of *P. cecropiifolia* to evaluate the effects of human selection, the environment, and their interactions on fruits, seeds e vegetative characteristics (Preece et al., 2017).

Domestication studies traditionally approach the differences and variation in morphological and genetic aspects between wild and domesticated plants populations (Harlan, 1992; Clement, 1999; Miller and Gross, 2011). However, a focus only on domesticated characteristics can limit the understanding of the interaction between human selection and natural selection. Because natural selective forces act on the phenotypes along with human selection, the set of characteristics that marks the divergence between domesticated and wild plants, the domestication syndrome, is probably more diverse than understood in classic domestication studies (Milla et al., 2015; Preece et al., 2017). A look at the ecological mechanisms that continue to act during the domestication process considers characteristics that are and are not under human selection and the correlations between characteristics. An ecological approach also allows the identification the relations between morphological characteristics and environment conditions and evaluation of the integrated effect of domestication and the environment on phenotypic plasticity of the characteristics directly or indirectly modified by human selection. Therefore, considering ecological aspects can generate a more complete and integrated understanding of the domestication process (Milla et al., 2015).

In trees, the domestication process begins with population management in their natural environment (Rindos, 1984; Smith, 2011). Subsequently, individuals with the most desirable morphological characteristics are selected and cultivated in domesticated landscapes (Clement, 1999; Smith, 2011; Levis et al., 2017). Growing conditions under cultivation and directional selection lead the domesticated plant populations to diverge morphologically and genetically from their wild progenitors (Miller and Gross, 2011; Pickersgill, 2007). The genetic variability of populations under selection is reduced due to founder events (Nei et al., 1975) caused by the selection of a few individuals and a

restricted gene pool in the next generation (Miller and Gross, 2011). In contrast, the phenotypic variability of the characteristics under selection in domesticated populations may increase in comparison with wild populations (Clement, 1999; Meyer and Purugganan, 2013).

Changes in the morphology of aerial vegetative parts, fruits and seeds are among the most common characteristics of the plant domestication syndrome (Meyer et al., 2012). In herbaceous plants, increases in leaf and whole-plant size are observed (Milla and Morente-López, 2014). In fruit trees, fruit and seed “gigantism” is very frequent (Meyer et al., 2012). These changes in the useful parts’ sizes and in the whole-plant size occur due to changes in biomass allocation patterns in and among the parts of interest (Milla et al., 2015). The increase in certain plant organs or parts caused by domestication can lead indirectly to changes in size of other plant parts due to allometric or biophysical relationships. In this case, any increase in allocation to an organ should be complemented by a proportional increase to the other organ or it has a cost to the other organ (Kleyer and Minden, 2015). Allometric relationships were analyzed in five herbaceous species and it was observed that plants selected to have larger leaf areas invested less in leaf blade biomass, but invested in larger petioles and other supporting structures, leading to larger plant sizes (Milla and Matesanz, 2017). For fruits and seeds, some allometric relationships are well known; for example, plants that have fruits with larger seeds have a smaller number of seeds per fruit (Niklas, 2004). However, to our knowledge, there are no studies about the allometric relationships in fruit trees to explain the fruit and seed size changes generated by domestication. The changes in fruit and seed allometric relationships might be a signature of food plant domestication, and, if observed for several species, can be a parameter to identify fruit species domestication in future research.

In addition to human selection, the environmental conditions where domesticated plants develop also generate selective pressures that affect their phenotypes (Harlan, 1992; Rindos, 1984). Knowledge of local environmental conditions will help us to evaluate whether they are favorable, unfavorable or do not interfere with human selection. This will help us to understand what is a direct result of domestication and what is a reflection of the interaction between human selection and environmental variations, which results in a phenotypic plasticity response (Schlichting and Levin, 1986; Scheiner, 1993; Gratani, 2014). When plants are cultivated, humans modify the landscape to create environmental conditions that reinforce the characteristics of interest and that favor the harvesting process. Farmers typically change soil fertility, light availability and reduce competition through the thinning of neighboring plants (Harlan, 1992; Clement, 1999). For example, the increase in available light and in soil fertility can generate an increase in the size of fruits, contributing to human interest. This can also affect other characteristics that are not under human selection, such as characteristics of leaves and roots, wood density and plant height, which respond to soil and light conditions and can be modified indirectly by domestication due to changes in the environmental conditions caused by human management in the landscape.

In this study, we investigated the domestication process of *Pouteria cecropiifolia* populations in Western Amazonia, where cultivated populations with large fruits occur. We use the traditional approach (focused on differences and variation in morphological characteristics under selection) allied with an ecological approach (human selection effects on allometry and the relations of morphological characteristics with the environment) to answer the following questions: (i) do domesticated populations have distinct morphological characteristics in contrast to wild populations located in adjacent forests and, if so, what is the magnitude of these differences? (ii) has

human selection increased the phenotypic variability of characteristics under selection in domesticated populations? (iii) has human selection altered fruit and seed allometric relationships in domesticated plants? and (iv) what is the importance of environmental conditions in explaining the variation in morphological characteristics in wild and domesticated populations?

Material and Methods

Study area

This study was conducted in eight Ticuna indigenous communities, along approximately 400 km of the upper Solimões River in western Brazilian Amazonia (Figure 1). The Ticuna people are the largest indigenous group in Brazil and are distributed in three countries: Brazil, Colombia and Peru. In Brazil, their communities are located in the state of Amazonas and are distributed along both margins of the Solimões River and its tributaries, where our sampling was performed. The upper Solimões River was chosen as the study area because it has a high concentration of cultivated *P. cecropiifolia* populations and is considered to be the center of domestication (Clement, 1989; Clement et al., 2010). In this region, cultivated populations occur in terra firme areas and wild populations occur in adjacent floodplain forests.

Sampling design and trait measurements

In each of the eight communities, we sampled 10 adult plants in a terra firme area under cultivation (domesticated population) and 10 adult plants in a nearby forested area (wild population); three kilometers was the average distance between paired populations. The paired sampling model follows Dawson et al. (2008), who studied domestication of *Inga edulis* in Western Amazonia. For each individual plant we measured the following morphological characteristics: (i) number of fruits per bunch (mean of five bunches), (ii) fruit length (cm), (iii) fruit diameter (cm), (iv) fruit mass (g), (v) seed mass (g), (vi) peel mass (g), (vii) pulp mass (g) - by difference (iv - v - vi), (viii) pulp:fruit mass ratio - ratio vii:iv, (ix) seed:fruit mass ratio - ratio v:iv, (x) diameter at breast height (DBH) (cm), (xi) plant height (m), to determinate the (xii) plant height:DBH ratio (m/cm) and (xiii) branch wood density (g/cm^3). For fruit and seed metrics, we used two fruits from each of the five bunches. DBH was measured at 1.30 m above ground level. Plant height was estimated using a hypsometer (Vertex Laser VL400 Ultrasonic-Laser Hypsometer III, Haglöf of Sweden). Wood density was determined by the ratio between the dry weight and wet volume of a lateral terminal branch section, with approximately two centimeters in diameter. The wood samples had the wet volume measured by water displacement and were dried for 72 h at 105 °C.

Environmental conditions

We collected 300-g soil samples in the 0-30 cm layer close to each tree sampled. The 10 individual samples from each population were dried, homogenized and mixed in the laboratory to make a composite sample that represented the soil of each population. The composite sample was analyzed to evaluate phosphorus, potassium, calcium, and magnesium concentrations (EMBRAPA, 1997). The clay, sand and silt content were determined by granulometric analysis to characterize soil texture (EMBRAPA, 1997).

Light availability was estimated for each tree and averaged over the population. We used the Crown Illumination Index, which describes the environment luminosity inside the forest, in a scale ranging from 1, where there is diffuse incident light, up to 4, where there is direct light on the canopy (Keeling and Phillips, 2007).

Statistical analyses

To evaluate the morphological differences between domesticated and wild individuals, we compared the means and amplitudes of variation of 10 characteristics using Kernel density graphs, performed in R (R Core Team, 2016). A Principal Component Analysis (PCA) of the 10 morphological characteristics was also used to evaluate the differentiation between wild and domesticated individuals, and to evaluate which characteristics are most strongly correlated with domestication, performed in R. To identify and classify groups, and to evaluate the phenotypic variability of wild and domesticated populations, we performed a cluster analysis based on Normal Mixture Modeling, performed with the *mclust* package (Fraley et al., 2012; Fraley and Raftery, 2002) in R. The phenotypic variability was evaluated through the variances of the groups generated with the cluster analysis.

To evaluate whether domestication altered allometric patterns of fruit components, we used data from the literature of 74 non-domesticated species with drupe fruits like those of *P. cecropiifolia* (Ibarra-Manriquez and Oyama, 1992; Chen et al., 2010; Shiels and Drake, 2011; Bentos et al., 2012). We adjusted Niklas' (1994) model of the relationship between fruit mass and seed mass for these non-domesticated species (including non-domesticated *P. cecropiifolia* populations), and used this model for domesticated *P. cecropiifolia* individuals ($n = 80$). We then compared their *shape factors* (exponent of the potential relation between variables) and *scaling factors* (intercept of the potential relation between variables). The differences between the two equations were evaluated by the overlap of the confidence intervals of the shape and scaling values. These non-linear regression analyses were done in the *qpcR* package (Spiess, 2014) in R.

To evaluate the effect of environmental conditions on the 10 morphological characteristics, compare the environmental effects with the domestication effects on the characteristics, and evaluate the combined effect of the environmental gradient and domestication, we used path analysis. The environmental conditions were represented as an environmental gradient summarized through of a Principal Component Analysis (PCA), which included Crown Illumination Index (Keeling and Philips, 2007), soil texture (clay, sand and silt contents), nutrients individually (calcium, magnesium, potassium and phosphorus) and the sum of bases. Domestication was treated as a categorical variable: wild vs domesticated. For path analysis, we did linear regressions (i) to measure the direct effect of domestication on the characteristics, (ii) to measure the direct effect of the environmental gradient on the characteristics; and (iii) to measure the effect of domestication on the environmental gradient. To measure the effect of domestication via environment (indirect effect of domestication due to changes in the environmental conditions caused by human management of the landscape), we multiplied the standardized coefficient of the domestication effect on the environmental gradient and the standardized coefficients of the direct effect of the environmental gradient on the each characteristic (Olobatuyi, 2006). The standardized coefficients of the linear regressions were used in the path analysis to evaluate the magnitude of the effects on the characteristics. To evaluate the individual effect of environmental

variables, we performed simple linear regressions between each environmental variable and each morphological characteristic. All analyses were run in R.

Results

Morphometry and domestication syndrome

The domesticated *Pourouma cecropiifolia* populations presented larger size and mass of fruits and seeds than the wild populations (Figure 2, Table S1). Domesticated fruits had 20x greater mass than wild fruits. About 64 % of the domesticated fruit is composed of edible pulp, compared to only 34 % in wild fruits (Table S1). On the other hand, the average values of fruits per bunch, plant height:DBH ratio and wood density were 24.8 %, 42.1 % and 21.7 % higher in wild populations, respectively (Table S1).

The first axis of the Principal Component Analysis with the 10 morphological characteristics (Figure 3) explained 73.7 % of the data variation and clearly differentiated wild and domesticated plants. The characteristics most associated with the domestication syndrome, mass, proportion and size of fruits and their components (seed and pulp), were highly and positively correlated ($\pm 90\%$) with axis 1. The second axis explained 7.9 % and the third axis (not shown) explained 7.7 % of the data variation, and did not differentiate wild from domesticated plants.

Reinforcing the pattern found in the PCA, the clustering and classification analysis (Normal Mixture Modeling) distinguished among groups of domesticated and wild populations for seven morphological characteristics (Table 1). Fruit length, fruit diameter, fruit mass, seed mass, pulp:fruit mass ratio and seed:fruit mass ratio allowed discrimination of two groups, the domesticated populations and the wild populations. Pulp mass allowed discrimination of three groups, dividing the domesticated populations into two groups, with four populations in and close to Tabatinga in one group, and four populations further east in the study area in another group. Number of fruits per bunch, plant height:DBH ratio and wood density did not differentiate wild populations from domesticated populations.

Among the characteristics that contributed to discriminate groups, fruit diameter, fruit mass, seed mass and pulp mass presented higher variances in domesticated populations (Groups 2 and 3), indicating greater morphological variability in these characteristics in plants under human selection (Table 1). The greater amplitude of variation in these characteristics is also apparent in the density curves (Figure 2). The fruit length and pulp:fruit mass ratio did not present differences in the variances among the groups.

Allometric changes in domesticated plants

The general allometric model $SM = 0.63 FM^{0.89}$ (where SM is seed mass and FM is fruit mass) based on 74 species that have fleshy fruits with only one seed (including *Pourouma cecropiifolia* wild populations) presented a higher value of the *shape factor* than the model adjusted to the characteristics of domesticated individuals ($SM = 0.44 FM^{0.60}$). There was no difference in the confidence intervals of the *scaling factor* between the equations. In the equation for domesticated individuals the confidence interval of the *scaling factor* ranged from 0.35 to 0.55 and in the general equation for 74 wild species it ranged from 0.52 to 0.74. The confidence intervals of the *shape factor* values of the equations did not overlap. In the equation of domesticated individuals, the confidence interval of the *shape factor* ranged from 0.50 to 0.69 and in the general

equation for 74 wild species it ranged from 0.83 to 0.96. This indicates that the two equations are different and that the observed values of seed mass in the *P. cecropiifolia* domesticated plants are lower than the values predicted by the general allometric equation. The seed:fruit mass ratio changed from approximately 0.9:1 in wild plants to 0.6:1 in domesticated plants (Figure 4A). In comparison, the correlation between the observed seed mass and the predicted seed mass by the model is higher in wild *P. cecropiifolia* plants ($r^2 = 0.87$) than in domesticated plants ($r^2 = 0.66$, Figure 4B).

Effects of environmental conditions on Pourouma cecropiifolia traits

We found significant effects of domestication and of the environmental gradient on the 10 morphological characteristics (Table S3). Domestication generated an increase in length, diameter and mass of fruits, in seed mass, in pulp mass and in pulp:fruit mass ratio (Figure 5). In contrast, domestication generated a reduction in fruits per bunch, seed:fruit mass ratio (seed:fruit allometry), plant height:DBH ratio and wood density. The mass and size of fruits (Figure 6B, 6C, 6D), seeds (Figure 6E), pulp (Figure 6F) and pulp:fruit mass ratio (Figure 6g) increase in environments with higher available light and poorer sandier soils. The number of fruits per bunch (Figure 6A), seed:fruit mass ratio (Figure 6H), plant height:DBH ratio (Figure 6I) and wood density (Figure 6J) increase in environments with less available light and more fertile silty soils.

The domestication dichotomy and the environmental gradient had strong direct effects with similar magnitudes on all morphological characteristics (Figure 5). However, domestication has a stronger effect on the environmental conditions. Consequently, we also found a strong indirect effect of domestication via the environment on all characteristics. Domestication is strongly correlated with variations in light availability (CII), sum of bases, and in the soil contents of calcium, magnesium, phosphorus, silt and sand (Figure S3). Cultivated landscapes (terra firme) have 28 % higher light availability, poorer soils (16x less sum of bases), and 63 % sandier soils than floodplain forests (right side of Figure S1); the floodplain forests have low light availability and more fertile siltier soils (Table S2). Only the clay and potassium contents were slightly altered in cultivated landscapes and are less correlated with domestication (Figure S3). Analyzing only those characteristics less associated with domestication, we found a significant increase in wood density due to the increase in potassium content (Figure S4).

Discussion

Using the traditional morphometric approach of domestication studies, we found higher mean values and greater variability in the dimensions and mass characteristics of the fruit in domesticated populations. The vegetative characteristics also varied, but to a lesser extent than the fruit characteristics. The domesticated populations showed lower values of plant height:DBH ratio and wood density than wild populations. Using an ecological approach, we found marked changes in the seed:fruit allometric relation. The domesticated fruits have a lower proportion of seed mass than the wild fruits of the same species and the fruits of 74 species of non-domesticated plants with the same fruit type (drupe). In addition, we observed that the morphological characteristics evaluated in *P. cecropiifolia* are influenced by variations in soil and light conditions. However, it is not easy to dissociate the environmental effect from the domestication effect, because farmers also created cultivated landscapes. In our study, the environmental gradient also reflects a gradient of human management.

Morphological traits in domesticated versus wild populations

The increase in size and mass of fruits and seeds are the characteristics most modified during the domestication process of fruit species (Meyer et al., 2012). Domestication in fruit trees selects extreme phenotypes for size and mass of fruits, and eliminates phenotypes that differ from the preferred phenotype, reducing their frequencies in domesticated populations (Zohary, 2004). In *P. cecropiifolia*, humans selected for fruits with larger sizes and larger masses than those found in wild populations, in which large fruits are not favored by natural selection (McCouch, 2004). Dispersers of wild *P. cecropiifolia* in the forest are usually small-sized primates, such as *Saguinus mystax*, *S. fuscicollis* (Knogge and Heymann, 2003), *Callimico goeldii*, *Saguinus labiatus* (Porter, 2001) and *Cebus paella* (Gómez-Posada, 2012). Smaller fruits may provide an advantage over large fruits for dispersal by small-sized primates, because they can be more easily removed, transported and dispersed (Tanksley, 2004). On the other hand, in domesticated plants, the larger fruit size does have an adverse effect, because humans guarantee the seeds' dispersal and the seedlings' establishment.

Within the domesticated populations we found geographic variation for fruit size, where a group of populations on the western side of the sample area had larger fruit than a group of populations to the east. This finding supports Clement's (1989) proposal of a larger-fruited landrace close to the triple frontier (Brazil, Colombia, Peru). Whether this extends as far as Iquitos, Peru, where Ducke (1946) commented on the abundance and popularity of *P. cecropiifolia*, remains to be investigated. With respect to the number of fruits per bunch, domesticated populations have smaller numbers than wild populations, although this was not statistically significant. This negative correlation between number and size is common in fruit trees (Browning, 1985), due to the reallocation of photoassimilates to fruit size, which demands a decrease in the number of fruits per bunch for biomechanical reasons. The lower mean values found in plant height:DBH ratio and in wood density can be explained by changes in edaphic and light conditions, which will be better detailed later in the specific section where the environmental effects on the morphological characteristics will be discussed. However, it is also possible that domestication has generated a reduction in the height, diameter and wood density of the trees, due to the reallocation of photoassimilates to the harvestable product, changing the ratio between the biomass of the harvestable product (the fruits and seeds in the case of *Pourouma cecropiifolia*) and the total plant biomass (Li et al., 2012). This ratio is called the 'harvest index', and a negative correlation with plant height is common in many annual crops, such as rice (Li et al., 2012) and sorghum (Can and Yoshida, 1999) due to greater translocation of photoassimilates from the vegetative tissues to grains (Zou et al., 2003). For tree crops, this negative correlation is also expected (Cannell, 1985).

Is the variability in traits under human selection higher?

In addition to the morphological differences between wild and domesticated populations that characterize the domestication syndrome, phenotypic variability is also expected to be greater in useful parts (Pickersgill, 2009). This expectation was observed in domesticated populations of banana (Li et al., 2013), peach palm (Clement, 1988) and tomato (Tanksley, 2004). Although genetic variability generally decreases in domesticated populations, phenotypic variability of selected parts may increase with domestication (McCouch, 2004; Purugganan and Fuller, 2009) due to dispersal and diversification after initial domestication (Meyer and Purugganan, 2013). During the

dispersal process, the genetic material under selection is shared and disseminated among different human groups with cultural peculiarities, which may have, for example, different food preferences. This may also promote diversity in domestication syndromes (Milla et al., 2015). In the case of domesticated *P. cecropiifolia* populations, the Ticuna report fruits with more fibrous pulp and others whose pulp has higher water content, thus generating large variation in pulp mass and in fruit mass. However, the Ticuna also report that they seldom select for the juicier pulp, as the fruits “explode” when they fall on the ground, a common occurrence during harvesting, and are unfit for transport or sale.

Alterations in the seed mass:fruit mass allometry

Humans selected *P. cecropiifolia* plants to have larger fruits. In response to selection to increase fruit mass, a faster increase in pulp mass than in seed mass is expected, resulting in fruit with a higher relative proportion of pulp (Martinez et al., 2007; Chen et al., 2010). The increase in pulp mass in *P. cecropiifolia* is mainly due to the increase in carbohydrates (fibers, cell walls and starch) (Lopes et al., 1999). Due to the correlation among fruit components, the increase in fruit mass also leads to an increase in seed mass. However, the seeds of domesticated *P. cecropiifolia* do not follow the same tendency of increase observed in wild plants ($MS \sim MF^{0.89}$; Niklas, 1994). Seeds contain proteins and oils, which are energetically more “expensive” than carbohydrates (Lopes et al., 1999). Therefore, it is likely that seed mass does not increase in the same proportion as fruit mass in domesticated plants, because the highest selective pressure is on the fruit, which responds with more carbohydrates, and not on the seed, which needs to retain a balance of proteins, carbohydrates and oils to guarantee good germination.

The combined effects of environmental conditions and human selection

In this study, we observed that the domestication of the *Pourouma cecropiifolia* cultivated populations is strongly associated with the domestication of the cultivated landscapes (Clement, 1999). When we evaluated the environment in an integrated way (the full set of environmental variables), it was not possible to clearly separate the effect of human selection from the effect of environmental conditions. The fact that wild populations are in flooded areas and the domesticated populations are in upland areas certainly increases the difference between the environments. However, we believe that even if we were comparing upland areas, there would still be strong differences between cultivated and wild landscapes, due to changes in the environmental conditions resulting from human management, which are inherent to the process of plant domestication (Clement, 1999). Therefore, the observed domesticated phenotype is a result of a combination of human selection and the environmental conditions of the sites where the plants develop.

Contrary to expectations for the variation in size and mass of fruits and their components in response to edaphic conditions (Janick and Paull, 2008), we found fruits with larger masses and sizes, and larger masses of seed and pulp in the domesticated populations, that occur in soils 16x poorer in nutrients and 63 % sandier than floodplain soils, where wild populations occur. Having larger fruits with larger seeds and pulp mass in poorer and sandier soils is an indication that the domesticated phenotype is mainly a result of alterations in the genotype resulting from domestication, considering

that for *P. cecropiifolia* the fruit characteristics are the most important for humans and are under direct human selection.

The subtle variations in vegetative characteristics indicate that they are not under direct selection. These changes are possibly results of changes in the environmental conditions caused by human management, an indirect effect of domestication. Due to the high light availability in cultivated landscapes, the plants of the domesticated populations invested less in growth in height, because the competition with other plants for light is smaller when compared to the individuals who are in forest landscapes that have smaller canopy openings (Cannell, 1985). With the greater light availability in the cultivated environment, domesticated plants possibly grow faster than wild plants, and consequently have lower wood density (Poorter, 1999; Poorter et al., 2008). The plant height:DBH in domesticated plants is also affected by the sandier soils of the cultivated areas. Sandy soils maintain less water and nutrients due to their lower surface areas (Tarboton, 2003), which affects the water supply in the dry seasons. The sandy soils also provide lower anchorage for the roots of the trees, making it difficult to maintain plants with greater heights and larger diameters.

Under natural conditions, wild *P. cecropiifolia* plants produce proportionately larger seeds due to the difficult conditions of establishment in the shaded understory, as observed in other forest species (Salisbury, 1974; Westoby et al., 1996). In cultivated landscapes where the *P. cecropiifolia* domesticated plants grow, the low fertility of cultivated soils (Westoby et al., 1990; Hammond and Brown, 1995) and the high light availability promote reduction of the seed mass (Eriksson et al., 2000; Moles et al., 2005). In contrast, human selection for larger fruits and the positive correlation between fruit mass and seed mass promote an increase in seed mass in the domesticated plants. Therefore, the combined but contrasting environmental effects and human selection lead domesticated populations to have a proportionately smaller increase in seed mass than wild populations.

By evaluating individually the variables not correlated with landscape domestication, it was possible to observe which morphological changes are effectively responding to environmental variations. The positive correlation between wood density and potassium content in the soil, and the existence of one domesticated population with wood density similar to the wood density of the wild populations, in a site with a high potassium content, shows the environmental effect on the phenotypic plasticity of the *P. cecropiifolia* individuals. This suggests that, although the effect of environmental conditions in cultivated landscapes can be superimposed on the domestication effect, we cannot ignore the plastic capacity of individuals in explaining the morphological variations of plants under human selection.

Due to the difficulty in dissociating the effect of environmental conditions from the effect of human selection, mainly on the characteristics of fruits, we suggest that reciprocal transplant experiments of domesticated plants to uncultivated landscapes and wild plants to cultivated landscapes will also be needed to effectively differentiate the domestication effects from the environmental effects. In addition, we also consider that in future studies it will be necessary to evaluate experimentally the effect of luminosity on fruit mass, seed mass and in seed:fruit allometry considering the high light availability in cultivated landscapes and because it is expected that there is a positive correlation between light intensity and fruit mass (Moles et al., 2005; Janick and Paull, 2008), but a negative correlation with seed mass (Eriksson et al., 2000; Moles et al., 2005).

Conclusions

Addressing ecological aspects in plant domestication studies provides us with a more integrated understanding about the evolution of cultivated plants, because the domesticated phenotypes are the result of the combined effects of human selection and natural selection on plant populations. We quantified modifications in numerous components of the domestication syndrome of *Pourouma cecropiifolia* populations in Western Amazonia. The domesticated plants presented substantial changes in the morphology of the fruits and seeds, and more subtle changes in vegetative characteristics. The combined effect of natural selection and human selection modified the expected pattern in the allometric relations between seed mass and fruit mass, due to the contrasting effects of environmental filters, which promote seed size reduction, and human selection, which promotes seed size increase. The strong correlation between domestication and the environmental gradient due to changes in the landscape generated by human management made it difficult to separate environmental effects from human selection effects. However, when analyzing individually the variables not correlated with landscape domestication, it was still possible to observe an increase in wood density in response to an increase in the potassium content in the soil, which shows us the responses of the *Pourouma cecropiifolia* individuals to variations in environmental conditions.

The evaluation of the effects of environmental conditions and of human selection and management in cultivated landscapes are important for a better understanding of the domestication syndrome. We suggest that the allometric differences between fruits and seeds of wild and domesticated plants can be used in future studies, as an additional parameter of the domestication syndrome.

Authors' Contributions

HC: contributed to conception and design of the study, was responsible for field collections and laboratory analyses, conducted the statistical analyzes, contributed to the interpretation of the results, wrote the first version of the manuscript, and approved the final version to be published. CR: contributed to conception and design of the study and statistical analyzes, participated substantially in the interpretation of the results and drafting of the manuscript, and approved the final version to be published. JS: contributed to conception and design of the study, participated substantially in the statistical analyses, interpretation of the results and drafting of the manuscript, and approved the final version to be published.

Acknowledgements

We thank the Ticuna people for their permission to work with them and for their assistance in various Indigenous Territories of the upper Solimões River and the Fundação Nacional do Índio (FUNAI) for their authorization (process 08620.046540/2015-39). The research was funded by the Fundação de Amparo a Pesquisas do Estado do Amazonas (FAPEAM) Universal 19776.UNI472.1978.20022014 and FAPEAM/Newton Fund 062.00831/2015. We thank Dr. Hans ter Steege and the Amazon Tree Diversity Network (ATDN) for the availability of *Pourouma cecropiifolia* occurrence and abundance data in their permanent plots. Their contact is: <http://atdn.myspecies.info/>. We also thank the field assistants Cláudia Reis Mendonça and Bernardo Cruz Gabriel.

Data accessibility

Data for this paper have been archived in figshare:
https://figshare.com/articles/data_Pcecropiifolia_xlsx/5306380

References

- Bentos, T. V., Mesquita, R. C. G., Camargo, J. L. C., and Williamson, G. B. (2012). Seed and fruit tradeoffs – the economics of seed packaging in Amazon pioneers. *Plant Ecol. Divers.* 874, 371–382. doi:10.1080/17550874.2012.740081.
- Browning, G. (1985). “Reproductive behaviour of fruit tree crops and its implications for the manipulation of fruit set,” in *Attributes of trees as crop plants*, ed. J. E. Jackson, M. G. R.; Cannell (Huntington, WV: Institute of Terrestrial Ecology), 409–425.
- Can, N. D., and Yoshida, T. (1999). Genotypic and phenotypic variances and covariances in early maturing grain sorghum in a double cropping. *Plant Prod. Sci.* 2, 67–70. doi:10.1626/pps.2.67.
- Cannell, M. G. R. (1985). “Dry matter partition in tree crops,” in *Attributes of trees as crop plants*, eds. M. G. R. Cannell and J. E. Jackson (Huntington, WV: Institute of Terrestrial Ecology), 160–193.
- Chen, H., Felker, S., and Sun, S. (2010). Allometry of within-fruit reproductive allocation in subtropical dicot woody species. *Am. J. Bot.* 97, 611–619. doi:10.3732/ajb.0900204.
- Clement, C. (1989). A Center of Crop Genetic Diversity in Western Amazonia. *Bioscience* 39, 624–631. doi:10.2307/1311092.
- Clement, C. R. (1988). “Domestication of pejibaye (*Bactris gasipaes*): Past and present,” in *The Palm - Tree of Life. Biology, Utilization and Conservation*, ed. M. J. Balick (New York, NY: The New York Botanical Garden), 155–174.
- Clement, C. R. (1999). 1492 and the loss of amazonian crop genetic resources. I. The Relation Between Domestication and Human Population Decline. *Econ. Bot.* 53, 188–202. doi:10.1007/bf02866498.
- Clement, C. R., de Cristo-Araújo, M., D'Eeckenbrugge, G. C., Pereira, A. A., and Picanço-Rodrigues, D. (2010). Origin and domestication of native Amazonian crops. *Diversity* 2, 72–106. doi:10.3390/d2010072.
- Dawson, I. K., Hollingsworth, P. M., Doyle, J. J., Kresovich, S., Weber, J. C., Sotelo Montes, C., et al. (2008). Origins and genetic conservation of tropical trees in agroforestry systems: A case study from the Peruvian Amazon. *Conserv. Genet.* 9, 361–372. doi:10.1007/s10592-007-9348-5.
- Ducke, A. (1946). Plantas de cultura precolombiana na Amazônia Brasileira. Notas sobre as espécies ou formas espontâneas que supostamente lhes teriam dado origem. *Bol. do Inst. Agronômico do Norte* 8, 1–24.
- EMBRAPA (1997). *Manual de métodos de análise de solos*. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisas de Solo.
- Eriksson, O., Friis, E. M., and Löfgren, P. (2000). Seed size, fruit size, and dispersal systems in angiosperms from the Early Cretaceous to the Late Tertiary. *Am. Nat.* 156, 47–58. doi:10.1086/303367.
- Fraley, C., and Raftery, A. E. (2002). Model-based clustering, discriminant analysis and density estimation. *J. Am. Stat. Assoc.* 97, 611–631. doi:10.1198/016214502760047131.
- Fraley, C., Raftery, A. E., Murphy, B., and Scrucca, L. (2012). Mclust version 4 for R:

- normal mixture modeling for model-based clustering, classification, and density estimation. doi:10.1.1.390.8640.
- Gómez-Posada, C. (2012). Dieta y comportamiento alimentario de un grupo de mico maicero *Cebus apella* de acuerdo a la variación en la oferta de frutos y artrópodos, en la Amazonía colombiana. *Acta Amaz.* 42, 363–372. doi:10.1590/S0044-59672012000300008.
- Gratani, L. (2014). Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Adv. Bot.* 2014, 1–17. doi:10.1155/2014/208747.
- Hammond, D. S., and Brown, V. K. (1995). Seed Size of Woody Plants in Relation to Disturbance , Dispersal , Soil Type in Wet Neotropical Forests. *Ecology* 76, 2544–2561. doi:10.2307/2265827.
- Harlan, J. R. (1992). *Crops and man*. Madison: American Society of Agronomy and Crop Science Society of America.
- Ibarra-Manríquez, G., and Oyama, K. (1992). Ecological correlates of reproductive traits of Mexican rain forest trees. *Am. J. Bot.* 79, 383–394.
- Janick, J., and Paull, R. E. (2008). *The encyclopedia of fruits and nuts*. Cambridge: CABI.
- Keeling, H. C., and Phillips, O. L. (2007). A calibration method for the crown illumination index for assessing forest light environments. *For. Ecol. Manage.* 242, 431–437. doi:10.1016/j.foreco.2007.01.060.
- Kleyer, M., and Minden, V. (2015). Why functional ecology should consider all plant organs: An allocation-based perspective. *Basic Appl. Ecol.* 16, 1–9. doi:10.1016/j.baae.2014.11.002.
- Knogge, C., and Heymann, E. W. (2003). Seed dispersal by sympatric tamarins, *Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*: diversity and characteristics of plant species. *Folia Primatol.* 74, 33–47. doi:10.1159/000068392.
- Levis, C., Costa, F. R. C., Bongers, F., Peña-Claros, M., Clement, C. R., Junqueira, A. B., et al. (2017). Persistent effects of pre-Columbian plant domestication on Amazonian forest composition. *Science* 355, 925–931. doi:10.1126/science.aal0157.
- Li, L. F., Wang, H. Y., Zhang, C., Wang, X. F., Shi, F. X., Chen, W. N., et al. (2013). Origins and domestication of cultivated banana inferred from chloroplast and nuclear genes. *PLoS One* 8. doi:10.1371/journal.pone.0080502.
- Li, X., Yan, W., Agrama, H., Jia, L., Jackson, A., Moldenhauer, K., et al. (2012). Unraveling the complex trait of harvest index with association mapping in rice (*Oryza sativa* L.). *PLoS One* 7, 1–10. doi:10.1371/journal.pone.0029350.
- Lopes, D., Antoniassi, R., Souza, M. de L. M., and Castro, I. M. (1999). Caracterização Química dos Frutos do Mapati (*Pourouma cecropiifolia* Martius - Moraceae). *Brazilian J. Food Technol.* 2, 45–50.
- Martinez, I., García, D., and Obeso, J. R. (2007). Allometric allocation in fruit and seed packaging conditions the conflict among selective pressures on seed size. *Evol. Ecol.* 21, 517–533. doi:10.1007/s10682-006-9132-x.
- McCouch, S. (2004). Diversifying selection in plant breeding. *PLoS Biol.* 2. doi:10.1371/journal.pbio.0020347.
- Meyer, R. S., DuVal, A. E., and Jensen, H. R. (2012). Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytol.* 196, 29–48. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04253.x.
- Meyer, R. S., and Purugganan, M. D. (2013). Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nat. Rev. Genet.* 14, 840–52. doi:10.1038/nrg3605.

- Milla, R., and Matesanz, S. (2017). Growing larger with domestication: a matter of physiology, morphology or allocation? *Plant Biol.*, 1–9. doi:10.1111/plb.12545.
- Milla, R., and Morente-López, J. (2014). Limited evolutionary divergence of seedlings after the domestication of plant species. *Plant Biol.* 17, 169–176. doi:10.1111/plb.12220.
- Miller, A. J., and Gross, B. L. (2011). From forest to field: Perennial fruit crop domestication. *Am. J. Bot.* 98, 1389–1414. doi:10.3732/ajb.1000522.
- Moles, A. T., Ackerly, D. D., Webb, C. O., Tweddle, J. C., Dickie, J. B., Pitman, A. J., et al. (2005). Factors that shape seed mass evolution. *Pnas* 102, 10540–10544. doi:10.1073/pnas.0501473102.
- Nei, M., Maruyama, T., and Chakraborty, R. (1975). The Bottleneck Effect and Genetic Variability in Populations. *Evolution (N. Y.)*. 29, 1–10. doi:10.2307/2407137.
- Niklas, K. J. (2004). *Plant Allometry: the scaling of form and process*. Chicago: University of Chicago Press.
- Olobatuyi, M. E. (2006). “Useful Information in Applying Path Analysis,” in *A User’s Guide to Path Analysis*, ed. M. E. Olobatuyi (Lanham: University Press of America), 133–170.
- Pickersgill, B. (2007). Domestication of plants in the Americas: Insights from Mendelian and molecular genetics. *Ann. Bot.* 100, 925–940. doi:10.1093/aob/mcm193.
- Poorter, L. (1999). Growth responses of 15 rain forest tree species to a light gradient; the relative importance of morphological and physiological traits. *Funct. Ecol.* 13, 396–410. doi:10.1046/j.1365-2435.1999.00332.x.
- Poorter, L., Wright, S. J., Paz, H., Ackerly, D. D., Condit, R., Ibarra-Manríquez, G., et al. (2008). Are Functional Traits Good Predictors of Demographic Rates? Evidence From Five Neotropical Forests. *Ecology* 89, 1908–1920. doi:10.1890/07-0207.1.
- Porter, L. M. (2001). Dietary differences among sympatric Callitrichinae in northern Bolivia: *Callimico goeldii*, *Saguinus fuscicollis* and *S. labiatus*. *Int. J. Primatol.* 22, 961–992. doi:10.1023/A:1012013621258.
- Preece, C., Livarda, A., Christin, P. A., Wallace, M., Martin, G., Charles, M., et al. (2017). How did the domestication of Fertile Crescent grain crops increase their yields? *Funct. Ecol.* 31, 387–397. doi:10.1111/1365-2435.12760.
- Purugganan, M. D., and Fuller, D. Q. (2009). The nature of selection during plant domestication. *Nature* 457, 843–848. doi:10.1038/nature07895.
- R Core Team (2016). A language and environment for statistical computing. Available at: <https://www.r-project.org/>.
- Rindos, D. (1984). *The origins of agriculture: An evolutionary perspective*. San Diego: Academic Press.
- Salisbury, E. (1974). Seed Size and Mass in Relation to Environment. *Proc. R. Soc. London. Ser. B, Biol. Sci.* 186, 83–88. doi:10.1098/rspb.1974.0039.
- Scheiner, S. M. (1993). Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24, 35–68. doi:10.1146/annurev.es.24.110193.000343.
- Schllichting, C. D., and Levin, D. A. (1986). Phenotypic plasticity: an evolving plant character. *Biol. J. Linn. Soc.* 29, 37–47. doi:10.1111/j.1095-8312.1986.tb01769.x.
- Shiels, A., and Drake, D. (2011). Are introduced rats (*Rattus rattus*) both seed predators and dispersers in Hawaii? *Biol. Invasions* 13, 883–894. doi:10.1007/s10530-010-9876-7.
- Smith, B. (2011). A Cultural Niche Construction Theory of Initial Domestication. *Biol. Theory* 6, 260–271. doi:10.1007/s13752-012-0028-4.

- Spiess, A. N. (2014). qpcR: Modelling and analysis of real-time PCR data. Available at: <https://cran.r-project.org/package=qpcR>.
- Tanksley, S. D. (2004). The Genetic , Developmental, and Molecular Bases of Fruit Size in Tomato and Shape Variation. *Plant Cell* 16, 181–189. doi:10.1105/tpc.018119.S182.
- Tarboton, D. G. (2003). “Soil properties,” in *Rainfall-Runoff Process*, ed. D. G. Tarboton (Logan, UT: Utah State University), 45–75.
- Westoby, M., Leishman, M., and Lord, J. (1996). Comparative ecology of seed size and dispersal. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B-Biological Sci.* 351, 1309–1317. doi:10.1098/rstb.1996.0114.
- Westoby, M., Rice, B., and Howell, J. (1990). Seed Size and Plant Growth Form as Factors in Dispersal Spectra A. *Ecology* 71, 1307–1315. doi:10.2307/1938268.
- Zohary, D. (2004). Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Econ. Bot.* 58, 5–10. doi:10.1663/0013-0001(2004)058[0005:USATEO]2.0.CO;2.
- Zou, J. S., Yao, K. M., Lu, C. G., and Hu, X. . (2003). Study on individual plant type character of Liangyoupeiji rice. *Acta Agron. Sin.* 29, 652–657.

Supplementary material

Figure S1. PCA of the environmental variables that generated the environmental gradient.

Table S1. Mean values per group (domesticated and wild) of the 10 morphological characteristics evaluated in the study.

Table S2. Morphological characteristics and environmental variables by population, including the values of pH, soil nutrients, soil texture and Crown Illumination Index.

Table S3. Matrix of regression analysis by characteristic.

Figure S2. Correlation matrix among the morphological charcateristics.

Figure S3. Correlation matrix between domestication and the environmental variables and among the environmental variables.

Figure S4. Correlation matrix among the morphological characteristics, among the environmental variables and between the morphological characteristics and the environmental variables.

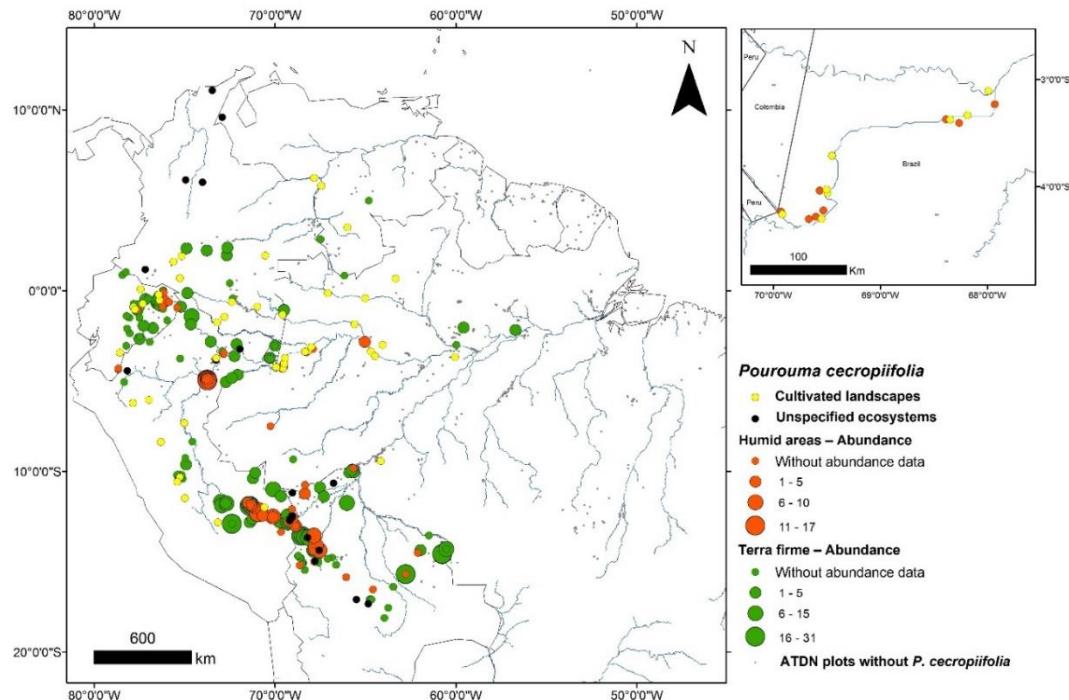


Figure 1. *Pourouma cecropiifolia* distribution and abundance in Greater Amazonia, and study area. Large map: abundance in humid areas (orange) and upland (terra firme) areas (green) from the Amazon Tree Diversity Network (with permission); grey dots are ATDN sites with no *P. cecropiifolia*. Occurrence in unspecified ecosystems (black) and cultivated systems (yellow) without abundance data from Missouri Botanic Garden (MOBOT) database. Small map: the region of the upper Solimões River with paired cultivated (yellow) and humid area (orange) populations.

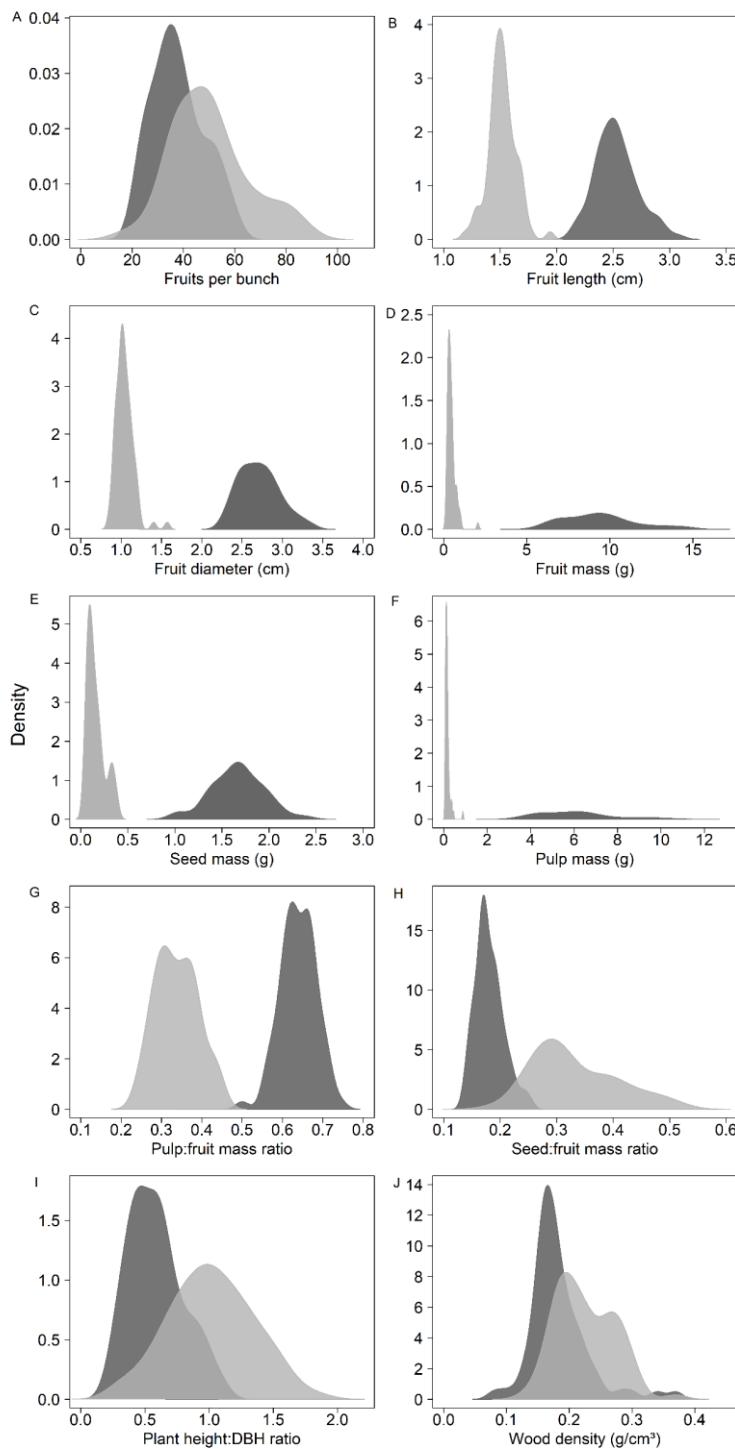


Figure 2. Density curves of the variation of the morphological characteristics of domesticated (dark gray) and wild populations (light gray) of *Pourouma cecropiifolia*. Domesticated populations ($n = 8$, 80 individuals) were collected in cultivated landscapes and wild populations ($n = 8$, 80 individuals) were collected in adjacent floodplain forests, both along the upper Solimões River, Amazonas, Brazil. The curves contain the mean and range of variation (minimum and maximum, first and third quartiles).

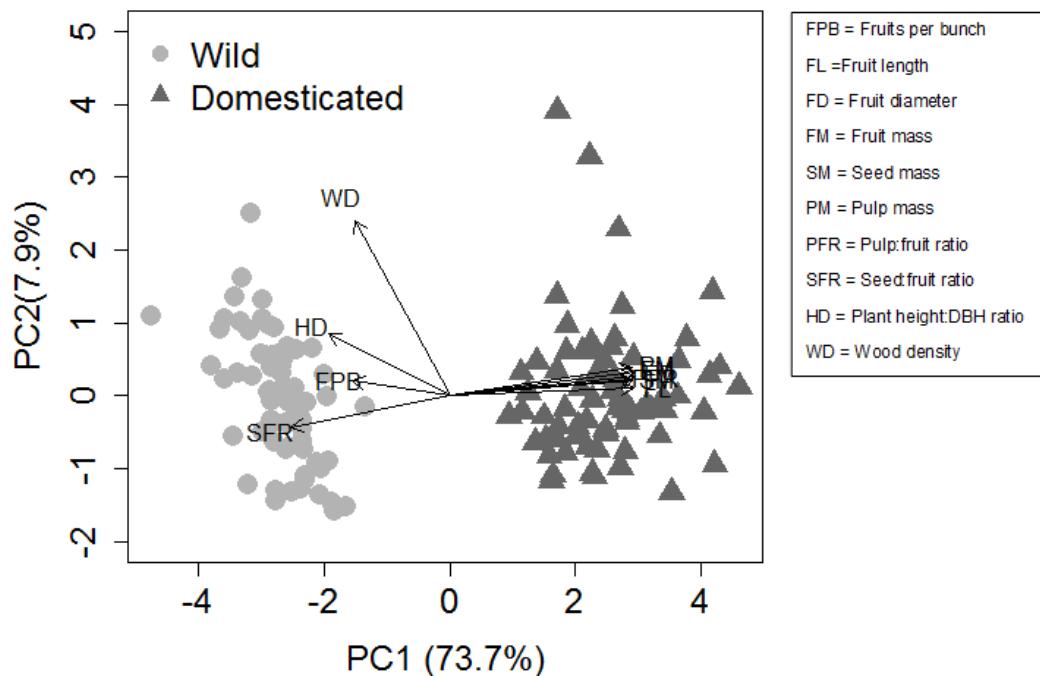


Figure 3. Principal Component Analysis of 10 morphological characteristics of *Pourouma cecropiifolia* wild and domesticated plants ($n = 160$). Fruit length (97.9 %), fruit diameter (98.4 %), fruit mass (98.2 %), seed mass (97.3%), pulp mass (97.2 %) and pulp ratio (96.7 %) were highly and positively correlated with axis 1. The seed:fruit mass ratio was negatively correlated with axis 1 (84.2 %). Plant height:DBH ratio was negatively correlated with axis 1 (64.5 %) and positively with axis 2 (28.2 %). Wood density was negatively correlated with axis 1 (50.5 %) and positively with axis 2 (80.4 %). Number of fruits per bunch was negatively correlated with axis 1 (52.0 %) and axis 3 (82.7 %, not illustrated).

Table 1. Importance of eight reproductive and two vegetative characteristics in a cluster analysis of 16 *Pourouma cecropiifolia* populations sampled in cultivated landscapes (8) and floodplain forests (8) along the upper Solimões River, Brazil. Normal Mixture Modeling cluster analysis discriminates between groups, and estimates means and variances of each characteristic for each group. The model presented one, two or three means and variances according to the number of groups that can be discriminated based on the morphological characteristics used. Group 1 is composed of wild populations, except when there is only one group, and groups 2 and 3 are composed of domesticated populations.

Trait	# of groups	Means			Variance type	Variances		
		G1	G2	G3		G1	G2	G3
Fruits per bunch	1	44.06	-	-	-	102.9505	-	-
Fruit length (cm)	2	1.52	2.53	-	Equal	0.0079	0.0079	-
Fruit diameter (cm)	2	1.04	2.71	-	Unequal	0.0052	0.0239	-
Fruit mass (g)	2	0.45	9.41	-	Unequal	0.0300	2.3066	-
Seed mass (g)	2	0.16	1.67	-	Unequal	0.0045	0.0204	-
Pulp mass (g)*	3	0.16	4.98	7.22	Unequal	0.0044	0.0198	0.8104
Pulp:fruit mass ratio	2	0.34	0.64	-	Equal	0.0023	0.0023	-
Seed:fruit mass ratio	2	0.33	0.18	-	Unequal	0.0025	0.0003	-
Plant height: DBH ratio (m/cm)	1	0.80	-	-	-	0.0573	-	-
Wood density (g/cm ³)	1	0.21	-	-	-	0.0009	-	-

* By difference (fruit mass – seed mass – peel mass = pulp mass)

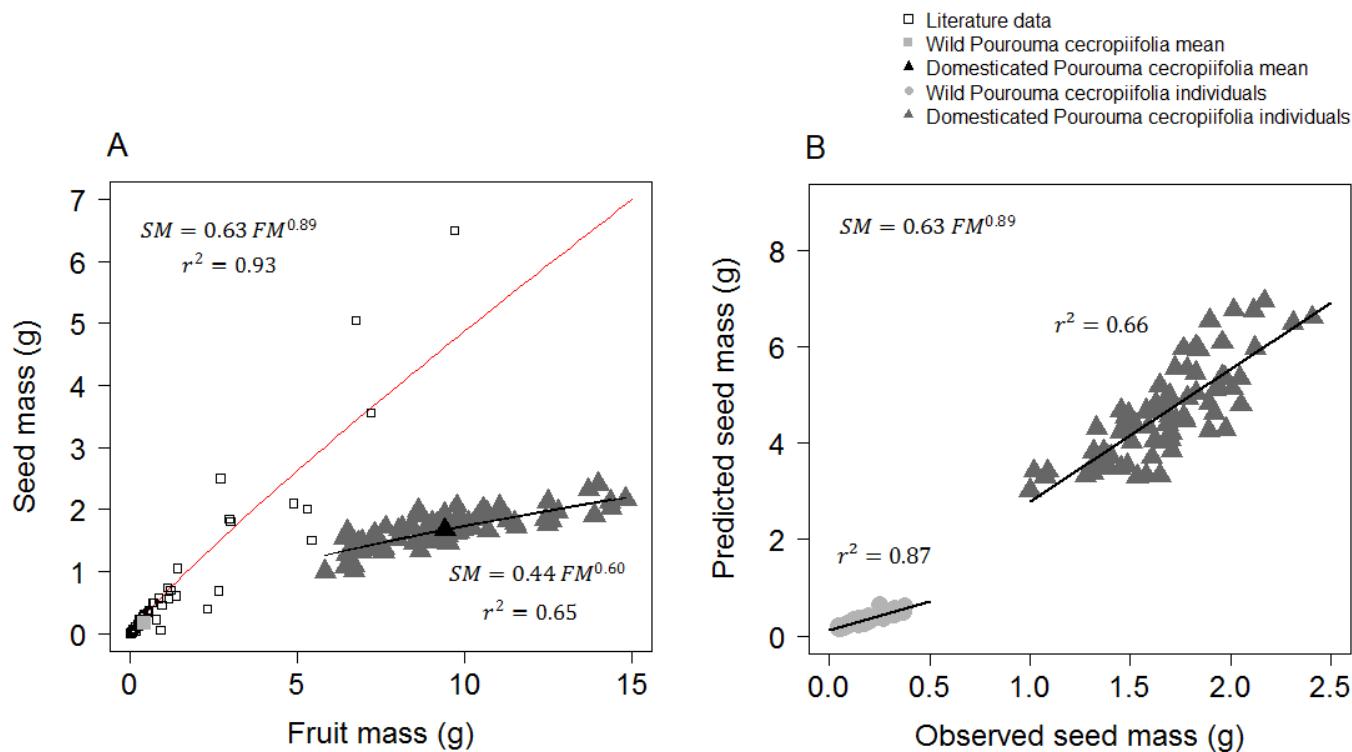


Figure 4. Allometric relations between seed mass (SM) and fruit mass (FM) in fleshy fruits with only one seed (drupes) in 74 wild species and in domesticated *Pouroma cecropiifolia*. (A) The red curve represents the adjusted equation of Niklas (1994) using the mean values of 74 non-domesticated species (data compiled from the literature) and the mean value of wild *P. cecropiifolia* (gray square). The black curve represents the equation using fruit and seed mass values of domesticated *P. cecropiifolia* individuals ($n = 80$). (B) Correlations between the values predicted by the general allometric equation of wild species (A) and the observed seed mass values of wild and domesticated *P. cecropiifolia* individuals.

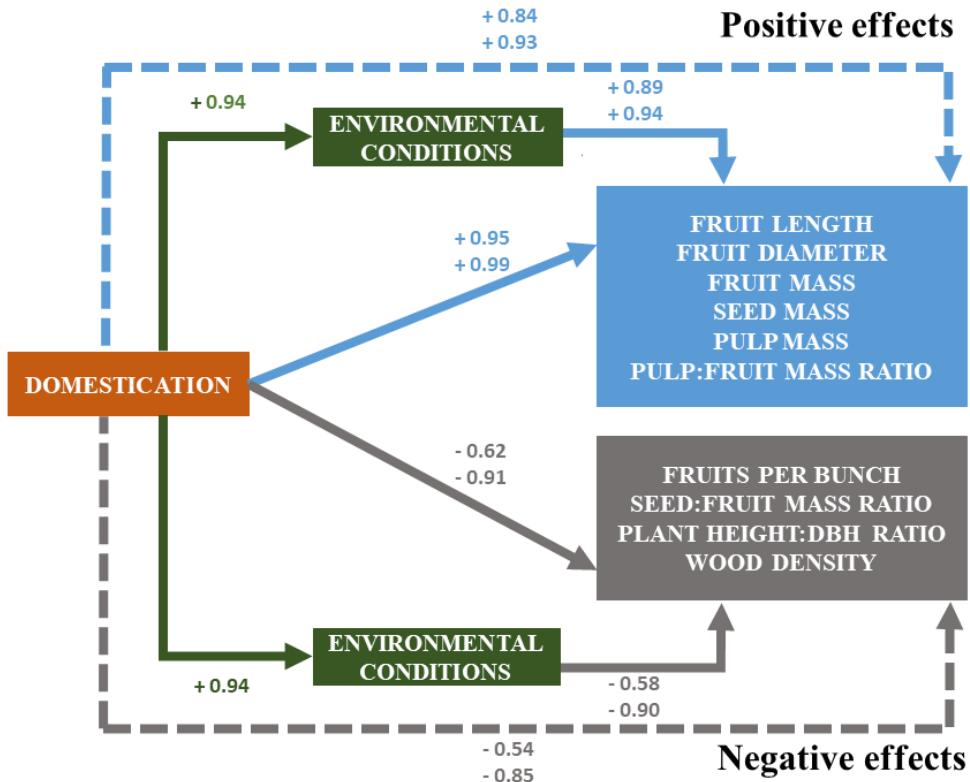


Figure 5. Path analysis of the direct effects of domestication on morphological characteristics, the direct effects of the environmental conditions on morphological characteristics, and the effect of domestication on environmental conditions (all solid arrows). The dashed arrows represent the indirect effects of domestication via environment (indirect effects of domestication due to changes in the environmental conditions caused by human management of the landscape). The top of the figure shows the positive effects (blue) and the bottom of the figure shows the negative effects (dark grey).

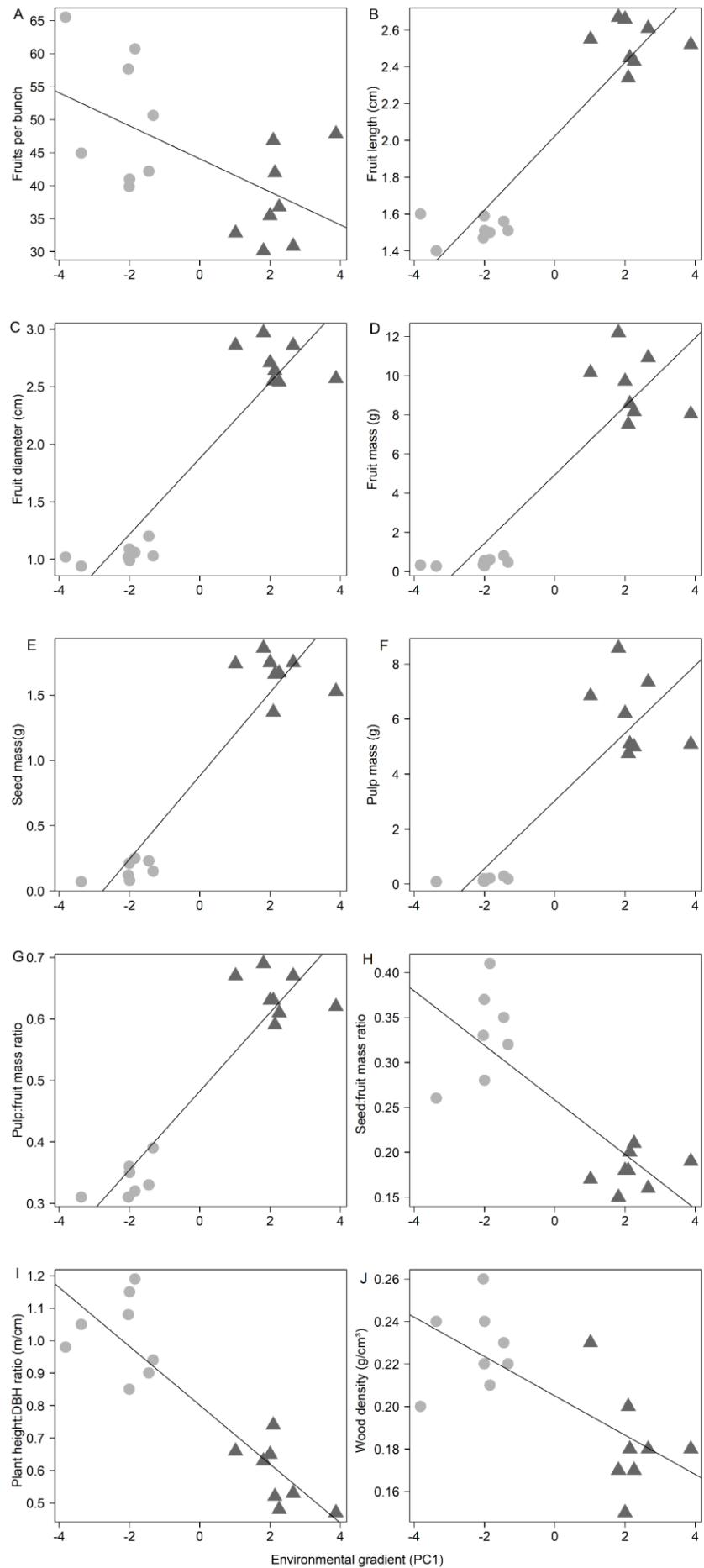


Figure 6. Relations between the morphological characteristics and the environmental gradient in wild populations (circles) and domesticated populations (triangles) of *Pourouma cecropiifolia*. The x-axis represents the environmental gradient (axis 1 of the PCA; Figure S1), where higher values indicate higher sand content and light availability typical of cultivated areas on the terra firme. Lower gradient values indicate higher soil fertility, and silt and clay contents typical of floodplain forests.

CAPÍTULO II.

Pedrosa H. C.; Schietti J.; Gaglioti, A. L.; Rodrigues, D. P.; Gonçalves, T. C. & Clement C. R.

Diversidade do DNA cloroplastidial sugere centro de origem de domesticação de *Pourouma cecropiifolia* na Amazônia Ocidental. Manuscrito formatado para *Acta Amazônica*.

**Diversidade do DNA cloroplastidial sugere centro de origem de domesticação de
Pourouma cecropiifolia na Amazônia Ocidental**

**Hermízia C. PEDROSA^{*} a, Juliana SCHIETTI a, André L. GAGLIOTTI b, Doriane
P. RODRIGUES c, Thamiles C. GONÇALVES d e Charles R. CLEMENT e**

^a Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Avenida André Araújo, 2936, Manaus, AM, Brasil

^b Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva, Universidade do Centro-Oeste do Paraná, UNICENTRO, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03, Guarapava, PR, Brasil

^c Departamento de Biologia, Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Avenida General Rodrigo Otávio, 3000, Manaus, AM, Brasil

^d Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Avenida André Araújo, 2936, Manaus, AM, Brasil

^e Coordenação de Tecnologia e Inovação, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Avenida André Araújo, 2936, Manaus, AM, Brasil

* Autor correspondente: hermisia.pedrosa@gmail.com

Resumo

A Amazônia Ocidental é um centro de diversidade de fruteiras domesticadas. Uma das espécies com populações provavelmente domesticadas na Amazônia Ocidental é a uva-da-Amazônia (*Pourouma cecropiifolia* Mart., Urticaceae), uma espécie frutífera

arbórea, muito cultivada no alto rio Solimões, a região fronteiriça entre o Brasil, a Colômbia e o Peru. Como resultado do processo de seleção humana são esperadas mudanças na diversidade genética e diferenciação entre as linhagens domesticadas e silvestres de *P. cecropiifolia*. O objetivo deste estudo foi quantificar a diferença na diversidade genética entre as populações silvestres e domesticadas e identificar o centro de origem de domesticação de *P. cecropiifolia*, com base na diversidade cloroplastidial. Analisamos sequências de duas regiões intergênicas do DNA cloroplastidial em 43 indivíduos domesticados de *P. cecropiifolia*, 69 indivíduos silvestres de *P. cecropiifolia* e 3 indivíduos de outras espécies de *Pourouma*. Comparamos o número de haplótipos, o número de sítios polimórficos, a diversidade haplotípica e a diversidade nucleotídica entre as populações e avaliamos as relações entre as linhagens por meio de uma rede de haplótipos. As populações domesticadas apresentaram aproximadamente 4x menos sítios polimórficos (S) e 34 % menos diversidade nucleotídica (π) que as populações silvestres. O haplótipo mais comum do grupo domesticado é compartilhado com indivíduos silvestres de *P. cecropiifolia* do alto rio Solimões. As linhagens mais próximas do grupo domesticado são as linhagens do grupo silvestre do alto rio Solimões. A redução na diversidade genética cloroplastidial encontrada nas populações domesticadas em comparação com as populações silvestres indica a ocorrência de um gargalo genético decorrente da domesticação. A relação próxima entre as linhagens domesticadas e silvestres do alto rio Solimões sugere que o centro de origem de domesticação de *Pourouma cecropiifolia* é a própria região do alto rio Solimões, na Amazônia Ocidental.

Palavras – chave: centro de origem de domesticação, diversidade genética, DNA cloroplastidial, seleção humana.

Introdução

A domesticação de plantas é um processo evolutivo (Harlan 1992), no qual a seleção humana leva populações de plantas cultivadas a divergir de seus progenitores silvestres (Clement 1999; Pickersgill 2007; Miller & Gross 2011). Após muitos ciclos de seleção-reprodução, as populações sob seleção experimentam mudanças genéticas e fenotípicas (Zohary 2004). Ao longo de algumas centenas ou milhares de anos, mudanças ambientais impulsionadas pelo cultivo humano também selecionam novas adaptações (Rindos 1984; Harlan 1992; Zohary 2004).

O processo de domesticação produz um contínuo de populações de plantas, desde populações silvestres exploradas, a populações de domesticação incipiente, até populações cultivadas que não podem sobreviver sem intervenção humana (Clement 1999). A domesticação começa com a exploração de plantas silvestres, continua por meio do cultivo de plantas selecionadas a partir das silvestres, mas ainda não geneticamente diferentes das plantas silvestres, e termina na fixação, por meio da seleção humana, de diferenças morfológicas e, portanto, de diferenças genéticas que distinguem o domesticado de seu progenitor silvestre (Rindos 1984; Pickersgill 2007; Miller & Gross 2011). As características mais comuns da síndrome de domesticação, o conjunto de caracteres morfológicos modificado pela seleção humana (Harlan 1992), incluem perda de dispersão, aumento de tamanho (especialmente da parte colhida da planta), alterações na morfologia das partes vegetativas aéreas, perda de dormência de

sementes e perda de proteção química ou mecânica contra herbívoros (Pickersgill 2007; Meyer *et al.* 2012).

A domesticação leva a redução na diversidade genética nas populações domesticadas em comparação com as populações silvestres. Nas espécies de reprodução sexual, as sementes de um número limitado de plantas silvestres, que representam apenas um subconjunto da diversidade genética encontrada no progenitor silvestre, são utilizadas para gerar as populações domesticadas (Zeder *et al.* 2006). O evento fundador, juntamente com a seleção contínua de sementes do pool inicial dos genótipos cultivados, produz um gargalo genético, reduzindo a variabilidade genética nas populações domesticadas (Zohary 2004).

Diversas árvores frutíferas amazônicas comumente cultivadas têm características de longos períodos de seleção e propagação (Miller & Nair 2006). Clement (1989) sugere um centro de diversidade de culturas na Amazônia Ocidental, com base na diversidade genética de populações domesticadas de árvores frutíferas, como abiu (*Pouteria caitito*), sapota sul-americana (*Quararibea cordata*), pupunha (*Bactris gasipaes*), biribá (*Rollinia mucosa*), mapati ou uva-da-amazônia (*Pourouma cecropiifolia*) e araçá-boi (*Eugenia stipitata*). O mapati ou uva da Amazônia é cultivado principalmente no oeste do Estado do Amazonas e áreas adjacentes de Colômbia e Peru (Lopes *et al.* 1999). Em comunidades indígenas na região do alto rio Solimões, no estado do Amazonas, foram encontrados indivíduos de *Pourouma cecropiifolia* domesticados com diferenças marcantes no tamanho e na massa dos frutos e sementes e na proporção de polpa de polpa comestível, em comparação com as populações silvestres (Clement 1989).

Considerando as diferenças morfológicas encontradas em populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*, também é esperado que mudanças genéticas tenham ocorrido devido a seleção humana, levando a redução na diversidade genética das populações domesticadas (Miller & Gross 2011; Meyer & Purugganan 2013). Também é esperado que sejam encontradas diferenças no DNA, tais como inserções, deleções ou substituições de nucleotídeos, entre as populações domesticadas e populações silvestres (Doebley *et al.* 2006; Flint-Garcia 2013). Baseada nas similaridades genéticas entre as linhagens silvestres e domesticadas, também é possível identificar o centro de origem de domesticação, a região geográfica de onde são provenientes os progenitores silvestres que deram origem as populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*.

Embora a redução na diversidade genética gerada pela domesticação seja mais forte nos genes diretamente relacionados com as características selecionadas, também é possível identificar sinais da domesticação em regiões não codificantes, que não estão sob seleção direta e que não contribuem para as mudanças fenotípicas (Ross-Ibarra *et al.* 2007). Isso ocorre devido aos efeitos do gargalo genético sobre os níveis de polimorfismo em todo o genoma da planta (Doebley *et al.* 2006; Liu & Burke 2006). Portanto, a análise de regiões não codificantes do genoma, como sequências intergênicas de DNA cloroplastidial, podem nos mostrar mudanças genéticas associadas a domesticação. O DNA do cloroplasto é quase sempre herdado maternalmente nas angiospermas (Avise 2004). Devido ao seu caráter haplóide (sem recombinação), o DNA de cloroplasto é bastante conservado, pois possui uma taxa mutacional baixa, quando comparado ao DNA nuclear (biparental) (McCauley 1995). Isso faz com que os marcadores de cloroplasto sejam bons indicadores de gargalos históricos, efeitos

fundadores e deriva genética (Provan *et al.* 2001). Um estudo com amostragem de populações domesticadas e silvestres, usando marcadores de cloroplastos, pode fornecer informações sobre o processo de domesticação em plantas, incluindo as origens geográficas, as populações ancestrais e o impacto da domesticação na diversidade genética populacional (Chen *et al.* 2014; Daniell *et al.* 2016).

Os objetivos deste estudo foram (i) quantificar a diversidade e a diferenciação genética cloroplastidial em populações silvestres e populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia*, (ii) identificar a distribuição geográfica da diversidade genética cloroplastidial em populações domesticadas e silvestres de *P. cecropiifolia*, e (iii) identificar a provável origem geográfica da domesticação de *P. cecropiifolia*.

Material e métodos

Amostragem

Coletamos fragmentos de folhas em áreas cultivadas (roças, quintais, capoeiras), em florestas de terra firme e em florestas de várzea em 11 municípios (Figura 6) distribuídos ao longo do alto rio Solimões (Amazonas/Brasil e Amazonas/Colômbia), e em pontos próximos ao rio Madeira (Rondônia/Brasil), rio Juruá (Acre/Brasil), rio Purus (Acre/Brasil), rio Içá (Amazonas/Brasil) e rio Japurá (Amazonas/Colômbia). Os fragmentos de folhas ($n = 117$) foram conservados em sílica-gel até a extração de DNA genômico total. Na região do alto rio Solimões, considerado o provável centro de origem de domesticação de populações de *Pourouma cecropiifolia*, realizamos uma amostragem pareada, como feito com *Inga edulis* na Amazônia Peruana (Dawson *et al.* 2008). Na mesma localidade, coletamos amostras de plantas cultivadas e, em uma área de floresta adjacente, coletamos as amostras de plantas silvestres. A amostragem de

plantas muito próximas dentro uma população foi evitada para captar a máxima variabilidade genética possível. Contudo, no alto rio Solimões, as populações silvestres ocorrem exclusivamente em floresta de várzea e as populações cultivadas ocorrem exclusivamente em terra firme (Figura 6). Por isso, as populações domesticadas e silvestres estão sempre separadas pelo rio Solimões, pois, nessa região, as áreas de terra firme e várzea são situadas em margens opostas do rio.

Análises Genéticas

O DNA genômico total foi extraído a partir das folhas secas ($n = 117$) utilizando o kit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel) com o tampão de lise 1, conforme o protocolo do fabricante. A quantificação do DNA extraído foi realizada por eletroforese em gel de agarose (0.8 %), corado com brometo de etídio e visualizado em transluminador sob luz ultravioleta. A concentração de DNA foi estimada por comparações visuais da fluorescência de sua banda no gel com aquelas de padrões de massa molecular conhecida (fago λ). Após a quantificação, as amostras foram diluídas em água ultrapura para concentração padrão de 5 ng/ μ L.

Após a triagem preliminar de 10 regiões não-codificantes (espaçadores intergênicos) do DNA cloroplastidial (dados não apresentados), duas regiões (3' trnV-ndhC e atpI-atpH) foram selecionadas por terem maiores níveis de polimorfismo, e amplificadas com primers desenvolvidos por Shaw *et al.* (2007). As reações de PCR foram conduzidas utilizando-se volume final de 20 μ L contendo tampão 1x (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500 mM KCl), 2.5 mM de MgCl₂, 3 mM de dNTP, 2 mM de cada primer, 1 U Taq DNA Polymerase (Invitrogen) e 5 ng/ μ L de DNA. As amplificações foram realizadas via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em termocicilador *Veriti 96 Well*

Thermal Cycler (Applied Biosystems) nas seguintes condições: desnaturação inicial a 80 °C por 5 minutos, posteriormente 30 ciclos de 95 °C por 1 min., 55 °C por 1 min. e 65 °C por 1 min., por fim uma etapa de extensão a 65 °C por 5 min. Os produtos amplificados foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose 2 % corrido por 40 minutos a 80 Volts. Após os fragmentos serem separados, estes foram corados com brometo de etídio e visualizados em transluminador sob luz ultravioleta. O resultado foi avaliado de acordo com a presença ou ausência de banda. A estimativa dos tamanhos dos produtos amplificados foi feita a partir de comparação com o marcador padrão *ladder 1 Kb*.

Após a obtenção dos produtos referentes às regiões de cpDNA, foi realizada a purificação. Para isso utilizou-se a enzima ExoSAP-IT^M (USB Corporation) conforme protocolo do fabricante. A reação de sequenciamento foi realizada com o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems) com volume final de 10 µL contendo 2 µL de tampão BigDye 5X, 5 mM de primer e 0,3 µL de BigDye v3.1. Esta foi conduzida em termociclador *Veriti 96 Well Thermal Cycler* (Applied Biosystems) seguindo o programa: 96 °C por 2 min., 35 ciclos de 96 °C por 30 segundos, 55 °C por 20 s. e 60 °C por 4 min. O sequenciamento foi realizado em sequenciador automático por eletroforese em capilar ABI 3130 Sequence Analyzer (Applied Biosystems).

Análise dos dados

A qualidade das sequências foi analisada por meio do eletroferograma no programa Bioedit v.7.1.9. As sequências consenso foram obtidas no programa Geneious v.9.1.8 e foram validadas por meio da ferramenta BLASTn do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Estas foram editadas e alinhadas no programa AliView

v.1.18.1. Após o alinhamento, as duas regiões foram concatenadas no programa Bioedit v.7.1.9.

Para as análises de diversidade, dividimos as sequências cloroplastidiais em cinco grupos: (i) o grupo domesticado do alto rio Solimões (provável centro de origem de domesticação), que inclui todos os indivíduos cultivados do alto rio Solimões/Amazonas/Brasil ($n = 43$), dividido em seis populações/localidades geográficas (Tabatinga 1, Tabatinga 2, Benjamin Constant, São Paulo de Olivença, Amaturá e Santo Antônio do Içá); (ii) o grupo silvestre do alto rio Solimões/Amazonas/Brasil ($n = 59$), dividido em seis populações/localidades geográficas (as mesmas localidades das populações domesticadas); (iii) o grupo silvestre de outros sítios ($n = 10$), que inclui os indivíduos do Acre/Brasil (Várzea), rio Madeira/Brasil (Terra Firme), Letícia/Colômbia (V), Letícia (TF) e La Pedrera/Colômbia (V); (iv) o grupo silvestre de *Pourouma cecropiifolia* ($n = 69$) que inclui todos os indivíduos silvestres de todas as regiões geográficas amostradas; (v) o grupo *Pourouma sp* ($n = 3$), que inclui os indivíduos de outras espécies do gênero *Pourouma* (*P. cucura*, *P. guianensis* e *P. mellinonni*). Desta análise os indivíduos cultivados do Acre e de Manaus foram excluídos por não sabermos a origem das progênies. A diversidade genética dos grupos foi determinada a partir da estimativa dos seguintes parâmetros: número de inserções e deleções (#InDels), número de substituições (#Subs), número de haplótipos por população (h), número de sítios polimórficos (S), diversidade haplotípica (Hd) e diversidade nucleotídica (π), estimadas com o software DNAsp 5.10.1 (Librado & Rozas 2009).

Análises de variância molecular hierárquica (AMOVA) foram realizadas a fim estimar a partição da variabilidade genética entre e dentro dos diferentes grupos. Os

índices de diferenciação genética foram obtidos a partir da AMOVA, estimados por meio de uma matriz de distâncias baseada nas diferenças genéticas par-a-par entre as populações. Quando particionada em dois níveis, a diferenciação genética entre as populações foi dada pelo índice θ_{st} . Quando particionada em três grupos, foram estimados os índices de diferenciação genética entre grupos (θ_{st}), entre populações dentro dos grupos (θ_{sc}) e dentro das populações (θ_{ct}). As significâncias dos índices de diferenciação genética foram testadas por meio de testes não-paramétricos com 20.000 permutações, utilizando o nível de significância 0.05, conforme Excoffier *et al.* (1992). Ambas as análises foram executadas no programa Arlequin 3.5 (Excoffier *et al.* 2005).

Uma rede de haplótipos baseada em 117 sequências foi construída utilizando o algoritmo Median Joining (Bandelt *et al.* 1999), com o objetivo de conhecer as relações filogenéticas entre as linhagens e identificar o grupo de indivíduos mais geneticamente similares aos indivíduos domesticados do alto rio Solimões, para inferir o centro de origem de domesticação das populações de *Pourouma cecropiifolia*. A rede foi construída no programa POPART usando as amostras com menos de 5 % de dados faltantes, de acordo com os requerimentos do programa (Leigh & Bryant 2015). Apenas as substituições foram consideradas como mutações para construção da rede.

Resultados

Efeitos da domesticação sobre a diversidade genética

O alinhamento final da região 3' *trnV-ndhC* resultou em 529 pares de bases, dos quais 35 sítios foram polimórficos. A região *atpI-atpH* resultou em um alinhamento final de 695 pares de base, dos quais 29 sítios foram polimórficos. Com as duas regiões

somaram-se 1.224 pares de bases com um total de 64 sítios polimórficos, contendo 34.31 % de T, 9.65 % de C, 41.13 % de A e 14.91 % de G.

Encontramos uma maior diversidade genética nas populações silvestres de *Pourouma cecropiifolia* e nos indivíduos de outras espécies de *Pourouma* em comparação com as populações domesticadas de *P. cecropiifolia* (Tabela 1). Encontramos 54 haplótipos nas populações silvestres de *P. cecropiifolia* e apenas 10 haplótipos nas populações domesticadas, o que representa uma redução de 81 % no número de haplótipos. As populações domesticadas apresentaram aproximadamente 4x menos sítios polimórficos (S) e 34 % menos diversidade nucleotídica (π) que as populações silvestres.

As análises de variância molecular hierárquica (Tabela 2) mostraram que a distribuição da variação genética difere entre os grupos domesticado e silvestre. Nas populações domesticadas do alto rio Solimões, a maior porcentagem da variação foi encontrada entre as populações ($\theta_{st} = 0.779$). Já nas populações silvestres do alto rio Solimões, a maior porcentagem da variação foi encontrada dentro das populações ($\theta_{st} = 0.287$). Ao compararmos os grupos domesticado e silvestre, considerando a variação em três níveis (entre os grupos, entre as populações dentro dos grupos e dentro das populações), a divergência entre os grupos foi alta ($\theta_{st} = 0.665$). Da variação total encontrada entre os grupos, a divergência entre as populações dentro dos grupos é levemente maior ($\theta_{sc} = 0.432$) que a divergência dentro dos grupos ($\theta_{ct} = 0.409$). Quando incluímos os indivíduos silvestres das outras localidades (fora do alto rio Solimões), a maior divergência é encontrada dentro das populações ($\theta_{ct} = 0.339$).

Padrões geográficos da diversidade genética

A rede de haplótipos (Figura 7) mostrou quatro, cinco e nove substituições entre as sequências de *Pourouma cecropiifolia* e *P. guianensis*, *P. cucura* e *P. mellinonni*, respectivamente. A diferenciação entre os indivíduos de *P. cecropiifolia* foi baixa, com no máximo duas substituições nucleotídicas entre os diferentes haplótipos. No grupo de *P. cecropiifolia* silvestre, 11 haplótipos foram identificados e são pouco diferenciados entre si. O haplótipo mais comum desse grupo (H1) é compartilhado por 38 indivíduos, sendo estes 33 indivíduos silvestres do alto rio Solimões, quatro indivíduos do rio Madeira e um indivíduo cultivado do Acre. No grupo domesticado do alto rio Solimões, três haplótipos foram identificados e também são pouco diferenciados entre si. O haplótipo mais comum do grupo domesticado (H2) é compartilhado por 36 indivíduos, sendo 30 indivíduos domesticados e seis indivíduos silvestres do alto rio Solimões. Os haplótipos H1 e H3, compostos majoritariamente por indivíduos silvestres do alto rio Solimões, são os mais relacionados com os haplótipos dos indivíduos domesticados (H2, H4 e H5).

Discussão

As populações domesticadas apresentaram uma redução na diversidade genética cloroplastidial em todos os parâmetros utilizados nesse estudo. No número de haplótipos, a redução nas populações domesticadas foi altamente significativa (81 %), um percentual bem maior que o encontrado em ingá (*Inga edulis*), outra árvore frutífera da Amazônia, onde foi observada uma redução de aproximadamente 43 % no número de haplótipos nas populações domesticadas (Dawson *et al.* 2008). A redução na diversidade nucleotídica (π) em *P. cecropiifolia* (34 %) foi igual a encontrada em uma

análise de duas regiões não codificantes do DNA cloroplastidial em populações domesticadas de feijão-de-lima (*Phaseolus lunatus*) dos Andes e da Mesoamérica (34 %) (Motta-Aldana *et al.* 2010). A redução na diversidade genética encontrada nas populações domesticadas de *P. cecropiifolia* sugere fortemente a ocorrência de um gargalo genético, decorrente do evento fundador na origem da domesticação e da seleção posterior sobre o pool gênico restrito, conforme esperado no processo de domesticação (Miller & Gross 2011; Meyer & Purugganan 2013).

No caso das populações domesticadas, a maior variação genética encontrada entre as populações do que dentro populações pode ser decorrente de seleção humana, considerando que o material genético sob seleção foi compartilhado entre diversos grupos humanos, com diferentes preferências alimentares e que selecionaram diferentes características, levando a maior diferenciação entre as populações (Meyer & Purugganan 2013). Em contrapartida, no grupo silvestre, a maior variação genética foi encontrada dentro das populações. É possível que os dispersores (morcegos e primatas de pequeno e médio porte, Porter 2001; Knogge & Heymann 2003; Gómez-Posada 2012) de *P. cecropiifolia* levem as sementes a longas distâncias, resultando em populações espacialmente menos estruturadas. Mas, o fator mais importante para a baixa estruturação espacial no grupo silvestre, em comparação com o grupo domesticado, deve ser a ausência de diversificação que é gerada pela seleção humana. A grande divergência entre os grupos domesticados e silvestres é decorrente do efeito da seleção humana, mas também devido as distâncias geográficas entre as populações silvestres e domesticadas, que devem estar restringindo o fluxo gênico entre as populações (Wright 1940; Wright 1943). Especificamente na região do alto rio Solimões, é possível que o rio Solimões seja uma barreira para o fluxo gênico e

contribua para diferenciação genética entre as populações da região (Ferreira *et al.* 2010), que, embora próximas, estão sempre situadas em margens opostas do rio.

O baixo número de substituições entre as sequências de cloroplasto de indivíduos geograficamente distantes de *Pourouma cecropiifolia* e entre *P. cecropiifolia* e as outras espécies congenéricas sugere que o gênero *Pourouma* se diversificou recentemente. Gaglioti (2015) estimou que *Pourouma* se originou durante o Oligoceno, há 32.35 milhões de anos, e que *P. cecropiifolia* divergiu das demais *Pouroumas* há 2.53 milhões de anos. A baixa diferenciação entre as linhagens domesticadas e silvestres do alto rio Solimões sugere que a origem da domesticação é a Amazônia Ocidental, mais especificamente na região da tríplice fronteira Brasil-Peru-Colômbia, conforme sugeriu Clement (1989), reforçando a Amazônia Ocidental como um centro de domesticação de árvores frutíferas (Clement *et al.* 2010).

Conclusões

Conforme esperado em populações de plantas sob seleção humana, as populações domesticadas de *Pourouma cecropiifolia* apresentaram menor diversidade genética que as populações silvestres. O evento fundador e a seleção subsequente sobre poucos indivíduos com características de interesse levaram a redução do número de haplótipos, do nível de polimorfismo e da diversidade nucleotídica em populações domesticadas de *P. cecropiifolia*. Apesar das diferenças encontradas no DNA cloroplastidial, encontramos um baixo número de substituições entre as populações silvestres de diferentes localidades geográficas, que sugere uma diversificação recente de *Pourouma cecropiifolia*. O baixo número de substituições encontrado também entre populações silvestres e domesticadas é possivelmente decorrente da domesticação

recente de populações da espécie (menos de 10.000 anos) e devido ao longo tempo de geração das árvores. A menor variação entre as linhagens foi encontrada entre as populações silvestres e domesticadas do alto rio Solimões, que sugere que a origem da domesticação de *P. cecropiifolia* é no próprio alto rio Solimões.

Agradecimentos

Agradecemos ao povo Ticuna pela autorização de ingresso e coleta de amostras de *Pourouma cecropiifolia* nas Terras Indígenas do Alto Solimões, Amazonas, Brasil, e à Fundação Nacional do Índio (FUNAI) pela anuência (proc. 08620.046540/2015-39).

Agradecemos ao Dr Ângelo Manzzato pela coleta e envio das amostras de *P. cecropiifolia* da Estação Ecológica Cuniã, alto rio Madeira, Rondônia. A pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo a Pesquisas do Amazonas (FAPEAM)/Fundo Newton proc. 062.00831/2015.

Referências

- Avise, J.C. 2004. *Molecular markers, natural history, and evolution*. 2da ed. Sinauer Associates, Sunderland, 541p.
- Bandelt, H.J.; Forster, P.; Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37-48.
- Chen, C.; Li, P.; Wang, R.H.; Schaal, B.A.; Fu, C.X. 2014. The Population Genetics of Cultivation: Domestication of a Traditional Chinese Medicine, *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. (Scrophulariaceae). *PLoS ONE*, 9(8): e105064.
- Clement, C.R. 1989. A center of crop genetic diversity in Western Amazonia. *BioScience*, 39(9): 624–631.

- Clement, C.R. 1999. 1492 and the loss of Amazonian crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. *Economic Botany*, 53(2): 188–202.
- Clement, C.R.; de Cristo-Araújo, M.; d'Eeckenbrugge, G.C.; Pereira, A.A.; Picanço-Rodrigues, D. 2010. Origin and Domestication of Native Amazonian Crops. *Diversity*, 2(1): 72-106.
- Daniell, H.; Lin, C.S.; Yu, M.; Chang, W.J. 2016. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome Biology*, 17(1): 1-29.
- Dawson, I.K.; Hollingsworth, P.M.; Doyle, J.J.; Kresovich, S.; Weber, J.C.; Montes, C.S.; Pennington, T.D.; Pennington, R.T. 2008. Origins and genetic conservation of tropical trees in agroforestry systems: A case study from the Peruvian Amazon. *Conservation Genetics*, 9: 361–372.
- Doebley, J.F.; Gaut, B.S.; Smith, B.D. 2006. The molecular genetics of crop domestication. *Cell*, 127: 1309-1321.
- Falcão, M.A.; Lleras, E. 1980. Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade do Mapati (Pourouma cecropiifolia Mart.). *Acta Amazônica*, 10(4): 711-724.
- Flint-Garcia, S.A. 2013. Genetics and consequences of crop domestication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 8267-8276.
- Ferreira, C.S.; Figueira, A.V.O; Gribel, R.; Wittmann, F.; Piedade, M.T.F. 2010. Genetic variability, divergence and speciation in trees of periodically flooded forests of the Amazon: A case study of *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. In: Junk, W.J.; Piedade, M.T.F.; Wittmann, F.; Schöngart, J.; Parolin, P. (Ed.) *Amazonian floodplain forests: ecophysiology, biodiversity and sustainable management*. Springer-Verlag, Berlin, p. 301-312.

- Gaglioti, A.L. 2015. *Sistemática, Filogenia e Biogeografia de Pourouma Aubl. (Urticaceae)*. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, São Paulo. 539p.
- Gómez-Posada, C. 2012. Dieta y comportamiento alimentario de un grupo de mico maicero *Cebus apella* de acuerdo a la variación en la oferta de frutos y artrópodos, en la Amazonía colombiana. *Acta Amazonica*, 42(3): 363-372.
- Harlan, J.R. 1992. *Crops and man*. 2da ed. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, 284p.
- Knogge, C.; Heymann, E. W. 2003. Seed dispersal by sympatric tamarins, *Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*: diversity and characteristics of plant species. *Folia Primatologica*, 74(1): 33–47.
- Leigh, J.W.; Bryant, D. 2015. Popart: full feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9): 1110–1116.
- Librado, P.; Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Liu, A.; Burke, J.M. 2006. Patterns of Nucleotide Diversity in Wild and Cultivated Sunflower. *Genetics*, 173: 321-330.
- Lopes, D.; Antoniassi, R.; Souza, M.L.M; Castro I.M. 1999. Caracterização química dos frutos de mapati (*Pourouma cecropiifolia* Martius – Moraceae). *Brazilian Journal of Food Technology*, 2(1,2): 45-50.
- McCauley, D.E. 1995. The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *TREE*, 10(5): 198-202.
- Meyer, R.S.; DuVal, A.E; Jensen, H.R. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops.

- The New Phytologist*, 196(1): 29–48.
- Meyer, R. S., & Purugganan, M. D. (2013). Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature Reviews. Genetics*, 14(12): 840-852.
- Miller, A.J.; Gross, B.L. 2011. From forest to field: Perennial fruit crop domestication. *American Journal of Botany*, 98(9): 1389–1414.
- Miller, R.P; Nair, P.K.R. 2006. Indigenous agroforestry systems in Amazonia: From prehistory to today. *Agroforestry systems*, 66: 151-164.
- Motta-Aldana, J.R.; Serrano-Serrano, M.L.; Hernández-Torres, J.; Castillo-Villamizar, G.; Debouck, D.G.; Chacón S., M.I. 2010. Multiple origins of lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. *Crop Science*, 50: 1773-1787.
- Petit, R.J.; Duminil, J.; Fineschi, S.; Hampe, A.; Salvini, D.; Vendramin, G.G. 2005. Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology*, 14: 689-701.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: Insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*, 100: 925–940.
- Porter, L.M. 2001. Dietary differences among sympatric Callitrichinae in northern Bolivia: *Callimico goeldii*, *Saguinus fuscicollis* and *S. labiatus*. *Internacional Journal of Primatology*, 22(6): 961-992.
- Provan, J.; Powell, W.; Hollingsworth, P.M. 2001. Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(3): 142-147.
- Rindos, D. 1984. *The origins of agriculture: An evolutionary perspective*. Academic Press, San Diego, 325p.

- Ross-Ibarra, J.; Morrell, P.L; Gaut, B.S. 2007. Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation. *PNAS*, 104: 8641-8648.
- Shaw, J.; Lickey, E. B.; Schilling, E. E.; Small, R. L. 2007. Comparison of Whole Chloroplast Genome Sequences to Choose Noncoding Regions for Phylogenetic Studies in Angiosperms: the Tortoise and the Hare III. *American Journal of Botany*, 94(3): 275–288.
- Wright, S. 1940. Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist*, 74: 232-248.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28(2): 114-138.
- Zeder, M.A.; Emshwiller, E.; Smith, B.D.; Bradley, D.G. 2006. Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. *Trends in Genetics*, 22(3): 139-155.
- Zohary, D. 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany*, 58(1): 5–10.

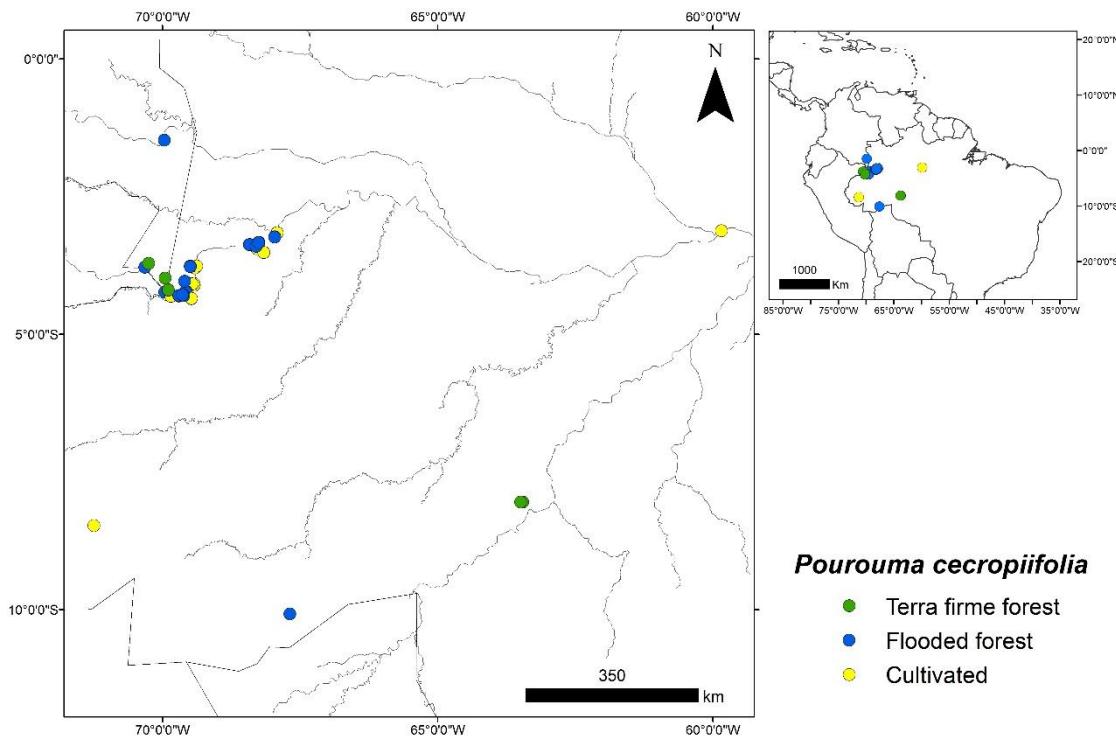


Figura 6. Mapa da área de estudo contendo os pontos de coleta de 117 indivíduos de *Pourouma cecropiifolia* e três individuos de outras espécies de *Pourouma*, em 11 municípios, ao longo do alto rio Solimões, e em pontos próximos ao rio Madeira, rio Juruá, rio Purus, rio Içá e rio Japurá. Os pontos amarelos representam os indivíduos cultivados; os pontos verdes, os indivíduos silvestres de florestas de terra firme; os pontos azuis, os indivíduos silvestres de florestas de várzeas.

Tabela 1. Diversidade do DNA cloroplastidial de 115 indivíduos de *Pourouma cecropiifolia* ao longo do alto rio Solimões e outros pontos bacia Amazônica, baseada em duas regiões de DNA cloroplastidial (3' trnV-ndhC e atpI-atpH). N = número de amostras, #Subs = número de substituições nucleotídicas, #InDels = número de inserções e deleções, S = número de sítios polimórficos, h = número de haplótipos, Hd = diversidade haplotípica e π = diversidade nucleotídica.

Grupos/Populações	<i>N</i>	#Subs	#InDels	<i>S</i>	<i>H</i>	<i>Hd</i>	$\Pi (x10^{-2})$
<i>Domesticado do alto rio Solimões</i>	43	3	9	12	10	0.84	0.063
Tabatinga 1	7	0	0	0	1	0.00	0.000
Tabatinga 2	10	1	3	4	4	0.78	0.017
Benjamin Constant	5	0	1	1	2	0.40	0.000
São Paulo de Olivença	5	0	0	0	1	0.00	0.000
Amaturá	11	0	3	3	3	0.63	0.000
Santo Antônio do Içá	5	0	0	0	1	0.00	0.000
<i>Silvestre do alto rio Solimões</i>	59	8	18	26	47	0.99	0.075
Tabatinga 1	9	0	9	9	7	0.92	0.000
Tabatinga 2	14	2	12	14	12	0.98	0.073
Benjamin Constant	6	1	7	8	6	1.00	0.028
São Paulo de Olivença	8	5	9	14	8	1.00	0.104
Amaturá	15	1	9	10	13	0.99	0.040
Santo Antônio do Içá	7	0	1	1	2	0.29	0.000
<i>Silvestre de outros sítios</i>	10	5	27	32	7	0.87	0.154

<i>Silvestres</i>	69	12	32	44	54	0.99	0.096
<i>Pouroumas sp.</i>	3	8	14	22	3	1.00	0.445
Total	115	20	43	63	66	0.97	0.143

Tabela 2. Análise de variância molecular hierárquica de duas regiões de DNA cloroplastidial de populações de *Pourouma cecropiifolia*, usando diferentes modelos de agrupamentos

Fonte da variação	GL	Soma dos quadrados	Componentes da variância	Porcentagem de variância	Índices de diferenciação genética	Valor de p
<i>i) Populações domesticadas do alto rio Solimões</i>						
Entre populações	5	50.848	1.397 Va	77.90	$\theta_{st} = 0.779$	<0.0001
Dentro das populações	37	14.664	0.396 Vb	22.10		
Total	42	65.512	65.512			
<i>ii) Populações silvestres do alto rio Solimões</i>						
Entre populações	5	50.236	0.832 Va	28.67	$\theta_{st} = 0.287$	<0.0001

Dentro das populações	53	109.662	2.069 Vb	71.33		
Total	58	159.898	2.901			

iii) Grupo domesticado do alto rio Solimões vs. Grupo silvestre do alto rio Solimões

Entre grupos	1	95.090	1.687 Va	40.94	$\theta_{st} = 0.665$	0.0002
Entre populações dentro dos grupos	10	101.084	1.052 Vb	25.53	$\theta_{sc} = 0.432$	<0.0001
Dentro das populações	90	124.326	1.381 Vc	33.52	$\theta_{ct} = 0.409$	<0.0001
Total	101	320.500	4.121			

iv) Grupo domesticado do alto rio Solimões vs. Grupo com todos as populações silvestres de Pourouma cecropiifolia

Entre grupos	1	90.376	1.480 Va	33.90	$\theta_{st} = 0.595$	0.0007
--------------	---	--------	----------	-------	-----------------------	--------

Entre populações	11	123.500	1.118 Vb	25.60	$\theta_{sc} = 0.387$	<0.0001
dentro dos grupos						
Dentro das	99	175.026	1.768 Vc	40.50	$\theta_{ct} = 0.339$	<0.0001
populações						
Total	111	388.902	4.366			

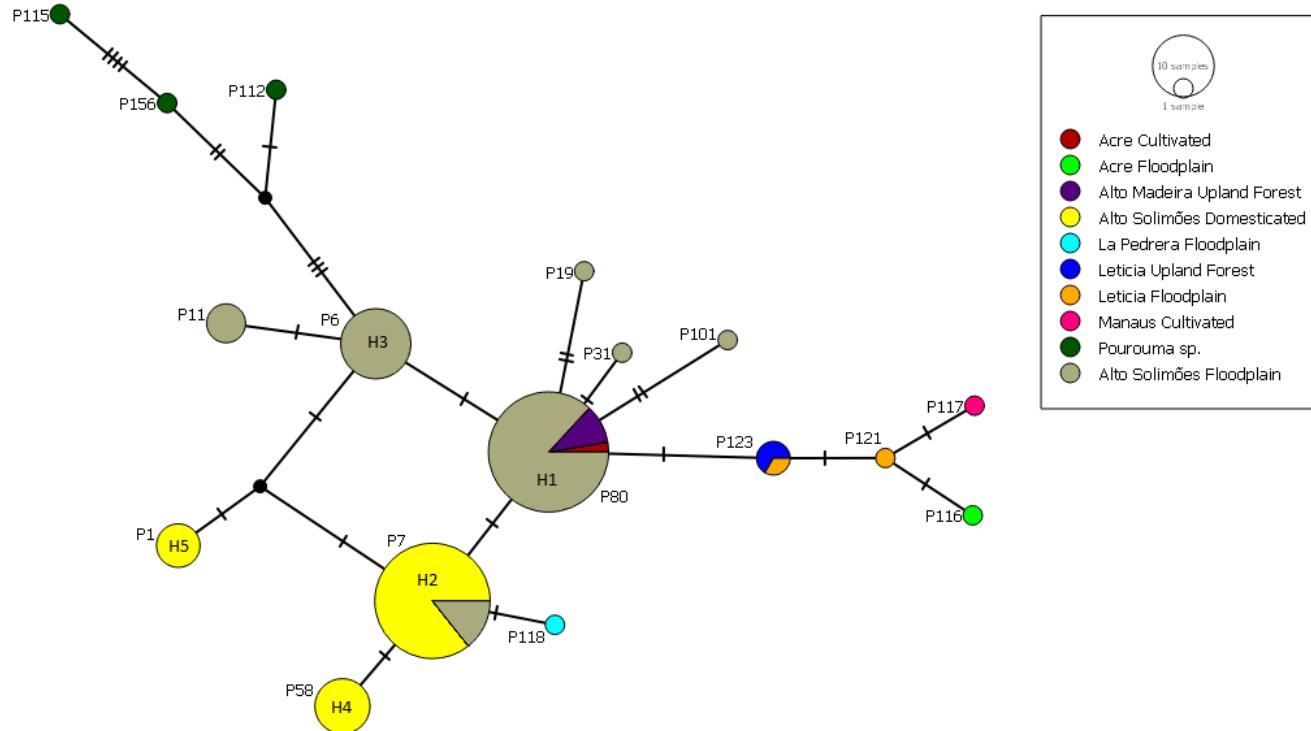


Figura 7. Rede de haplótipos baseada nas sequências intergênicas *3' trnV-ndhC* e *atpI-atpH* do genoma cloroplastidial, mostrando as relações entre as plantas domesticadas e silvestres de *Pourouma cecropiifolia*, e entre essas e outras espécies de *Pourouma* (outgroup), coletadas em cinco rios da Bacia Amazônica. Cada círculo corresponde a um haplótipo e sua área é proporcional a frequência de ocorrência do haplótipo (número de indivíduos que compartilham o haplótipo). As cores representam a origem geográfica de cada grupo ou indivíduo, conforme a legenda. As linhas

representam as relações entre as linhagens e os traços verticais representam o número de substituições entre as linhagens. Os círculos pretos representam haplótipos hipotéticos que não foram amostrados.

Síntese

Estudar o conjunto dos diferentes aspectos morfológicos, ecológicos e genéticos que marcam as mudanças geradas com a seleção humana nos fornece informações integradas e robustas sobre a história da domesticação de plantas. Em nosso trabalho aliamos uma abordagem ecológica e uma abordagem genética para estudar a domesticação de *Pourouma cecropiifolia*, uma espécie arbórea frutífera largamente cultivada e consumida nas comunidades indígenas do povo Ticuna do Brasil, Peru e Colômbia. Por meio da abordagem ecológica avaliamos as características que estão e que não estão sob seleção humana, as correlações entre características e suas relações com o ambiente. Já, por meio da abordagem genética investigamos as diferenças e variações em aspectos genéticos entre populações silvestres e populações domesticadas, a fim de encontrar os sinais da domesticação sobre o DNA cloroplastidial das plantas cultivadas e identificar o centro de origem de domesticação de *Pourouma cecropiifolia*.

Sob a perspectiva ecológica, encontramos um grande conjunto de modificações morfológicas que demonstram evidências fortes de que populações de *Pourouma cecropiifolia* da Amazônia Ocidental foram domesticadas. A seleção humana gerou grandes alterações nas características morfológicas dos frutos de populações de *P. cecropiifolia*, mas não alterou de forma significativa as características vegetativas das plantas. A atuação conjunta entre a seleção natural e a seleção humana modificou o padrão esperado na alometria entre a massa da semente e a massa do fruto, devido aos efeitos contrastantes entre os filtros ambientais, que promovem a redução da semente e a seleção humana, que promove o aumento da semente. As variações ambientais tiveram efeitos sutis quando comparadas aos efeitos da seleção humana sobre as mudanças morfológicas associadas a domesticação. Sob a perspectiva genética, também encontramos mudanças que marcam a domesticação de populações de *P. cecropiifolia*. As populações domesticadas apresentaram menor diversidade genética que as populações silvestres. O evento fundador e a seleção subsequente sobre poucos indivíduos com características de interesse levaram a redução do número de haplótipos, do nível de polimorfismo e da diversidade nucleotídica em populações domesticadas. A menor variação entre as linhagens foi encontrada entre as populações silvestres e domesticadas do alto rio Solimões, que sugere que a origem da domesticação de *P. cecropiifolia* é no próprio alto rio Solimões.

Referências Bibliográficas

- Avise, J.C. 2004. *Molecular markers, natural history, and evolution*. 2da ed. Sinauer Associates, Sunderland, 541p.
- Bandelt, H.J.; Forster, P.; Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37-48.
- Bentos, T. V.; Mesquita, R.C.G.; Camargo, J.L.C.; Williamson, G.B. 2013. Seed and fruit tradeoffs – the economics of seed packaging in Amazon pioneers. *Plant Ecology & Diversity*, 874: 371-382.
- Browning, G. 1985. Reproductive behaviour of fruit tree crops and its implications for the manipulation of fruit set. In: Cannell, M.G.R.; Jackson, J.E. (Ed.), *Attributes of trees as crop plants*. Institute of Terrestrial Ecology, Huntington, Cambridgeshire, p. 409-425.
- Can, N. D., and Yoshida, T. 1999. Genotypic and phenotypic variances and covariances in early maturing grain sorghum in a double cropping. *Plant Prod. Sci.* 2: 67–70.
- Cannell, M. G. R. 1985. Dry matter partition in tree crops. In: Cannell, M.G.R.; Jackson, J.E. (Ed.), *Attributes of trees as crop plants*. Institute of Terrestrial Ecology, Huntington, 160–193.
- Chen, H.; Felker, S.; Sun, S. 2010. Allometry of within-fruit reproductive allocation in subtropical dicot woody species. *American Journal of Botany*, 97(4): 611-619.
- Chen, C.; Li, P.; Wang, R.H.; Schaal, B.A.; Fu, C.X. 2014. The Population Genetics of Cultivation: Domestication of a Traditional Chinese Medicine, *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. (Scrophulariaceae). *PLoS ONE*, 9(8): e105064.
- Clement, R.C. 1988. Domestication of pejibaye (*Bactris gasipaes*): Past and present. In: Balick, M.J. (Ed.), *The Palm - Tree of Life. Biology, Utilization and Conservation*.

- Advantages in Economic Botany, New York, New York, p. 155-174.
- Clement, C.R. 1989. A center of crop genetic diversity in Western Amazonia. *BioScience*, 39(9): 624–631.
- Clement, C.R. 1999. 1492 and the loss of Amazonian crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. *Economic Botany*, 53(2): 188–202.
- Clement, C.R.; de Cristo-Araújo, M.; d'Eeckenbrugge, G.C.; Pereira, A.A.; Picanço-Rodrigues, D. 2010. Origin and Domestication of Native Amazonian Crops. *Diversity*, 2(1): 72-106.
- Daniell, H.; Lin, C.S.; Yu, M.; Chang, W.J. 2016. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome Biology*, 17(1): 1-29.
- Dawson, I.K.; Hollingsworth, P.M.; Doyle, J.J.; Kresovich, S.; Weber, J.C.; Montes, C.S.; Pennington, T.D.; Pennington, R.T. 2008. Origins and genetic conservation of tropical trees in agroforestry systems: A case study from the Peruvian Amazon. *Conservation Genetics*, 9: 361–372.
- Doebley, J.F.; Gaut, B.S.; Smith, B.D. 2006. The molecular genetics of crop domestication. *Cell*, 127: 1309-1321.
- Ducke, A. 1946. Plantas de cultura precolombiana na Amazônia Brasileira. Notas sobre as espécies ou formas espontâneas que supostamente lhes teriam dado origem. *Boletim do Instituto. Agronômico do Norte* 8: 1–24.
- EMBRAPA. 1997. Manual de métodos de análise de solos. 2da ed. Centro Nacional de Pesquisas de Solo, Rio de Janeiro, 212p.

Eriksson, O.; Friis, E.M.; Löfgren, P. 2000. Seed size, fruit size, and dispersal systems in angiosperms from the Early Cretaceous to the Late Tertiary. *American Naturalist*, 156(1): 47-58.

FAO (2004) What is agrobiodiversity? Building on gender, agrobiodiversity and local Knowledge.

Flint-Garcia, S.A. 2013. Genetics and consequences of crop domestication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 8267-8276.

Fraley, C.; Raftery, A.E. 2002. Model-based clustering, discriminant analysis and density estimation. *Journal of the American Statistical Association*, 97(458): 611-631.

Fraley, C.; Raftery, A.E.; Murphy, B.; Scrucca, L. 2012. Mclust version 4 for R: normal mixture modeling for model-based clustering, classification, and density estimation. *Technical Report No. 597*, Department of Statistics, University of Washington.

Gaglioti, A.L. 2015. *Sistemática, Filogenia e Biogeografia de Pourouma Aubl. (Urticaceae)*. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, São Paulo. 539p.

Gómez-Posada, C. 2012. Dieta y comportamiento alimentario de un grupo de mico maicero Cebus apella de acuerdo a la variación en la oferta de frutos y artrópodos, en la Amazonía colombiana. *Acta Amazonica*, 42(3): 363-372.

Gratani, L. 2014. Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Advances in Botany*, 2014: 1–17.

Harlan, J.R. 1992. *Crops and man*. 2da ed. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, 284p.

- Hammond, D.S.; Brown, V.K. 1995. Seed size of woody plant in relation to disturbance, dispersal, soil, type in wet neotropical forest. *Ecology*, 76(8): 2544–2561.
- Ibarra-Manriquez, G.; Oyama, K. 1992. Ecological correlates of reproductive traits of Mexican rain forest trees. *American Journal of Botany*, 79(4): 383–394.
- Janick, J.; Paull, R. E. 2008. *The encyclopedia of fruits and nuts*. 1a ed. CABI Head Office, Cambridge, 954p.
- Keeling, H.C.; Phillips, O.L. 2007. A calibration method for the crown illumination index for assessing forest light environments. *Forest Ecology and Management*, 242: 431–437.
- Kleyer, M.; Minden, V. 2015. Why functional ecology should consider all plant organs: An allocation-based perspective. *Basic and Applied Ecology*, 16: 1–9.
- Knogge, C.; Heymann, E. W. 2003. Seed dispersal by sympatric tamarins, *Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*: diversity and characteristics of plant species. *Folia Primatologica*, 74(1): 33–47.
- Larson, G.; Piperno, D.R.; Allaby, R.G.; Purugganan, M.D.; Andersson, L.; Arroyo-Kalin; et al. 2014. Current perspectives and the future of domestication studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17): 6139–6146.
- Leigh, J.W.; Bryant, D. 2015. Popart: full feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9): 1110–1116.
- Levis, C.; Costa, F.R.C.; Bongers, F.; Peña-Claros, M.; Clement, C.R.; Junqueira, A.B.; et al. 2017. Persistent effects of pre-Columbian plant domestication on Amazonian forest composition. *Science*, 355: 925–931.

- Li, L.F.; Wang, H.Y; Zhang, C.; Wang, X.F.; Shi, F.X; Chen W.N.; Ge X.J. 2013. Origins and domestication of cultivated banana inferred from chloroplast and nuclear genes. *PLoS ONE*, 8(11): e80502.
- Li, X., Yan, W., Agrama, H., Jia, L., Jackson, A., Moldenhauer, K., et al. 2012. Unraveling the complex trait of harvest index with association mapping in rice (*Oryza sativa L.*). *PLoS One*, 7: 1–10.
- Librado, P.; Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Liu, A.; Burke, J.M. 2006. Patterns of Nucleotide Diversity in Wild and Cultivated Sunflower. *Genetics*, 173: 321-330.
- Lopes, D.; Antoniassi, R.; Souza, M.L.M; Castro I.M. 1999. Caracterização química dos frutos de mapati (*Pourouma cecropiifolia* Martius – Moraceae). *Brazilian Journal of Food Technology*, 2(1,2): 45-50.
- Martinez, I.; Garcia, D.; Obeso, J.R. 2007. Allometric allocation in fruit and seed packaging conditions the conflict among selective pressures on seed size. *Evolutionary Ecology*, 21: 517–533.
- McCauley, D.E. 1995. The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 10(5): 198-202.
- McCouch, S. 2004. Diversifying selection in plant breeding. *PLoS Biology*, 2(10):1507-1512.
- Meyer, R.S.; DuVal, A.E; Jensen, H.R. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *The New Phytologist*, 196(1): 29–48.

- Meyer, R.S.; Purugganan, M.D. 2013. Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature Reviews Genetics*, 14(12): 840–852.
- Milla, R; Morente-López, J. 2014. Limited evolutionary divergence of seedlings after the domestication of plant species. *Plant Biology*, 17(1): 169–176.
- Milla, R.; Osborne, C.P.; Turcotte, M.M; Violle, C. 2015. Plant domestication through an ecological lens. *Trends in Ecology and Evolution*, 30(8): 463–469.
- Milla, R.; Matezans, S. 2017. Growing larger with domestication: a matter of physiology, morphology or allocation? *Plant Biology*, 19(3): 475-483.
- Miller, A.J.; Gross, B.L. 2011. From forest to field: Perennial fruit crop domestication. *American Journal of Botany*, 98(9): 1389–1414.
- Miller, R.P; Nair, P.K.R. 2006. Indigenous agroforestry systems in Amazonia: From prehistory to today. *Agroforestry systems*, 66: 151-164.
- Moles, A.T.; Ackerlys, D.D.; Webb, C.O.; Tweddle, J.C.; Dichier, J.B.; Pitman, A.J.; Westoby, M. 2005. Factors that shape seed mass evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(30): 10540-10544.
- Nei, M.; Maruyama, T.; Chakraborty, R. 2012. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29(1): 1–10.
- Niklas, K.J. 1994. *Plant Allometry: the scaling of form and process*. 1a ed. University of Chicago Press, Chicago, 395p.
- Olobatuyi, M. E. 2006. Useful Information in Applying Path Analysis. In: Olobatuyi, M. E. (Ed.), *A User's Guide to Path Analysis*. University Press of America, Lanham, 133–170.

- Petit, R.J.; Duminil, J.; Fineschi, S.; Hampe, A.; Salvini, D.; Vendramin, G.G. 2005. Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology*, 14: 689-701.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: Insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*, 100: 925–940.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of 15 rain forest tree species to a light gradient; the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology*, 13: 396–410.
- Poorter, L., Wright, S. J., Paz, H., Ackerly, D. D., Condit, R., Ibarra-Manríquez, G., et al. 2008. Are Functional Traits Good Predictors of Demographic Rates? Evidence From Five Neotropical Forests. *Ecology*, 89: 1908–1920.
- Porter, L.M. 2001. Dietary differences among sympatric Callitrichinae in northern Bolivia: *Callimico goeldii*, *Saguinus fuscicollis* and *S. labiatus*. *Internacional Journal of Primatology*, 22(6): 961-992.
- Preece, C., Livarda, A., Christin, P. A., Wallace, M., Martin, G., Charles, M., et al. 2017. How did the domestication of Fertile Crescent grain crops increase their yields? *Functional Ecology*, 31: 387–397.
- Provan, J.; Powell, W.; Hollingsworth, P.M. 2001. Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(3): 142-147.
- Purugganan, M.D.; Fuller, D.Q. 2009. The nature of selection during plant domestication. *Nature*, 457: 843–848.

- R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Vienna, Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.
- Rindos, D. 1984. *The origins of agriculture: An evolutionary perspective*. Academic Press, San Diego, 325p.
- Ross-Ibarra, J.; Morrell, P.L; Gaut, B.S. 2007. Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104: 8641-8648.
- Salisbury, E. 1974. Seed size and mass in relation to environmental. *Proceedings of the Royal Society B*, 186: 83-88.
- Shaw, J.; Lickey, E. B.; Schilling, E. E.; Small, R. L. 2007. Comparison of Whole Chloroplast Genome Sequences to Choose Noncoding Regions for Phylogenetic Studies in Angiosperms: the Tortoise and the Hare III. *American Journal of Botany*, 94(3): 275–288.
- Scheiner, S. M. 1993. Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity. *Annuals Reviews Ecology Systems*, 24: 35–68.
- Schllichting, C. D., and Levin, D. A. 1986. Phenotypic plasticity: an evolving plant character. *Biological Journal Linnean Society*, 29: 37–47.
- Shiels, A.B.; Drake, D.R. 2011. Are introduced rats (*Rattus rattus*) both seed predators and dispersers in Hawaii? *Biological Invasions*, 13: 883–894.
- Spiess, A.N. 2014. qpcR: Modelling and analysis of real-time PCR data. R package version 1.4-0. <https://CRAN.R-project.org/package=qpcR>
- Smith, B. 2011. A Cultural Niche Construction Theory of Initial Domestication. *Biological Theory*, 6: 260–271.

- Tanksley, S.D. 2009. The Genetic, developmental , and molecular bases of fruit size in tomato and shape variation. *The Plant Cell*, 16: 181–189.
- Tarboton, D. G. 2003. Soil properties. In: Tarboton, D. G. (Ed.), *Rainfall-Runoff Proces*. Utah State University, Logan, 45–75.
- Westoby, M.; Rice, B; Howell, J. 1990. Seed size and plant growth form as factor in dispersal spectra. *Ecology*, 71(4): 1307-1315.
- Westoby, M.; Leishman, M.; Lord, J.; Poorter, H.; Schoen, D.J. 1996. Comparative ecology of seed size and dispersal. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 351: 1309-1318.
- Zeder, M.A.; Emshwiller, E.; Smith, B.D.; Bradley, D.G. 2006. Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. *Trends in Genetics*, 22(3): 139-155.
- Zohary, D. 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic Botany*, 58(1): 5–10.
- Zou, J. S., Yao, K. M., Lu, C. G., and Hu, X. 2003. Study on individual plant type character of Liangyoupeiji rice. *Acta Agron. Sin*, 29: 652–657.

**APÊNDICE A – MATERIAL SUPLEMENTAR DO MANUSCRITO EM
PREPARAÇÃO PARA A *Functional Ecology* (Capítulo I)**

Supplementary Material

The domestication of the Amazon tree grape (*Pourouma cecropiifolia*) under an ecological lens

Hermízia C. Pedrosa*, Charles R. Clement and Juliana Schietti

* Correspondence: Corresponding Author: hermisia.pedrosa@gmail.com

Supplementary Table 1. Means and standard deviations per group (domesticated and wild) of the 10 morphological characteristics evaluated in the study.

Trait	Wild		Domesticated	
	mean	sd	Mean	Sd
Fruits per bunch	50.30	9.90	37.82	6.96
Fruit length (cm)	1.52	0.07	2.53	0.12
Fruit diameter (cm)	1.04	0.08	2.71	0.17
Fruit mass (g)	0.45	0.19	9.41	1.62
Seed mass (g)	0.16	0.07	1.67	0.15
Pulp mass (g)	0.17	0.07	6.11	1.38
Pulp:fruit mass ratio	0.34	0.03	0.64	0.03
Seed:fruit mass ratio	0.33	0.05	0.18	0.02
Plant height: DBH ratio (m/cm)	1.02	0.12	0.59	0.10
Wood density (g/cm ³)	0.23	0.02	0.18	0.02

Supplementary Table 2. Mean values of environment variables and morphological characteristics by population.

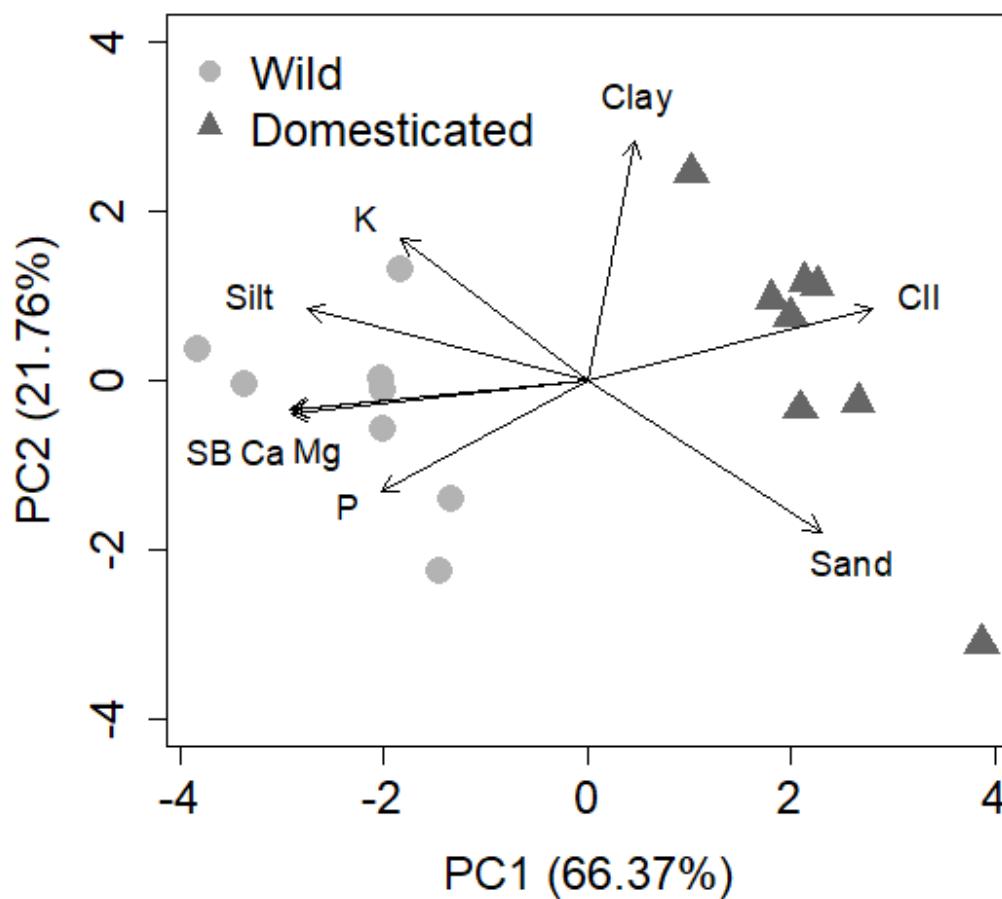
Population	Group	Crow	Illumitation Index (CHI)	Sand (%)	Clay (%)	Silt (%)	Ca (cmolc.kg)	Mg (cmolc.kg)	K (cmolc.kg)	P (mg.kg)	SB
1	Wild	2.70	0.16	23.42	76.42	17.71	4.07	0.28	143.56	22.06	
2	Wild	2.95	10.12	35.10	54.78	14.52	2.26	0.26	83.12	17.04	
3	Wild	2.80	27.77	16.59	55.64	9.93	2.10	0.18	213.57	12.21	
4	Wild	2.80	12.33	23.38	64.29	13.15	2.76	0.20	104.49	16.10	
5	Wild	2.75	35.52	12.95	51.53	9.33	2.02	0.18	335.18	11.53	
6	Wild	3.05	15.69	22.62	61.69	12.85	2.92	0.25	129.55	16.01	
7	Wild	2.85	7.48	19.14	73.38	15.34	3.41	0.30	204.73	19.05	
8	Wild	2.60	8.48	17.33	74.19	12.97	2.96	0.15	9.29	16.08	
9	Domesticated	4.00	14.88	33.12	52.00	0.68	0.45	0.32	4.90	1.45	
10	Domesticated	3.80	46.28	22.79	30.93	1.52	0.43	0.17	32.27	2.11	
11	Domesticated	3.90	30.28	30.72	39.00	0.97	0.50	0.16	3.91	1.63	
12	Domesticated	3.80	22.41	29.86	47.73	0.15	0.24	0.16	2.47	0.55	
13	Domesticated	3.90	47.91	24.41	27.68	0.10	0.22	0.14	3.43	0.47	
14	Domesticated	4.00	32.40	32.87	34.73	0.36	0.32	0.20	8.55	0.88	
15	Domesticated	4.00	28.98	33.99	37.03	0.10	0.24	0.16	7.22	0.50	
16	Domesticated	4.00	93.23	6.41	0.36	0.21	0.23	0.10	7.26	0.54	

Supplementary Table 2. (Continued) Mean values of environment variables and morphological characteristics by population.

Population	Group	Fruits per bunch	Fruit length (cm)	Fruit diameter (cm)	Fruit mass (g)	Seed mass (g)	Pulp mass (g)	Pulp:fruit mass ratio	Seed: fruit mass ratio	Height (m)	DBH (cm)	Plant height: DBH ratio (m/cm)	Wood density (g/cm³)
1	Wild	65.52	1.60	1.02	0.32	NA	NA	NA	NA	16.43	18.49	0.98	0.20
2	Wild	60.70	1.50	1.06	0.60	0.25	0.21	0.32	0.41	17.11	16.27	1.19	0.21
3	Wild	50.62	1.51	1.03	0.46	0.15	0.18	0.39	0.32	17.10	21.17	0.94	0.22
4	Wild	39.84	1.59	1.09	0.54	0.21	0.19	0.36	0.37	19.37	24.43	0.85	0.22
5	Wild	42.16	1.56	1.20	0.79	0.23	0.28	0.33	0.35	15.10	20.36	0.90	0.23
6	Wild	57.66	1.47	1.02	0.34	0.12	0.11	0.31	0.33	21.22	21.55	1.08	0.26
7	Wild	44.92	1.40	0.94	0.26	0.07	0.08	0.31	0.26	17.86	18.45	1.05	0.24
8	Wild	40.98	1.51	0.99	0.28	0.08	0.10	0.35	0.28	18.05	17.14	1.15	0.24
9	Domesticated	32.82	2.55	2.86	10.16	1.74	6.84	0.67	0.17	9.36	16.52	0.65	0.23
10	Domesticated	46.84	2.34	2.55	7.51	1.37	4.75	0.63	0.18	9.42	14.42	0.74	0.20
11	Domesticated	35.44	2.66	2.71	9.72	1.75	6.21	0.63	0.18	8.58	14.06	0.65	0.15
12	Domesticated	30.12	2.67	2.97	12.20	1.86	8.58	0.69	0.15	7.84	14.76	0.63	0.17
13	Domesticated	30.82	2.61	2.86	10.92	1.75	7.35	0.67	0.16	11.42	24.01	0.53	0.18
14	Domesticated	41.92	2.45	2.64	8.57	1.66	5.10	0.59	0.20	8.05	16.94	0.52	0.17
15	Domesticated	36.76	2.43	2.54	8.17	1.67	4.99	0.61	0.21	7.51	17.18	0.48	30.18
16	Domesticated	47.84	2.52	2.57	8.04	1.53	5.09	0.62	0.19	9.35	20.96	0.47	3.38

Supplementary Table 3. Matrix of the regression analysis by characteristic. The adjusted R-squared, coefficients and p-values are presented for the environmental gradient and for the domestication dichotomy. The effect of domestication by environment was obtained by multiplying the domestication effects on the environmental conditions, and the direct effects of the environment on the morphological characteristics.

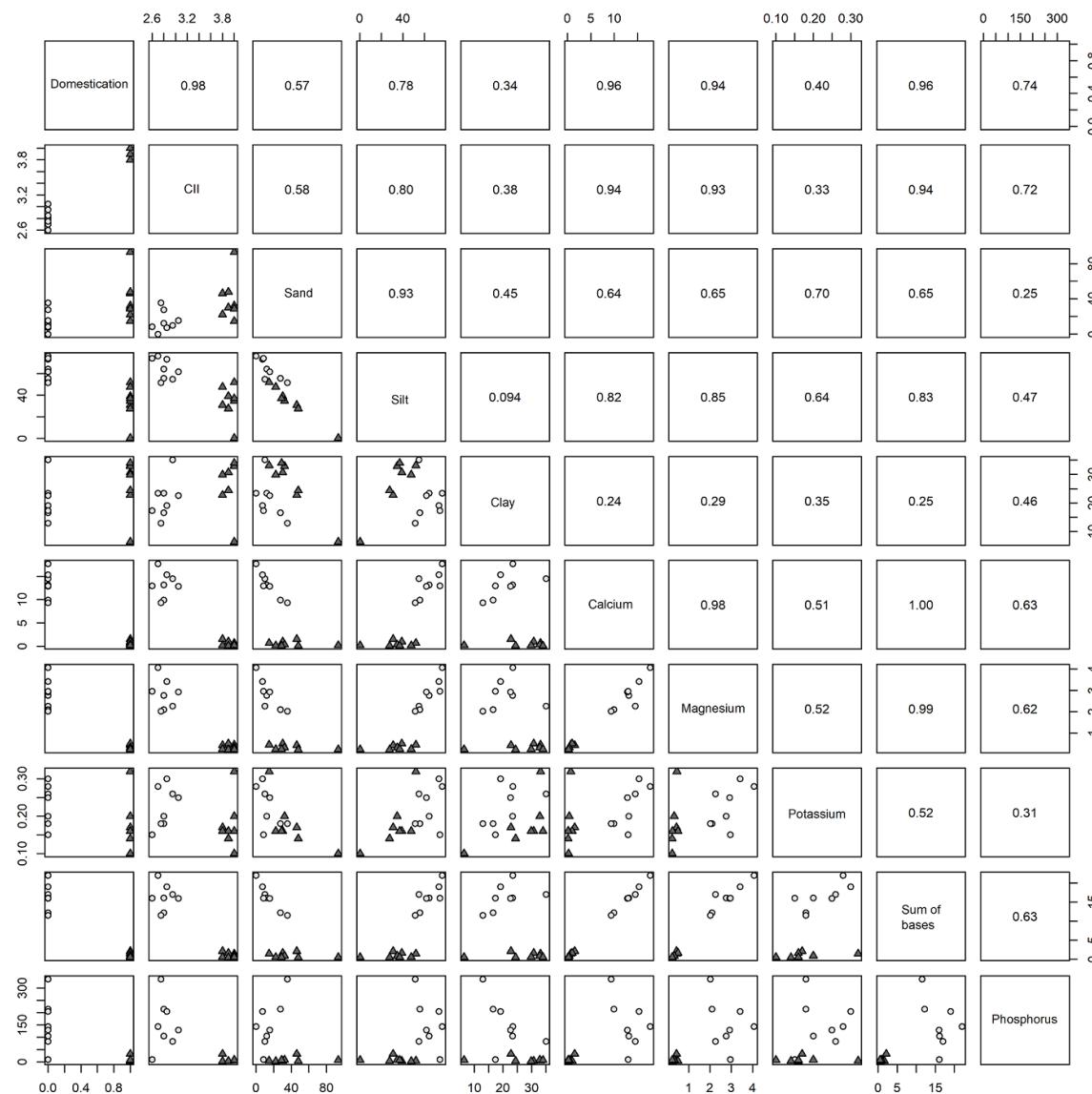
Trait	Environmental gradient			Domestication			Domestication on environmental gradient		Domestication via environment	
	r ²	Coefficient	p-value	r ²	Coefficient	p-value	Coefficient	Coefficient	Coefficient	
Fruits per bunch	0.29	0.583	0.018	0.33	-0.615	0.011	0.96		0.549	
Fruit length (cm)	0.85	0.925	< 0.001	0.97	0.985	< 0.001	0.96		0.871	
Fruit diameter (cm)	0.85	0.926	< 0.001	0.98	0.990	< 0.001	0.96		0.872	
Fruit mass (g)	0.80	0.899	< 0.001	0.94	0.972	< 0.001	0.96		0.847	
Seed mass (g)	0.86	0.991	< 0.001	0.98	0.989	< 0.001	0.96		0.933	
Pulp mass (g)	0.76	0.935	< 0.001	0.90	0.953	< 0.001	0.96		0.880	
Pulp:fruit mass ratio	0.86	0.989	< 0.001	0.96	0.980	< 0.001	0.96		0.931	
Seed:fruit mass ratio	0.63	-0.859	< 0.001	0.81	-0.906	< 0.001	0.96		-0.809	
Plant height: DBH ratio (m/cm)	0.79	-0.897	< 0.001	0.80	-0.903	< 0.001	0.96		-0.845	
Wood density (g/cm ³)	0.49	-0.725	0.001	0.52	-0.745	< 0.001	0.96		-0.683	



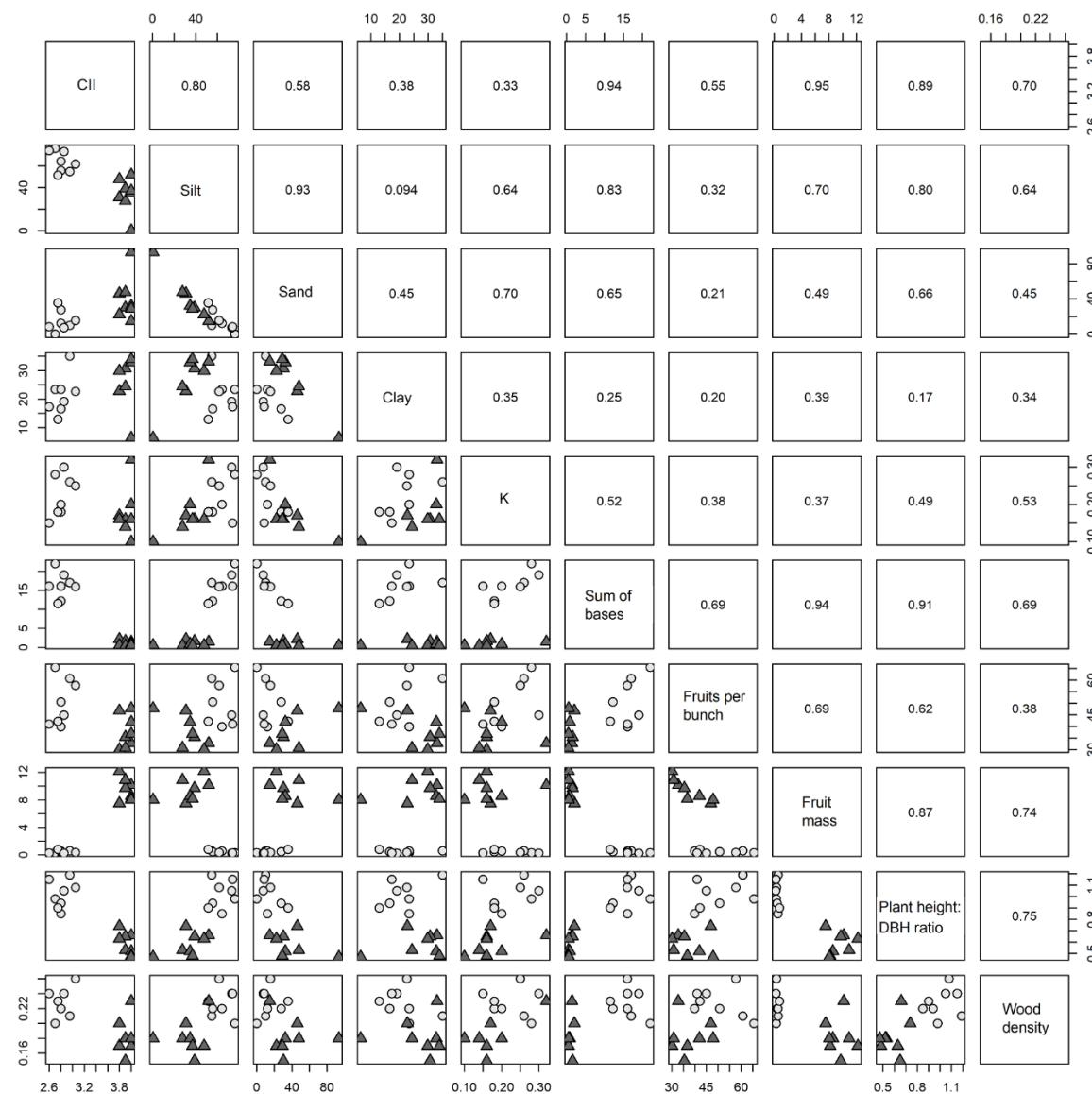
Supplementary Figure 1. PCA of the environmental variables that generated the environmental gradient. The gradient is composed of the Crown Illumination Index (CII), values of soil texture (sand, silt and clay content) and values of soil fertility (phosphorus, magnesium, calcium, potassium and sum of bases). The circles represent floodplain sites (wild populations) and the triangles represent terra firme sites (domesticated populations).



Supplementary Figure 2. Correlation matrix among the morphological characteristics. The correlation values range from 0 to 1. Values closer to 1 indicate a high correlation among the characteristics. The wild populations are represented by circles and domesticated populations by triangles.



Supplementary Figure 3. Correlation matrix among the environmental variables and between domestication and the environmental variables. The wild populations are represented by circles and domesticated populations by triangles.



Supplementary Figure 4. Correlation matrix among the morphological characteristics, among the environmental variables and between the morphological characteristics and the environmental variables. We present here only the least correlated morphological characteristics. The wild populations are represented by circles and domesticated populations by triangles.