



Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-graduação em Botânica

Filogenia, tempo de divergência, origem e morfologia de *Banisteriopsis* C.B.Rob. ex Small com ênfase nos etnotaxa de *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton (Malpighiaceae)

Thais Aparecida Coelho dos Santos

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup>. Regina Célia de Oliveira



Brasília, DF  
2022



THAIS APARECIDA COELHO DOS SANTOS

Filogenia, tempo de divergência, origem e morfologia de *Banisteriopsis* C.B.Rob. ex Small com ênfase nos etnotaxa de *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton (Malpighiaceae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutora em Botânica.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Regina Célia de Oliveira

Brasília, DF

2022

THAIS APARECIDA COELHO DOS SANTOS

Filogenia, tempo de divergência, origem e morfologia de *Banisteriopsis* C.B.Rob. ex Small com ênfase nos etnotaxa de *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton (Malpighiaceae)

Tese de Doutorado apresentada em 06 de Julho de 2022

Banca examinadora

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Regina Célia de Oliveira (Orientadora)**

---

Universidade de Brasília

Presidente da banca

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sueli Maria Gomes**

---

Universidade de Brasília

Membro titular

**Dr.<sup>a</sup> Viviane Stern da Fonseca Kruel**

---

Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Membro titular

**Dr.<sup>a</sup> Maria Candida Henrique Mamede**

---

Instituto de Pesquisas Ambientais (antigo Instituto de Botânica)

Membro titular

**Dr. Fábio de Oliveira Freitas**

---

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Membro suplente

Caminando por la selva  
Seguendo la beleza  
Seguendo las canciones de las plantas



Caminando por la selva  
Seguendo la beleza  
Seguendo las canciones de las plantas



Siento vivo  
Siento em paz  
Siento el poder de la madre  
Siento las plantas sagradas

Siento vivo  
Siento em paz  
Siento el poder de la madre  
Siento las plantas sagradas



Siempre respeitanto  
Siempre agradecendo  
Por este poder esta beleza

Siempre respeitanto  
Siempre agradecendo  
Por este poder esta beleza



Siento vivo  
Siento en paz  
Siento el poder de la madre

Siento vivo  
Siento en paz  
Siento el poder de la madre

Siento las plantas sagradas  
Siento las plantas sagradas.

Plantas Sagradas - Danit Treubig



## Dedicatória

Aos meus Pais, que me deram o maior presente, a Vida.

Aos meus ancestrais, familiares e a todos que acreditaram e acreditam no meu potencial.

À força da Ayahuasca que me escolheu para desenvolver este belo trabalho.

À vocês, dedico.



Fonte: Google imagens

## AGRADECIMENTOS

Mas você - eu não posso e nem quero explicar, eu agradeço (Clarice Lispector)

À Deus, ao Universo, aos meus mentores Espirituais que sempre estiveram comigo me guiando e iluminado meu caminho nessa trajetória do doutorado.

Aos meus familiares, pais, irmã, tios, primos que estiveram comigo me apoiando, incentivando, inspirando e entendendo que a distância jamais interferiu em nosso amor e reciprocidade.

Ao Prof. Dr. Flávio Bezerra Barros meu orientador de mestrado que foi quem plantou a semente em meu coração, para fazer o doutorado “fora”. Gratidão, o seu incentivo foi o que me motivou a sair de “casa”.

Ao Programa de pós-graduação em Botânica (PPGBot-UnB) pela oportunidade de cursar o curso de doutorado em Botânica, área que sou apaixonada.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida, nestes 48 meses.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dalva Graciano Ribeiro que aceitou inicialmente me orientar e realizamos um belo trabalho com os Bambus de Mato Grosso.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Regina Célia de Oliveira pela orientação, gratidão por aceitar a desenvolver um projeto de doutorado em menos tempo, pela paciência, respeito, confiança, compromisso, tempo, dedicação, habilidade, transparência, enfim por guiar com excelência esta tese.

Ao Jefferson Maciel pela brilhante parceira, comprometimento, dedicação, competência, pela contribuição sem tamanho.

Ao Bruno Amorim, pelas importantes contribuições.

Ao Alceo que me recebeu em seu lar em Petrópolis- RJ, onde pude conhecer pessoalmente os diversos etnotaxas de *B. caapi*, bem como indivíduos de *Psychotria* spp. e outras espécies. Gratidão pelas importantes contribuições nos dada, tanto em coletas como com seu rico e valioso conhecimento.

Ao Arthur que me recebeu em Alto Paraíso - GO e no seu local de trabalho a fazenda ecológica Terra Booma. Onde realizei coletas de Tucunacá florido e Caupuri, gratidão

pelo acolhimento, auxílio nas coletas e compartilhamento de conhecimentos sobre o Ayahuasca.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alessandra Selbach Schnadelbach, coordenadora do Laboratório de Genética e Evolução de Plantas (LAGEV), no Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, e sua equipe, em especial a Hédina que foi minha mentora procedimentos e uso do laboratório de biologia molecular. Gratidão pela competência e parceria com o desenvolvimento deste trabalho.

À Lecy, minha boadrasta que me apresentou a minha amiga Luiza França que me recebeu em sua casa na semana de seleção e construir uma relação de família, uma parceria e companheirismo sem igual. Gratidão por tornar meus dias de trabalho mais animado, empolgante, me inspirando a dar o melhor.

À minha amiga Orledys López Caldera com quem tive o privilégio de morar em Salvador, foi incrível conhecer e conviver com essa mulher maravilhosa que sempre me incentivou, inspirou, estimulou, me apoiando e ajudando no caminho profissional e pessoal.

Aos parceiros e amigos de Brasília, Jhébica Luara, Tâmara Poliana, Cristielly Machado, de Goiânia, Eunice, Paulo, Uglânia, Ivonete, Bárbara, de Salvador, Hédina, Rayana, Thiago, Larissa, do cafezinho ao momento de muita pressão, estar ao lado de vocês sempre foi e será gratificante.

Ao Wesley pelo auxílio prestado, e até hoje pelo respeito e parceria disponibilizada.

À minha terapeuta Samantha Barros, que começou seus atendimentos pouco antes da qualificação, e vêm me ajudando imensamente nesse caminho de autoconhecimento, que tem levado lidar melhor com as questões da vida, em especial o fechamento da tese, o trabalho, enfim gratidão pela contribuição em meu aspecto emocional.

Ao Herbário de UnB e sua equipe, em especial a Dani e Val que sempre estiveram prontas para auxiliar em tudo neste trabalho, gratidão.

Aos professores do PPGBot-UnB que me dando disciplinas, coordenando os laboratórios que usei, bem como os professores e alunos da coordenação da pós, gratidão por todo ensinamento, apoio e contribuição. Em especial aos coordenadores de curso, que sempre estiveram prontos em auxiliar seus alunos, Profa Dra. Cássia Beatriz R. Munhoz, que quando precisei mudar de projeto e orientador me auxiliou, a Profa

Dra. Sueli Maria Gomes sempre muito prestativa e ao Prof. Dr. Fabian Borghetti que nos momentos finais da defesa auxiliou para acontecesse. Gratidão!

Ao projeto intitulado “Taxonomia e fitoquímica de *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton (Malpighiaceae), componente do chá ayahuasca”, sob o protocolo 16533.78.29547.26042017, financiado pela Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF). Em especial a sua equipe, a coordenadora Profa. Dra. Eloisa Dutra Caldas, sua orientanda Beatriz Werneck Lopes Santos, a Profa. Dra. Julia Sonsin Oliveira, ao Prof. Dr. Christopher William Fagg e a Camila S. B. Behrens.

À banca de qualificação, Dr.<sup>a</sup> Reyjane Patricia de Oliveira, Dr. Marcelo Fragomeni Simon, Dr. Augusto Francener Nogueira Gonzaga e Dr. João Bernardo de Azevedo Bringel Jr., pelo tempo dedicado e contribuições relevantes.

À banca de defesa de tese, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sueli Sueli Maria Gomes, Dr.<sup>a</sup> Viviane Stern da Fonseca Krueel, Dr.<sup>a</sup> Maria Candida Henrique Mamede e Dr. Fábio de Oliveira Freitas, por desde o início aceitar constituir esta banca, pelo tempo, dedicação e interesse em contribuir com esta tese. Suas considerações sempre serão bem-vindas e importantes. Gratidão.

Enfim, quero agradecer a todos e todas que contribuíram com este trabalho, direta indiretamente.

Meu sincero e respeitoso: Muito Obrigada!



## SUMÁRIO

Resumo.....	16
Abstract.....	18
Introdução Geral.....	20
Literatura citada.....	28
<b>Capítulo 1: Os etnotaxas e suas relações filogenéticas com <i>Banisteriopsis caapi</i></b> <b>(Spruce ex Griseb.) Morton (Malpighiaceae), componente do chá Ayahuasca.....</b>	<b>34</b>
Resumo.....	34
Abstract.....	35
Introdução.....	36
Materiais e Métodos .....	39
Resultados.....	46
Discussão.....	52
Literatura citada.....	55
<b>Capítulo 2: Dated <i>Banisteriopsis</i> phylogeny suggests ancient Cerrado colonization and Amazonian origin of <i>B. caapi</i>.....</b>	<b>62</b>
Summary.....	62
Introduction.....	63
Materials and methods.....	66
Plant material.....	66
Molecular procedures.....	67
Divergence time.....	71
Biogeographic analysis.....	72
Results.....	73

Phylogeny.....	73
Reconstruction of the ancestral area and time of divergence.....	73
Discussion.....	75
Taxonomic and morphological relationships in <i>Banisteriopsis</i> .....	76
Origin of the genus <i>Banisteriopsis</i> (clade <i>Stigmaphyllum</i> sensu Davis and Anderson, 2010) and biome transition.....	78
Amazonian origin of <i>B. caapi</i> .....	80
Acknowledgements.....	81
References.....	81
Apêndice 1.....	88
<b>Capítulo 3: Morfologia, anatomia de caules e DNA Barcode de etnotaxa de <i>Banisteriopsis caapi</i> (Malpighiaceae): o cipó da Ayahuasca.....</b>	<b>92</b>
Resumo.....	92
Abstract.....	93
Introdução.....	95
Materiais e métodos.....	98
Amostragem.....	98
Morfologia externa e interna.....	102
Extração de DNA, Amplificação, Sequenciamento e Alinhamento.....	104
Análise dos dados.....	105
Resultados.....	107
Discussão.....	112
Literatura citada.....	116
Anexo 1.....	122
Anexo 2.....	127
Anexo 3.....	131
Anexo 4.....	134
Anexo 5.....	153
<b>Considerações Finais.....</b>	<b>157</b>

## LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1.....	34
Figura 1. Enotaxa de <i>B. caapi</i> , segundo informantes das religiões Ayahuasqueiras brasileiras. A-B. Arara – A- caule, B- folha; C-E. Caupuri – C-flor, D-caule, E- folha; F-H.Ourinho– F-flor, G-caule, H-folha; I-J. Pingo de ouro – I-flor, J-caule; K-M.Quebrador – K-caule, L-folha, M-flor; N-P.Tucunacá–N-caule, O-flor, P-folha; Q. Pajezinho – Q – caule. Fotos: Regina Célia de Oliveira.....	40
Figura 2. Árvore filogenética obtida a partir da análise da região nuclear ITS por meio de Máxima Parcimônia mostrando as relações entre os etnotaxa de <i>B. caapi</i> . Os valores mostrados acima dos ramos correspondem aos valores de suporte (PP/BS). As amostras estão identificadas por espécime e etnotaxa de acordo com a Tabela 1.....	48
Figura 3. Árvore filogenética obtida a partir da análise da matriz de combinadas dos marcadores plastidiais <i>trnL-F</i> , <i>matK</i> , <i>psbA-trnH</i> , <i>trnK</i> , <i>rpL32-trnL</i> , <i>ndhF</i> por meio de Máxima verossimilhança mostrando as relações entre os etnotaxa de <i>B. caapi</i> . Os valores mostrados acima dos ramos correspondem aos valores de suporte: (PP)/BS (MV)/ BS (MP). As amostras estão identificadas por espécime e etnotaxa de acordo com a Tabela 1.....	49
Figura 4. Árvore filogenética obtida a partir da análise da matriz de combinadas da região ITS e marcadores plastidiais <i>trnL-F</i> , <i>matK</i> , <i>psbA-trnH</i> , <i>trnK</i> , <i>rpL32-trnL</i> , <i>ndhF</i> por meio de análise de Máxima verossimilhança mostrando as relações entre os etnotaxade <i>B. caapi</i> .....	50
Figura 5. Árvore filogenética obtida a partir da análise da matriz de combinadas dos marcadores ITS, <i>matK</i> , e <i>ndhF</i> por meio de análise de Máxima Verossimilhança mostrando as relações entre os etnotaxade <i>B. caapi</i> e as espécies de <i>Banisteriopsis</i> do estudo de Davis & Anderson (2010). Os valores mostrados acima dos ramos correspondem aos valores de suporte: (PP)/BS (MV)/ BS (MP). As amostras estão identificadas por espécime e etnotaxa de acordo com a Tabela 1.....	51

CAPÍTULO 2.....	62
Figura 1. Some <i>Banisteriopsis</i> species sampled in this study. (a) <i>B. muricata</i> ; (b) <i>B. argyrophylla</i> ; (c) <i>B. gardneriana</i> ; (d) <i>B. oxyclada</i> ; (e) <i>B. caapi</i> . Photo by R.C. Oliveira.....	71
Figura 2. BEAST chronogram of Bayesian analysis of time divergence (Mya) of Stigmaphyllon and ancestral range reconstruction of <i>Banisteriopsis</i> . Including 24 species of this genus, 14 closely related species representing the outgroup. Blue bars represent 95% confidence intervals for age of clades. Numbers above the branches are posterior probabilities of clades. Pie charts show posterior probability of ancestral ranges. Plot colours in tips and in the pie charts are coded according to inset maps that indicate possible and actual geographical ranges, except for <i>B. membranifolia</i> (BD) and <i>B. muricata</i> (ABCE) which are not presented in inset maps. Geographical range categories A= Andes; B =Amazon Basin; C = Cerrado (plus dry areas of South America), D = East Coast (Atlantic Forest), and E = Central America and Caribe.....	74
Figura 3. Rates of vicariance and dispersal events, and lineage through time plot (LTT) along the evolutionary history of <i>Banisteriopsis</i> .....	76
CAPÍTULO 3.....	92
Figura 1. Etnotaxa de <i>B. caapi</i> , segundo informantes das religiões Ayahuasqueiras brasileiras. A, B e C –Tucunacá – caule, folha e flor; D, E e F – Caupuri – caule, folha e flor; G, H e I – Quebrador, caule, folha e flor. Fotos: Camila Behrens.....	101
Figura 2. Folhas analisadas no estudo morfométrico. A – Folha amplamente ovada; B – Folha ovada; C – Folha elíptica; D – Ápice curto acuminado; E – Ápice longo acuminado; F – Ápice acuminado; G – Base ovada; H – Base obtusa; I – Base cuneada.....	102
Figura 3. Análise de Componentes Principais (PCA) a partir de matriz morfo-anatômica com 19 caracteres, ilustrando a localização dos etnotaxas de <i>B. caapi</i> no morfoespaço.....	108
Figura 4. Análise de Modelos Gaussianos Mistos ilustrando as hipóteses de formação de grupos ou etnotaxas, a partir da matriz de co-variância da PCA.....	109

Figura 5. Resultado do teste Chi-quadrado ilustrando a distribuição dos estados de caracteres entre os etnotaxa de *B. caapi*. Char3. Glândulas no pecíolo: (0) ausente; (1) presente; Char7. Base da folha: (0) cuneada (1) obtusa; (2) truncada; Char8. Base da folha: (0) cuneada (1) obtusa; (2) truncada; Char9. Ápice da folha: (0) acuminado (1) curto acuminado (2) longo acuminado; Char11. Parênquima axial com bandas grar Presente (0) Ausentes (1). Char12. Tilos nos vasos (0) pouco (1) muito. Char13. Fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: (0) sim (1) não; Char14. Parênquima axial: (0) Bandas curtas (1) bandas grandes; Char15. Raio: (0) 1-3 células (1) mais de 6 células; Char18. Drusas na região axial do floema: (0) ausente (1) presente; Char19. Drusa no raio do parênquima: (0) ausente (1) presente.....111

## LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1.....	34
Tabela 1. Amostras analisadas: etnotaxa, local de coleta, voucher. RCO= R.C. Oliveira; ADS= A.D. Silveira; CSB = C. S. Behrens; CWF= C.W. Fagg.....	41
Tabela 2. Números de acesso do Genbank e voucher das espécies de <i>Banisteriopsis</i> utilizadas neste estudo. Segundo o clado interno de <i>Banisteriopsis</i> do estudo de Davis & Anderson (2010). (-) Ausência de sequência no Genbank. ** Espécie utilizada como outgroup nas análises moleculares.....	42
Tabela 3. Primers utilizados e descrição dos ciclos de amplificação das regiões nuclear e plastidial utilizadas no estudo molecular dos etnotaxa de <i>B. caapi</i> .....	44
Tabela 4. Comprimento (em pares de bases – pb) e número de caracteres excluídos das matrizes das matrizes de marcadores regiões plastidiais e nuclear dos etnotaxa de <i>B. caapi</i> .....	45
Tabela 5. Tamanho (pares de bases), número de sítios variáveis, número de sítios conservados, e sítios parcimoniosamente informativos das matrizes utilizadas, e índices de consistência e retenção das árvores mais parcimoniosas, número de árvores igualmente parcimoniosas geradas e número de passos das árvores mais parcimoniosas obtidas no presente estudo.....	47
CAPÍTULO 2.....	62
Table1. Taxons included with collector, number and herbarium acronym and the marker sequences <i>rbcL</i> , <i>matK</i> , <i>ndhF</i> and <i>PHYC</i> in Genbank. * New sequences obtained from this study.....	68
CAPÍTULO 3.....	92
Tabela 1. Amostras coletadas: etnotaxa, estado, voucher: RCO = R.C. Oliveira; ADS= A.D. Silveira; CSB = C. S. Behrens, TACS= T.A.C. Santos.....	98

Tabela 2. Lista dos caracteres morfológicos das folhas e anatômicos do caule analisados nos etnotaxas de <i>B. caapi</i> .....	103
Tabela 3. Resultados da análise de PERMANOVA pareada realizada a partir da matriz de distância entre os etnotaxas de <i>Banisteriopsis caapi</i> * Valor-P = 0.003333, ns: não significativo.....	109
Tabela 4. Resultado da análise de Meier's Best Close Match e Neighbor Joining-NJ com os etnotaxa de <i>B. caapi</i> . A primeira coluna mostra as regiões moleculares analisadas independentemente ou combinadas.....	112

**RESUMO:** *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton é uma das espécies amplamente utilizada na preparação do chá Ayahuasca, uma bebida enteógena proveniente das culturas indígenas amazônicas. São reconhecidas pelas comunidades Ayahuasqueiras que cultivam cipó, o estabelecimento de “Tipos”, aqui denominados “etnotaxa”. Intrigados com essa problemática da vinculação ou não dos etnotaxa à taxa formal *B. caapi*, surgiram as perguntas que delinearão esta tese: 1. “Os etnotaxa reconhecidos pelas comunidades Ayahuasqueiras urbanas brasileiras são *B. caapi* ou pertencem a outra espécie já descrita? 2. Os etnotaxa podem ser considerados como taxa, seguindo os parâmetros da ciência formal, ou seja, a circunscrição mais aceita de *B. caapi* é satisfatória? 3. *Banisteriopsis caapi* poderia ser uma espécie domesticada e recente? Para reponder a estas questões foram desenvolvidos três capítulos, tentando usar as melhores ferramentas metodológicas. Para os capítulos um e três, de modo geral foram sequenciadas as regiões plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, e *ndhF*, e o espaçador interno transcrito do rDNA nuclear (ITS). No capítulo um, foram realizadas análises filogenéticas. E em todas as análises os etnotaxa formam um clado a espécie *B. caapi*, não se colocando próximo a outra espécie de *Banisteriopsis*. Ao passo que *B. schwannioides* aparece como espécie próxima a *B. caapi*, bem como *B. variabilis* e outras espécies que Gates comenta em seu estudo. No capítulo dois, foi realizado um estudo de reconstrução da área ancestral e tempo de divergência, do gênero *Banisteriopsis* e de *B. caapi*. Assim, *Banisteriopsis* teve origem no Mioceno há cerca de 20 milhões de anos e a sua diversificação coincide com a expansão de áreas secas na América do Sul. Mostrando que o Cerrado serviu de fonte de espécies para as florestas tropicais neotropicais como a Amazônia e a Mata Atlântica, num padrão inverso ao que ocorre para a maioria das taxas neotropicais. Para *B. caapi*, foi demonstrado uma provável origem amazônica reforçando as provas arqueológicas de uma troca milenar de usos e conhecimentos sobre plantas entre os povos amazônicos. No capítulo três, foram analisadas 90 amostras de *B. caapi* abrangendo os etnotaxa: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador e Tucunacá. Para análise de dados das sequências de DNA foram realizadas: análise de Componentes principais (PCA), Modelos Mistos Gaussianos (MMGs), análise Multivariada Permutacional de Variância (PERMANOVA), as análises BarcodingGap, Meier’s Best close match, Neighbour-Joining (NJ) e Rosenberg’s probability of reciprocal monophyly. As análises moleculares mostraram que não existem diferenças significativas entre os etnotaxa, ao passo que, as análises morfológicas mostraram que os grupos possuem correspondência com a



etnoclassificação. Assim, os etnotaxa *de B. caapi*, não pertencem a outra espécie, e as diferenças na morfologia externa e interna sugere que os etnotaxa podem estar passando por um processo de domesticação. Dessa forma, este trabalho mostra que os etnotaxa analisados aqui não pertencem a outra espécie, e incita novas pesquisas para entender melhor a etnoclassificação.

**Palavras-chave:** Amazônia, Cerrado, morfo-anatomia, etnotaxa, etnotipo, Yagé, Hoasca, Santo Daime, Vegetal.

**ABSTRACT:** *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton is one of the species widely used in the preparation of Ayahuasca tea, an entheogenic drink originating from Amazonian indigenous cultures. The Ayahuasca communities that cultivate cipó are recognized by the establishment of "Types", here called "etnotaxa". Intrigued by this problematic of the linking or not of etnotaxa to the formal *B. caapi* taxa, the questions that outlined this thesis emerged: 1. "Are the etnotaxa recognized by Brazilian urban Ayahuasca communities *B. caapi* or do they belong to another species already described? 2. Can the etnotaxa be considered as taxa, following the parameters of formal science, i.e. is the most accepted circumscription of *B. caapi* satisfactory? 3. Could *Banisteriopsis caapi* be a recent domesticated species? To answer these questions, three chapters were developed, trying to use the best methodological tools. For chapters one and three, overall, the plastidial regions *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, and *ndhF*, and the nuclear rDNA internal transcribed spacer (ITS) were sequenced. In chapter one, phylogenetic analyses were performed. And in all the analyses the etnotaxa form a clade to the species *B. caapi*, not placing itself close to another species of *Banisteriopsis*. On the other hand, *B. schwannioides* appears as a species close to *B. caapi*, as well as *B. variabilis* and other species that Gates comments on in his study. In chapter two, a reconstruction study of the ancestral area and time of divergence, of the genus *Banisteriopsis* and *B. caapi*, was conducted. Thus, *Banisteriopsis* originated in the Miocene about 20 million years ago and its diversification coincides with the expansion of dry areas in South America. Showing that the Cerrado served as a source of species for neotropical tropical forests such as the Amazon and the Atlantic Rainforest, in an inverse pattern to what occurs for most Neotropical taxa. For *B. caapi*, a probable Amazonian origin was demonstrated reinforcing archaeological evidence of a millennial exchange of plant uses and knowledge among Amazonian peoples. In chapter three, 90 samples of *B. caapi* were analyzed covering the etnotaxa: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador and Tucunacá. For data analysis of the DNA sequences we performed: principal component analysis (PCA), Gaussian Mixed Models (MMGs), Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA), the BarcodingGap analysis, Meier's Best close match, Neighbour-Joining (NJ) and Rosenberg's probability of reciprocal monophyly. The molecular analyses showed that there are no significant differences between the etnotaxa, whereas, the morphological analyses showed that the groups have correspondence with ethnoclassification. Thus, the etnotaxa of *B. caapi* do not belong to

another species, and the differences in external and internal morphology suggest that the etnotaxa may be undergoing a domestication process. Thus, this work shows that the etnotaxa analyzed here do not belong to another species, and incites further research to better understand ethnoclassification.

**Keywords:** Amazon, Cerrado, morpho-anatomy, ethnoclassification, ethnotype, Yagé, Hoasca, Santo Daime.

## INTRODUÇÃO GERAL

*Banisteriopsis* C.B.Rob. pertence à família Malpighiaceae Juss., representada por 77 gêneros e 1.300 espécies (Davis & Anderson 2010). Para o Brasil estão registradas 47 gêneros, 588 espécies sendo 360 espécies endêmicas, distribuídas por todas regiões do país (Malpighiaceae 2022). São reconhecidos 14 grandes clados em Malpighiaceae, segundo Davis & Anderson (2010), são eles: Byrsonimoids, Acmantheroids, Galphimiods, Acridocarpoids, Mcvaughiods, *Barnebya*, Ptilochaetoids, Tristellateioids, Hiraeoids, Tetrapteroids, Stigmaphylloids, *Ectopopterys*, *Amorimia*, Malpighioids.

A família ocorre nos paleotrópicos, mas é predominantemente tropical (Figura 1). Apresenta ampla distribuição, ocupando uma diversidade de habitats, desde o sudeste do Estado Unidos, regiões temperadas da Argentina, ambientes abertos, densas savanas, bem como margens de rios, florestas e, poucas espécies em ambientes xéricos (Anderson 1979, Davis & Anderson 2010).

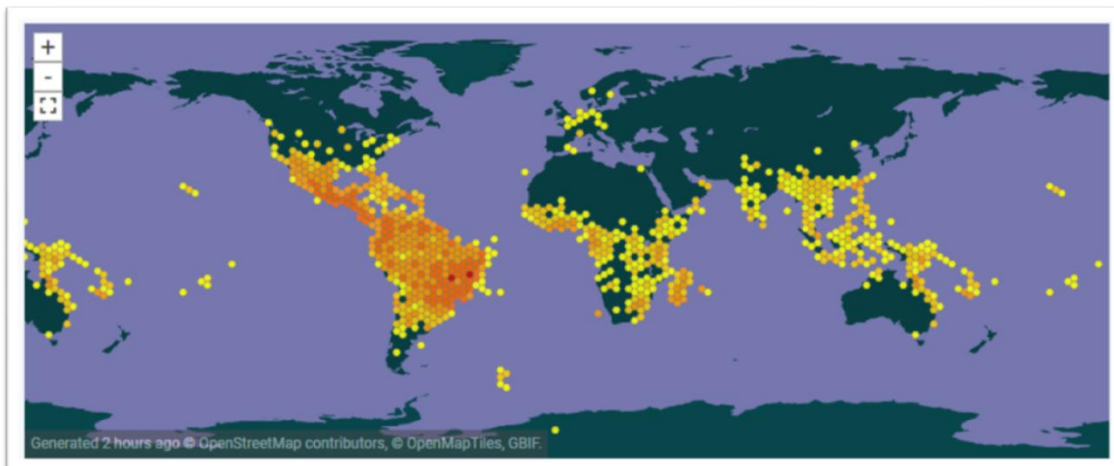


Figura 1. Distribuição geográfica da família Malpighiaceae, segundo a Web page GBIF.org

Malpighiaceae é diversa em muitos aspectos, especialmente a morfologia do futo, pólen e número cromossômico (Anderson 1979). O hábito varia de árvore, arbusto, subarbusto, herbácea perene a liana/volúvel/trepadeira (Cuatrecasas 1958, Anderson 1979, Almeida et al. 2020, Anderson et al. 2022). Folhas opostas, ternada ou alternas, simples ou inteiras, geralmente com glândulas próximas a base da lâmina ou pecíolo, estípulas presentes ou ausentes. Inflorescência terminal ou axilar, geralmente com muitas flores ou em racemo (raramente flores solitárias), brácteas e bractéolas presentes.

Flores bissexual , actinomórfica ou zigomórfico. Cálice com 5 sépalas, livres ou conadas na base, persistente, geralmente com glândulas externas. Corola com 5 pétalas, geralmente unguiculadas, livres, imbricadas, inteiras ou com margens dentadas, com a posterior diferente. Androceu com 10 estames férteis, filamento geralmente conados na base, anteras com deiscência longitudinal introrsa, basifixa ou dorsifixa, com 2 tecas. Gineceu com ovário superior, sincárpico, 3 ( raro 2, 4 ou 5) lóculo e lobado, uniovulado, tricarpelar. Futos esquizocarpo, geralmente alados (sâmara), secos ou carnosos, deiscentes ou indeiscentes, nozes, bagas ou drupas, com cálice persistente. Sementes sem endosperma (Powo 2022, Carvalho et al. 2010).

As flores das Malpighiaceae são, em geral, similares em sua arquitetura. Essa uniformidade se relaciona com os insetos polinizadores, que são as abelhas coletoras de óleos em flores (Anderson 1979, Anderson & Davis 2010, Alisconi et al. 2021, Romero 2021).

*Banisteriopsis* é membro do clado Stigmaphylloid, que é altamente suportado na filogenia de Malpighiaceae, com 100% de *bootstrap*, mas que ainda não foi tratado taxonomicamente (Anderson et al. 2022). Os cladogramas internos possuem baixo suporte filogenético (Anderson & Davis 2010).

Stigmaphylloid engloba 300 espécies e os cladogramas Aspiscarpoids (com 100 de Bootstrap- BT) e Cordobioids (61BT). Em Stygmaphylloids estão o seguintes gêneros e espécies: *Bronwenia* W.R.Anderson & C. Davis (10 espécies), *Diplopterys* A.Juss. (31), *Banisteriopsis* (61), *Stigmaphyllon* A.Juss. (119), *Sphedamnocarpus* Planch. ex Benth. & Hook.f. (10), *Philgamia* Baill. (4) (Powo 2022).

Aspiscarpoids se diferencia pela perda dos quatro ou todos os cinco estames opostos às pétalas e possuir um único estilete no carpelo anterior. E inclui os seguintes gêneros e espécies: *Janusia* A. Juss. ex Endl. (10), *Aspicarpa* Rich. (11), *Gaudichaudia* Kunth (20), *Camarea* A.St.-Hil. (9) (Powo 2022).

O clado Cordobioids engloba gêneros com estames glandulosos caracterizados em dois diferentes tipos: elaióforos e osmóforos (Arévalo-Rodrigues et al. 2020). E abrange os seguintes gêneros e espécies: *Mionandra* Griseb. (2), *Cordobia* Nied. (1), *Gallardoa* Hicken (1), *Peixotoa* A.Juss. (29) (Powo 2022).

*Banisteriopsis* sentido lato foi revisado por Niedenzu (1928) e Gates (1982) que adotaram uma circunscrição considerada polifilética (Anderson & Davis 2006, 2007, Davis & Anderson 2010). *Banisteriopsis* sentido restrito (Davis & Anderson 2010)

inclui 61 espécies alcançando do México até a América Tropical (Powo 2022), das quais 48 ocorrem no Brasil, onde 34 são endêmicas (Francener & Almeida 2022).

O gênero *Banisteriopsis* sentido restrito é caracterizado pela inflorescência em corimbo ou umbela, disposta em panículas ou cimos; brácteas glandulares; pedicelos retos no botão; sépalas deixando as pétalas expostas no botão, eretas na antese, glândulas restritas às sépalas; pétalas amarelas, brancas ou rosas, glabras em ambas as superfícies; androceu com 10 estames, conectivos glandulares; anteras heteromórficas; gineceu com 3 estiletos; estigmas apicais capitados; sâmara com asa dorsal desenvolvida, espessada ao longo da margem superior; asa lateral ausente ou com pequenas asas, ou cristas; núcleo seminífero ou com pequenas asas laterais (Almeida et al. 2016).

### **Histórico do gênero *Banisteriopsis* C. B. Rob. (Malpighiaceae)**

*Banisteriopsis* apresenta um histórico nomenclatural complexo, visto que Linnaeus (1753), ao descrever o gênero como *Banisteria*, relacionou sete espécies ao nome: 1. *B. lupuloides* L. [= *Gouania lupuloides* (L.) Urb.], 2. *B. angulosa* L. [= *Stigmaphyllon angulosum* (L.) A. Juss.], 3. *B. purpurea* L. [= *Heteropterys purpurea* (L.) Kunth.], 4. *B. benghalensis* L. [= *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz.], 5. *B. dichotoma* L. [= *Stigmaphyllon dichotomum* (L.) Griseb.], 6. *B. fulgens* L. [= *Stigmatophyllum emarginatum*], 7. *B. brachiata* L. [= *Heteropterys brachiata* (L.) DC.]. Destas sete espécies relacionadas a *Banisteria* por Linnaeus, a primeira pertence à família Rhamnaceae e as demais são atualmente reconhecidas em três gêneros de Malpighiaceae (Morton 1967).

Neste contexto, foram propostos três conceitos de *Banisteria*: 1. O de Kunth (1882) com o gênero *Heteropterys* (estigma lateral, ala dos samarídeos espessada na margem inferior); 2. O de Jussieu (1833) que, ao criar o gênero *Stigmaphyllon* (estigma lateral foliáceo, apendiculado, ala dos samarídeos engrossados na margem superior), incluiu *B. angulosa* e; 3. Sem denominação oficial inicialmente, mas posteriormente denominada por Jussieu e outros botânicos de *Banisteria*, se refere ao grupo de plantas com estigma capitado e samarídeos com alas espessada na margem superior (Cuatrecasas 1958).

Small (1910), na flora norte-americana, usou o nome *Banisteria* L., substituindo o nome *Heteropterys*, amparando-se no conceito de Kunth (1882), tornando

*Heteroptery* um sinônimo. Robinson, (na obra de Small, 1910), usou o nome *Banisteriopsis* para substituir o nome *Banisteria* de Jussieu (1833), do terceiro conceito descrito acima (Cuatrecasas 1958, Gates 1982). Niedenzu (1928), seguindo Jussieu (1832) reconheceu 74 espécies em *Banisteria* L., organizadas em sete seções, das quais algumas tinham subseções.

Robinson no estudo Small (1910) considerou *Banisteria brachiata* L. como o tipo de *Banisteriopsis*, no entanto, esta espécie pertence ao gênero *Heteropterys* (*H. brachiata*). Cuatrecasas (1958) argumentou que faltaria apenas lectotipificar *Banisteriopsis* com a primeira espécie tratada nessa flora que é *B. cornifolia* (H.B.K.) Robinson in Small. Assim, Cuatrecasas (1958) designou *Banisteriopsis cornifolia* (Kunth) C. B. Rob. como lectótipo, porém não propôs a conservação do nome *Banisteriopsis* com o novo tipo.

Gates (1982), na revisão dos gêneros *Banisteriopsis* e *Diplopterys* A. Juss. dos Neotrópicos, registrou 92 espécies, sendo 34 novas espécies para *Banisteriopsis*. A autora atualizou a circunscrição do gênero *Banisteriopsis* de Niedenzu (1928), e reconheceu três subgêneros: *Banisteriopsis* subg. *Banisteriopsis* (8 espécies), *B.* subg. *Hemiramma* (Griseb.) B. Gates (57 espécies) e *B.* subg. *Pleiopterys* (Nied.) B. Gates (27 espécies).

Além dos subgêneros na seção *Banisteriopsis*, a autora acrescentou uma subdivisão em grupos morfológicos. Estes grupos foram caracterizados segundo as semelhanças da flor e/ ou do fruto. Gates (1982) compilou 15 grupos, são eles: *cornifolia*, *argyrophylla*, *schizoptera*, *malifolia*, *megaphylla*, *campestris*, *membranifolia*, *muricata*, *martiniana*, *nummifera*, *parviflora*, *lutea*, *leiocarpa*, *lucida*, *pubipetala*. As espécies *B. longipilifera* B. Gates (*Bronwenia longipilifera* (B. Gates) W. R. Anderson & C. C. Davis), *B. laevifolia* (A. Juss.) B. Gates, *B. calcicola* B. Gates, *B. caapi*, *B. schwannioides* (Griseb.) B. Gates, *B. prancei* B. Gates, *B. multifoliolata* (A. Juss.) B. Gates, *B. quadriglandula* B. Gates, *B. pseudojanusia* (Nied.) B. Gates, *B. magdalenensis* B. Gates, *B. valvata* W. R. Anderson & B. Gates (*Diplopterys valvata* (W. R. Anderson & B. Gates) W. R. Anderson & C. C. Davis), *B. heterostyla* (A. Juss.) Cuatrec. (*Diplopterys heterostyla* (A. Juss.) W. R. Anderson & C. Davis), *B. caduciflora* (Nied.) B. Gates (*Diplopterys caduciflora* (Nied.) W. R. Anderson & C. C. Davis), *B. krukoffii* B. Gates (*Diplopterys krukoffii* (B. Gates) W. R. Anderson & C. C. Davis), *B. patula* B. Gates (*Diplopterys patula* (B. Gates) W. R. Anderson & C. C.

Davis), *B. sepium* (A. Juss.) B. Gates (*Diplopterys sepium* (A. Juss.) W. R. Anderson & C. C. Davis), não foram incluídas em nenhum grupo morfológico.

As espécies próximas a *B. caapi* na filogenia da família concordou com as espécies próximas citadas por Gates (1982). Na circunscrição de Gates (1982) *B. caapi*, relacionada a espécie *B. schwannioides* distinguindo-se pela folha com pubescência velutina, flores largas com pedicelos longos, lóculo das anteras glabra, estilete posterior reduzido e estilete anterior alargado (Gates 1982).

As espécies do grupo *membranifolia*, também estão próximas a *B. caapi*, difere desta pela folha menor e coriácea, geralmente com densa pubescência, pedicelos longos e frutos com álulas laterais (Gates 1982). Enquanto *B. muricata* assemelha-se a *B. caapi* no tamanho pequeno da flor, cálice com ou sem glândulas, na forma da pétala posterior e estiletos finos.

Além destas espécies que Gates (1982) relacionou a *B. caapi*, as espécies *B. confusa* e *B. latifolia* também são relacionadas na filogenia, elas pertencem a grupo morfológico *malifolia*. Este grupo compartilha com *B. caapi* o núcleo seminífero densamente piloso interiormente (Gates 1982).

Davis & Anderson (2010) recircunscreveram o gênero num sentido mais restrito ao comprovarem que *Banisteriopsis* sentido lato, ou seja, nos conceitos de Niedenzu (1928) e Gates (1982), não é monofilético. Os táxons de *Banisteriopsis* foram estabelecidos em três distintos e bem suportados subclados dentro do clado Stigmaphylloids.

Esses três subclados são relacionados com os subgêneros de Gates (1982). Os membros de *Banisteriopsis*, subg. *Pleiopterys* foram transferidos para o expandido gênero *Diplopterys*, que inclui agora espécies com núcleo seminífero com álulas laterais. Mas, os membros do subgênero *Hemiramma*, foram transferidos para o gênero *Bronwenia* W.R. (Davis & Anderson 2010).

Leitores menos avisados, ao lerem o trabalho de Davis & Anderson (2010), ficam confusos quando os autores mencionam que os clados correspondem aos subgêneros de Gates (1982). O que aconteceu é que Gates (1982) seguiu Cuatrecasas (1958) que pensava que *B. cornifolia* (H.B.K) Robinson in Small (*Heteropterys cornifolia* (H.B.K)) deveria ser o lectótipo de *Banisteriopsis* subg. *Banisteriopsis*, e considerou nesse subgênero 8 espécies: *B. cornifolia* (Kunth) C.B.Rob., *B. acapulcensis* (Rose) Small, *B. ferruginea* (Cav.) B.Gates, *B. megaptera* B.Gates, *B. brevipedicellata* B.Gates, *B. wurdackii* B.Gates, *B. cinerascens* (Benth.) B.Gates e *B. longipilifera*



B.Gates. Entretanto, Morton (1931) já tinha lectotipificado *Banisteriopsis* com a espécie *B. argentea* (Kunth) C.B.Rob. (= *B. muricata* (Cav.) Cuatrec.). Assim, o conceito de Gates (1982) era invertido, já que *B. muricata* foi tratado dentro do grupo *Hemiramma* de Gates(1982). Assim, o subgênero *Banisteriopsis* retêm o maior número de espécies, incluindo *B. caapi*.

### ***Banisteriopsis caapi* : componente do chá Ayahuasca**

*Banisteriopsis caapi* têm chamado a atenção de antropólogos, botânicos e farmacólogos, por sua utilização como componente do chá Ayahuasca (Frenopolo 2005, Stiffler 2018). Além do uso religioso, estudos vem indicando a eficácia da Ayahuasca em tratamentos de depressão, síndrome de Parkinson e contra infestações parasitárias gastrointestinais (De Sousa 2011).

Spruce foi o primeiro coletor da espécie (R. Spruce 2712 - K barcode K000427256), ao longo do rio Uaupés, afluente do Alto Rio Negro, no Amazonas, Brasil. Recentemente Oliveira et al. (2020), lectotipificaram *B. caapi* e seu sinônimo *B. quitensis* (Nied.) C.V. Morton visto que, revisando a literatura e protólogos perceberam que estas espécies não foram tipificadas.

*Banisteriopsis caapi* foi registrada nas cataratas do Orinoco e nos seus afluentes, na amazônia Venezuelana, nos Andes do Peru, no rio Napo no Equador, na Bolívia (Schultes 1982) e no Panamá (Ott 1996). Todas as amostras documentadas foram provenientes de plantas cultivadas nas roças das comunidades indígenas.

O termo Ayahuasca designa tanto o cipó quanto a decocção preparada pela mistura do caule de *B. caapi*, com as folhas de várias plantas, destacando-se *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae) (Prance 1970, Naranjo 1986, Shepard 1998). Dados arqueológicos indicam que o chá é consumido pelos indígenas da América do Sul há pelo menos 5.000 anos (Naranjo 1979, 1986).

Na década de 1930 surgiram religiões cristãs urbanas no Brasil, que introduziram a Ayahuasca como pilar ritualístico: o Santo Daime, a Barquinha e a União do Vegetal (UDV) (Labate 2001). Novas modalidades urbanas de uso do Ayahuasca têm surgido continuamente, sendo denominadas de grupos “neo-ayahuasqueiros” (Labate 2000).

O uso religioso da Ayahuasca no Brasil é regulamentado pelo Conselho Nacional de Políticas sobre Drogas (CONAD) sob a Resolução nº1 de 25 de janeiro de

2010 (Garrido & Sabino 2009, Monteles 2020). Com a regulamentação, as igrejas tornaram-se organizadas e, expandiram-se para outros países da América e Europa, sendo consumido, também, por “celebridades” (Tupper 2009) que enaltecem o seu benefício psicológico e físico.

Wallace (1908) relata que Spruce reconhece, por parte dos indígenas, de “tipos” de *B. caapi* – nesse trabalho denominado como “etnotaxa”. Isto é, ocorrência de linhagens com morfologias e chás com características distintas. Langdon (1986) e Davis (1996) também comentaram sobre o reconhecimento de etnotaxa de *B. caapi* pelos índios Siona e Inganos (Colômbia), entretanto sem sucesso na documentação em herbários. Comentaram também sobre a dificuldade de acesso às plantas sagradas.

Schultes (1986) relacionou mais de 30 etnotaxa de *B. caapi* citados pelos indígenas amazônicos. O autor também destacou a necessidade de um intenso trabalho interdisciplinar e de documentação em herbário para o estudo da correspondência desses etnotaxa com seus respectivos taxa.

Monteles (2020) fez uma pesquisa qualitativa e indicou que existe mais de uma dezena de etnotaxa de *B. caapi* reconhecidos por alguns informantes do Santo Daime dos estados de Roraima, Maranhão e Tocantins. Oliveira et al. (2018) e Monteles (2020) mostraram que os cipós são agrupados pelos respondentes em duas categorias: o grupo de etnotaxas cujos caules possuem nós inflados e, o maior e mais variado grupo, com nós não inflados.

Oliveira et al. (2018 e comunicação pessoal) fizeram um estudo etnobotânico de *B. caapi* entre grupos religiosos que utilizam o chá Ayahuasca em seu ritual no Brasil. O grupo documentou o estudo em herbário e, a presente pesquisa, é um dos resultados da análise dos vouchers de *B. caapi*, coletados de forma sistematizada junto aos grupos brasileiros que utilizam Ayahuasca em seu ritual.

Sob os dados da coleta do tipo de *B. caapi* (Spruce 2712), aparece a nota a seguir: “Dessa planta é preparada uma bebida intoxicante para todos os nativos Uaupés, denominada caapi. A região inferior do caule, a qual tem espessamentos inflados nos nós, é a parte utilizada (...). Os vouchers Spruce 2712 foram associados a amostras de caule que estão depositados na coleção de Botânica Econômica do Kew Garden. A análise dessas amostras e a coleção dos caules mostram a clara relação do nome *B. caapi* com os etnotaxa que apresentam nós inflados (Oliveira et al. 2020).

O reconhecimento de diferenças entre os cipós utilizados na preparação da Ayahuasca ultrapassa o conhecimento tradicional. Niedenzu (1928), Hammerman

(1930) e Schultes (1982) reconheceram, além de *B. caapi*, *B. quitensis* (Nied.) C.V. Morton e relacionaram seu uso na infusão utilizada por indígenas da Colômbia, Equador e Peru. Morton (1931) descreveu *B. inebrians* Morton com base num etnotaxa reconhecido como “yagé del monte”, proveniente da região de Putamayo, sudeste da Colômbia.

*Banisteriopsis inebrians* e *B. quitensis* foram tratadas na circunscrição de *B. caapi* por Gates (1982), que analisou apenas os escassos espécimes disponíveis nos herbários à época, grande parte deles representados apenas por ramos estéreis e sem comentários sobre o colmo principal. Gates (1982) também comentou que as populações que utilizam o chá reconhecem etnotaxa do cipó, mas, segundo a autora, apenas pelas propriedades enteógenas da infusão, que se tratam de variantes químicas da mesma espécie.

Embora esse conceito abrangente venha sendo o mais utilizado, não há consenso sobre a circunscrição de *B. caapi*, visto que Schultes et al. (2001) aceitam *B. inebrians* como espécie distinta. Analisando a imagem disponibilizada em Schultes et al. (2001), vê-se que a planta não possui nós inflados.

Grande número de *vouchers* estéreis de herbário registram os etnotaxa de *B. caapi*, havendo menções na literatura, de espécies de outros gêneros de Malpighiaceae na composição do chá: *Diplopterys longialata* (Nied.) W.R. Anderson & C. Davis (Schultes 1982), *Tetrapteryx methystica* R. E. Schult. (Schultes 1954) e *T. mucronata* Cav. (Queiroz et al. 2013). Vegetativamente poderiam ser facilmente consideradas dentro da circunscrição de *B. caapi*.

Kaasik et al. (2020) relataram que *Diplopteryx cabrerana* (Cuatrec.) B. Gates é um substituto comum de *Psychotria viridis*. na composição do chá Ayahuasca e mostram, com base na composição química, que espécies de anayahuasca – são formas análogas ao Ayahuasca, onde se usam sintéticos ou plantas que contenham o inibidor monoamine-oxidase (MAO) e fontes de N, N-dimethyltryptamine (DMT) – foram encontradas como aditivos em chás feitos na Europa. Santos et al. (2020), cujos etnotaxa estudados são os mesmos utilizados no presente estudo, comentaram que amostras de *D. pubipetala* (A. Juss.) W.R. Anderson & C.C. Davis foi coletada como *B. caapi*, indicada por um respondente de um grupo religioso. Essa amostra foi identificada com base na anatomia do caule (Naganime-Pinheiro 2019).

Desse modo a questão que sempre orientou esta pesquisa foi: os etnotaxas reconhecidos pelas comunidades tradicionais Ayahuasqueiras, correspondem a espécies

distintas. Para responder esta questão fizemos três capítulos, onde o Capítulo um, traz análises moleculares, que têm sido uma importante ferramenta para elucidar relações taxonômicas (Davis & Anderson 2010, Jesus et al. 2016). Desse modo, foram selecionadas regiões com altas taxas de mutação e as utilizadas nas filogenias de Malpighiaceae. Assim, foram sequenciadas as regiões palstidiais: *ndhF*, *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, e o espaçador interno transcrito do rDNA nuclear – ITS (Cameron et al., 2001, Davis et al. 2001, Davis & Anderson 2010). Assim, o uso de marcadores de DNA genômico-nucleares são úteis para o entendimento da variabilidade genética e do processo de evolução de espécies vegetais, através da análise comparativa dos genomas (Marouelli 2009).

Métodos baseados em dados moleculares também têm sido eficaz nos estudos que tentam decifrar a história filogeográfica de plantas úteis ou cultivadas (Saisho & Purugganan 2007, Gunn et al. 2011, Hunt et al. 2011). Nesse sentido, afim de descobrir a origem e dispersão de *B. caapi* fizemos o Capítulo dois, que aborda a história biogeográfica do gênero *Banisteriopsis*. Trazendo uma filogenia molecular atualizada e datada para as espécies do gênero. O qual está submetido ao periódico: Molecular Phylogenetics and Evolution.

O DNA *Barcoding* têm sido uma importante ferramenta na rápida e acurada identificação de espécies de plantas (Li et al. 2014). Assim, no Capítulo 3 usamos dados moleculares, usando a o DNA *Barcoding*, e dados morfoanatômicos para confirmar as relações taxonômicas entre os etnotraxa de *B. caapi*.

## LITERATURA CITADA

- Aliscioni SS, Gomiz NE, Agüero JI, Torretta JP. 2021. Structural diversity of elaiophores in Argentine species of Malpighiaceae: morphology, anatomy, and interaction with pollinators. *Protoplasma*, 1-19. <https://doi.org/10.1007/s00709-021-01699-x>
- Almeida RF, Francener A, Amorim AM. 2016. A generic synopsis of Malpighiaceae in the Atlantic Forest. *Nordic Journal of Botany* 34: 285-301. <https://doi.org/10.1111/njb.01016>
- Anderson WR. 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 3: 219-223. <https://doi.org/10.2307/2388042>

- Anderson WR, Davis CC. 2006. Expansion of *Diplopterys* at the expense of *Banisteriopsis* (Malpighiaceae). *Harvard Papers in Botany* 11: 1-16. [https://doi.org/10.3100/1043-4534\(2006\)95\[1:EODATE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3100/1043-4534(2006)95[1:EODATE]2.0.CO;2)
- Anderson WR, Davis CC. 2007. Generic adjustments in neotropical Malpighiaceae. *Contributions from the University of Michigan Herbarium* 25: 137-166.
- Anderson WR, Anderson C, Davis CC. 2022. Malpighiaceae. <http://herbarium.lsa.umich.edu/malpigh/index.html> (Acesso em: 25 mar. 2022).
- Arevalo-Rodrigues G, Almeida RF, Cardoso-Gustavson P. 2020. Anatomy of staminal glands in the Stigmaphylloideae clade sheds light into new morphotypes of elaiophores and osmophores in Malpighiaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 306: 1-9. <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01680-w>
- Cameron KM, Chase MW, Anderson, WR, Hills, HG. 2001. Molecular systematics of Malpighiaceae: evidence from plastid *rbcL* and *matK* sequences. *American Journal of Botany* 88: 1847-1862. <https://doi.org/10.2307/3558361>
- Carvalho PD, Rapini A, Conceição, AA. 2010. Flora da Bahia: Malpighiaceae: *Banisteriopsis*, *Brownesia* *Diplopterys*. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 10: 158-191.
- Cuatrecasas J. 1958. Prima flora colombiana. *Webbia: Journal of Plant Taxonomy and Geography* 13: 2. <https://doi.org/10.1080/00837792.1958.10669680>
- Davis W. 1996. *One river*. Simon & Schuster, New York.
- Davis CC, Anderson WR, Donoghue MJ. 2001. Phylogeny of Malpighiaceae: Evidence from chloroplast *ndhF* and *trnL-F* nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 88: 1830–1846. <https://doi.org/10.2307/3558360>
- Davis CC, Anderson WR. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 97: 2031-2048. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000146>
- De Souza PA. 2011. Alcaloides e o chá de ayahuasca: uma correlação dos " estados alterados da consciência" induzido por alucinógenos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 3: 349-358. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000300015>
- Domínguez-Clavé E, Soler J, Elices M, Pascual JC, Álvarez E, de la Fuente Revenga, M, Friedlander P, Feilding A, Riba J. 2016. Ayahuasca: pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. *Brain Research Bulletin* 126: 89–101. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.03.002>

- Francener A, Almeida RF. 2022. *Banisteriopsis* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB8803> . (acesso 06 jun. 2022).
- Frenopolo C. 2005. O Uso Ritual da Ayahuasca. *Journal of Psychoactive Drugs* 37: 237-239. <https://doi.org/10.1080/02791072.2005.10399807>
- Gates B. 1982. *Banisteriopsis*, *Diplopterys* (Malpighiaceae). *Flora Neotropica* 30: 1-237.
- Garrido RG, Sabino BD. 2009. Ayahuasca: entre o legal e o cultural. *Saúde. Ética & Justiça* 14: 44-53. <https://doi.org/10.11606/issn.2317-2770.v14i2p44-53>
- Gunn BF, Baudouin L, Olsen KM. 2011. Independent origins of cultivated coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Old World Tropics. *PLoS ONE* 6: e21143. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021143>
- Hammerman AF. 1930. Yagé, a narcotic of the Indians. *Bulletin of Applied Botany-Genetics and Plant Breeding* 22: 165–208.
- Helmkampf M, Wolfgruber T, Bellinger M, Paudel R, Kantar M, Miyasaka, S, Shintaku M. 2017. Phylogenetic relationships, breeding implications, and cultivation history of Hawaiian taro (*Colocasia esculenta*) through genome-wide SNP genotyping. *Journal of Heredity* 1–11. <https://doi.org/10.1093/jhered/esx070>
- Hunt VH, Campana MG, Lawes MC, Park YJ, Bower MA, Howe CJ, Jones MK. 2011. Genetic diversity and phylogeography of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) across Eurasia. *Molecular Ecology* 20: 4756–4771. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05318.x>
- Jesus PB, Nauer F, Lyra GDM, Cassano V, Oliveira MC, Nunes JMDC, Schnadelbach AS. 2016. Species-delimitation and phylogenetic analyses of some cosmopolitan species of *Hypnea* (Rhodophyta) reveal synonyms and misapplied names to *H. cervicornis*, including a new species from Brazil. *Journal of Phycology* 52: 774-792. <https://doi.org/10.1111/jpy.12436>
- Kaasik H, Souza RC, Zandonadi FS, Tófoli LF, Sussulini A. 2020. Chemical Composition of Traditional and Analog Ayahuasca. *Journal of Psychoactive Drugs* 1-11. <https://doi.org/10.1080/02791072.2020.1815911>
- Labate BC. 2000. A reinvenção do uso da ayahuasca nos centros urbanos. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Labate BC. 2001. Un panorama del uso ritual de la ayahuasca en el Brasil contemporáneo. *In: Ética, Mal y Transgresión-memoria del Segundo Foro*

- Interamericano Sobre Espiritualidad Indígena (J Mabit, org.) Takiwasi e Cisei, Lima, p.73-90.
- Langdon EJ. 1986. Las clasificaciones del yagé dentro del grupo Siona: etnobotánica, etnoquímica e história. *América Indígena* 46: 101–116.
- Li X, Yang Y, Henry RJ, Rossetto M, Wang Y, Chen S. 2015. Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews*, 90: 157-166. <https://doi.org/10.1111/brv.12104> .
- Malpighiaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB155>>. (accessed 2022 Mai. 06).
- Monteles RAR. 2020. "Eu venho da Floresta": a sustentabilidade das plantas sagradas amazônicas do Santo Daime. Tese de doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Marouelli, LP. 2009. Análise filogenética de acessos do gênero *Heliconia* L.(Heliconiaceae) utilizando marcadores moleculares. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília.
- Morton CV. 1931. Notes on yagé, a drug plant of southeastern Colombia. *Journal of the Washington Academy of Science* 21: 485–488.
- Morton CV. 1967. (194) A Proposal to Conserve the Generic Name *Banisteria* H. B. K. 4224. *Banisteria* Humboldt, Bonpland, & Kunth, *Nov. Gen. & Sp.* 5: ed. fol. 122, ed. qu. 158. Feb. 1822 (nom.cons. prop.). *Taxon* 1: 74-76. <https://doi.org/10.2307/1217131>
- Naganime-Pinheiro N. 2019. Vegetative morpho-anatomy of three lianas (Malpighiaceae) used in Ayahuasca analogues. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília.
- Naranjo P. 1979. Hallucinogenic plant use and related indigenous belief systems in the Ecuadorian Amazon. *Journal of Ethnopharmacology* 1: 121-145. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(79\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0378-8741(79)90003-5)
- Naranjo P. 1986. El ayahuasca en la arqueología ecuatoriana. *América Indígena* 46: 117– 127.
- Niedenzu F. 1928. Malpighiaceae. *In* *Das Pflanzenreich* (A Engler, ed.). Leipzig: Wilhelm Engelmann, 1-870.
- Oliveira RC, Christopher WF, Labate B, Oliveira JS. 2018. The urgent need to review the botanical classification of the Ayahuasca vine.

<<https://chacruna.net/urgent-botanical-classification-ayahuasca/>>. (accessed 2019 Oct 08).

Oliveira RC, Sonsin-Oliveira J, Santos TAC, Simas e Silva M, Fagg CW, Sebastiani R. 2020. Lectotypification of *Banisteriopsis caapi* and *B. quitensis* (Malpighiaceae), names associated with an important ingredient of Ayahuasca. *Taxon* 70: 185-188. . <https://doi.org/10.1002/tax.12407>

Ott J. 1996. Pharmacoteon: Entheogenic drugs, their plant sources and history. Natural Products Co., Kennewic.

Powo 2022. "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (accessed 2022 Ago 09).

Prance GT. 1970. Notes on the use of plant hallucinogens in Amazonian Brazil. *Economic Botany* 24: 62-68.

Queiroz MF, Queiroz EF, Marti G, Marcourt L, Castro IG, Bolzani VS, Wolfender JL 2013. Isolation and quantification of alkaloids from *Tetrapteryx mucronata*—a plant used in the ayahuasca preparation. *Planta Medica* 79: 13. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1352175>

Romero, MEM. 2021. Malpighiaceae. Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora del Valle de Lerma, 1.

Saisho D, Purugganan MD. 2007. Molecular phylogeography of domesticated barley traces expansion of agriculture in the Old World. *Genetics* 177: 1765–1776. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.079491> .

Santos BWL, Oliveira RCD, Sonsin-Oliveira J, Fagg CW, Barbosa JBF, Caldas ED. 2020. Biodiversity of  $\beta$ -Carboline Profile of *Banisteriopsis caapi* and Ayahuasca, a Plant and a Brew with Neuropharmacological Potential. *Plants* 9: 870-884. <https://doi.org/10.3390/plants9070870>

Schultes RE. 1954. A new narcotic snuff from the northwest Amazon. *Botanical Museum Leaflets Harvard. University*, 16: 241-260

Schultes RE. 1982. The beta-carboline Hallucinogens of South America. *Journal of psychoactive drugs* 14: 205–220. <https://doi.org/10.1080/02791072.1982.10471930>

Schultes RE. 1986. El desarrollo histórico de la identificación de las Malpigiáceas empleadas como alucinógenos. *América Indígena* 46: 9–47.

Schultes RE, Hofmann A. 1987. Plants of the gods: origins of hallucinogenic use. *Van*



- der Marck Editions, New York.
- Schultes RE, Hoffmann A, Ratsch C. 2001. Plants of Gods. Their Sacred, Healing, and Hallucinogenic Powers. Healing arts press, Vermont.
- Schwarz MJ, Houghton PJ, Rose S, Jenner P, Lees AD. 2003. Activities of extract and constituents of *Banisteriopsis caapi* relevant to Parkinson. *Pharmacol Biochem Behav* 75:627-633. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(03\)00129-1](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(03)00129-1)
- Shepard GH. 1998. Psychoactive plants and ethnopsychiatric medicines of the Matsigenka. *Journal of Psychoactive Drugs* 30: 321-332. <https://doi.org/10.1080/02791072.1998.10399708>
- Small JK. 1910. Malpighiaceae. *North American Flora* 25: 117-1.
- Spruce, R. 1908. Notes of a Botanist on the Amazon and Andes In: Wallace, A.R. (Ed.). London: Macmillan.
- Stiffler JD. 2018. Ayahuasca: From the Amazon to a city near you. *The American journal on addictions* 27: 648-649. <https://doi.org/10.1111/ajad.12833>
- Tupper K. 2009. Entheogenic healing: The spiritual effects and therapeutic potential of ceremonial ayahuasca use. *In* The healing power of spirituality: How religion helps humans thrive (JH Ellens, d.). CT: Praeger, Westport, p. 269-282.

## CAPÍTULO I

### **Relações filogenéticas de etnotaxa de *Banisteriopsis caapi* (Malpighiaceae) e implicações na circunscrição da espécie componente da Ayahuasca**

**Resumo:** *Banisteriopsis caapi* é uma das espécies amplamente utilizada na preparação do chá Ayahuasca, uma bebida enteógena proveniente das culturas indígenas amazônicas. São reconhecidos “tipos” ou etnotaxa *B. caapi* entre os que cultivam a planta. Esses etnotaxa possuem poucos vouchers férteis documentados em herbário. Este estudo teve como objetivo verificar as relações filogenéticas entre as amostras estéreis citadas como *B. caapi*. Foram coletadas amostras de tecido foliar dos etnotaxa “Arara”, “Caupuri”, “Ourinho”, “Pajezinho”, “Pingo de Ouro”, “Quebrador” e “Tucunacá” e, de dois indivíduos com morfologia híbrida. Outras espécies de *Banisteriopsis* e Malpighiaceae foram utilizadas como grupo externo, além de sequências de *Banisteriopsis* oriundas do GenBank. Realizou-se o sequenciamento das regiões plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, e *ndhF*, e o espaçador interno transcrito do rDNA nuclear (ITS). A amplificação foi realizada por reação de PCR com Top Taq Master Mix Kit (Qiagen). Os eletroferogramas gerados foram analisados e editados manualmente nos programas Geneious e CodonCode Aligner para obtenção do consenso das sequências *forward* e *reverse*. Foi realizada a análise de Máxima Parcimônia (MP), análise Máxima Verossimilhança (ML) e análise de Inferência Bayesiana (IB). Foram realizadas análises com o ITS sozinho, todas as regiões plastidiais juntas, regiões plastidiais mais o ITS e finalmente ITS, *matK* e *ndhF* dos etnotaxa de *B. caapi* mais espécies de *Banisteriopsis* e grupos externos. Foram obtidas 44 novas sequências, incluindo 37 etnotaxa de *B. caapi*, seis espécies do gênero e uma espécie de *Diplopterys*. Nas três análises filogenéticas (MP, ML e IB) não foram encontrados variabilidade genética suficiente para separar os etnotaxa. Assim como, na análise com outras espécies de *Banisteriopsis* nenhum etnotaxa aproximou de outra espécie. Além disso, os resultados filogenéticos encontrados aqui, entre as espécies de *Banisteriopsis*, corroboram com o estudo morfológico do gênero realizado por Gates. Assim, os etnotaxa formam um clado a espécie *B. caapi*, não se colocando próximo a outra espécie de *Banisteriopsis*. Ao passo que *B. schwannioides* aparece como espécie próxima a *B. caapi*, bem como *B. variabilis* e outras espécies que Gates comenta em seu estudo. Contudo, podemos afirmar que agora não foi possível separar os etnotaxa de *B.*

*caapi*, provenientes de centros religiosos Ayahuasqueiros do Brasil, por análise filogenética.

**Palavras-chave:** filogenia, etnotipos, Enteógeno, Santo daime.

**Abstract:** *Banisteriopsis caapi* is one of the species widely used in the preparation of Ayahuasca tea, an entheogenic drink originating from the indigenous Amazonian cultures. These etnotaxa have few fertile vouchers documented in herbarium. This study aimed to verify the phylogenetic relationships among the sterile samples cited as *B. caapi*. Leaf tissue samples were collected from the etnotaxa "Arara", "Caupuri", "Ourinho", "Pajezinho", "Pingo de Ouro", "Quebrador" and "Tucunacá" and from two individuals with hybrid morphology. Other species of *Banisteriopsis* and Malpighiaceae used as an outgroup were included, in addition to *Banisteriopsis* sequences from GenBank. The plastidial regions *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, and *ndhF*, and the internal transcribed spacer of the nuclear rDNA (ITS) were sequenced. Amplification was performed by PCR reaction with Top Taq Master Mix Kit (Qiagen). The electropherograms generated were analyzed and manually edited in Geneious, and CodonCode Aligner programs to obtain the consensus of the *forward* and *reverse* sequences. Maximum Parsimony (MP) analysis, Maximum Likelihood (ML) analysis and Bayesian Inference (BI) analysis were performed. Analyses were performed with ITS alone, all plastid regions together, plastid regions plus ITS and finally ITS, *matK* and *ndhF* of *B. caapi* etnotaxa plus *Banisteriopsis* species and outgroups. Forty-four new sequences were obtained, including 37 etnotaxa of *B. caapi*, six species of the genus and one species of *Diplopterys*. In the three phylogenetic analyses (MP, ML and IB) no genetic variability was found that was sufficient to separate the etnotaxa. As well, in the analysis with other species of *Banisteriopsis* no ethnotaxis came close to another species. Furthermore, the phylogenetic results found here among *Banisteriopsis* species corroborate with Gates' morphological study of the genus. Thus, the etnotaxa form a clade to the species *B. caapi*, not placing itself close to another species of *Banisteriopsis*. On the other hand, *B. schwannioides* appears as a species close to *B. caapi*, as well as *B. variabilis* and other species that Gates comments on in his study. However, we can state that at this time it was not possible to separate the ethnotaxa of *B. caapi* from Ayahuasca religious centers in Brazil by phylogenetic analysis.

**Keywords:** phylogeny, ethnotypes, entheogen, Santo Daime.

## INTRODUÇÃO

Malpighiaceae compreende 1.315 espécies em 77 gêneros de distribuição Pantropical, com maior diversidade nos Neotrópicos (Christenhusz et al. 2017, Davis & Anderson 2010).

O gênero Neotropical *Banisteriopsis* é caracterizado pelas brácteas e bractéolas ± triangular, apressas ou levemente divergente, persistente ou decídua; cálice com 4 sépalas abaxialmente biglandular, com a sépala anterior eglandular; glândulas do cálice presas em todo comprimento ou suportada abaixo da parte livre das sépalas; pétalas amarelas, rosa ou branco, glabra abaxialmente; noz as sâmaras lateralmente comprimidas, raramente esférica (Anderson et al. 2022). Carvalho et al. (2010) comenta que *Banisteriopsis* não é grupo monofilético, separado em três gêneros: *Diplopterys*, caracterizado por possuir pétalas pubescentes na face abaxial; *Brownenia*, que contém pétalas glabras em ambas as faces, com estigmas terminais e truncados, e carpóforo presente; e por fim *Banisteriopsis*, que possui estigmas terminais capitados, carpóforo ausente, e assim como *Brownenia* possui pétalas glabras.

Este gênero é conhecido por possuir espécies com substâncias bioativas com potencial medicinal e uso religioso (Frias et al. 2012). Dentre as espécies de uso religioso, destaca-se *B. caapi* (Spruce ex. Griseb.) Morton, utilizada na preparação do chá Ayahuasca, um enteógeno usado em rituais religiosos e como medicinal pelas comunidades indígenas da região amazônica. Recentemente a Ayahuasca vêm sendo utilizada por grupos religiosos urbanos no Brasil e vários países da América, Europa e Oceania (Tupper 2009). A expansão do uso da Ayahuasca no Brasil também atinge indígenas não amazônicos, conforme Rose & Langdon (2010) para um grupo Guarani.

Na maioria dos rituais, a decocção é preparada com o caule da liana *B. caapi* mais as folhas do arbusto *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae). *Banisteriopsis caapi* é rico em β-carbolinas, como harmina, harmalina e tetra-hidroharmina (THH), enquanto *P. viridis* contém consideráveis quantidade de N,N-dimetiltriptamina (DMT) (Santos et al. 2016, Domínguez-Clavé et al. 2016, Stiffler 2018). A β-carbolinas possuem propriedades antimicrobiana, anti-helmíntica, vaso relaxante e inibidoras reversíveis da enzima monoaminoxidase (MAO) (Pires et al. 2010, Trujillo et al. 2010)

O efeito Enteógeno da Ayahuasca só ocorre na presença das duas plantas, pois só o DMT da *P. viridis* isoladamente não faz efeito, devido ser degradada pela enzima MAO hepática e intestinal. Assim, são as β-carbolinas presentes no cipó que são

inibidoras naturais de MAO, e garantem a ativação do DMT via oral (Silva et al. 2022). Com isso, os efeitos do Ayahuasca só podem ser sentidos na simbiose entre essas duas plantas e sua interação com o corpo humano (Assis & Rodrigues 2017).

Embora *B. caapi* seja a espécie mais citada como fonte de betacarbolinas da Ayahuasca, há registros do reconhecimento, por parte das comunidades tradicionais, de etnotaxa do cipó da Ayahuasca (Spruce 1908, Koch-Grunberg 1923, Langdon 1986), Schultes 1986, Davis 1996, Oliveira et al. 2018). Langdon (1986) ressaltou que a classificação dos povos originários para o cipó da Ayahuasca, é mais refinada que o sistema usado pelos botânicos, haja vista que utilizam para classificar a junção de aspectos botânicos, efeitos químicos e as visões experimentadas quando da ingestão da bebida. As variadas religiões brasileiras que utilizam a Ayahuasca nos rituais surgiram do escopo das sociedades indígenas amazônicas.

Estes grupos também reconhecem e cultivam diferentes etnotaxa de *B. caapi*, distinguindo-os da mesma forma que as comunidades indígenas, ou seja, por caracteres morfológicos, principalmente do caule, características morfológicas do chá e, pelos efeitos enteógenos da bebida (Monteles 2020).

Alguns dos etnotaxa do cipó foram formalmente descritos como espécies, mostrando que Ayahuasca é um termo genérico para chás com composições distintas. Há registros de que *B. muricata* (Cav.) Cuatrec. e espécies de outros gêneros de Malpighiaceae, como *Diplopterys* A.Jus. e *Tetrapteryx* Cav., são – ou foram – usados como fonte de betacarbolinas na composição da Ayahuasca (Schultes 1957).

Além de espécies e gêneros distintos, não é clara a circunscrição de *B. caapi*. Embora as principais fontes (Flora e Funga do Brasil 2022, Powo 2022, Tropicos 2022) adotem a circunscrição proposta por Gates (1982) que aceita *B. quitensis* Nied. e *B. inebrians* (C.V. Morton) J.F. Macbr., como sinônimos de *B. caapi*, Schultes (1970) e Schultes et al. (2001) sinalizam reconhecer *B. inebrians* como táxon distinto. Considerando que Schultes foi o principal estudioso e coletor de plantas enteógenas na Amazônia e que Gates não teve a mesma oportunidade e estudou a espécie baseada somente em amostras de herbário, não podemos desconsiderar a opinião do primeiro autor. Gates (1982) comentou que todos os espécimens analisados por ela, eram provenientes de plantas cultivadas.

Além de não ter visto *B. caapi* a campo, faltam amostras férteis em herbários do cipó da Ayahuasca (Cuatrecasas 1958, Gates 1982, Schultes 1986) e o uso estendido da planta, cultivada por etnias distintas, dificultam a compreensão da taxonomia deste cipó.

Kaasiik et al. (2020) relataram que *Diplopterys cabrerana* (Cuatrec.) B. Gates é um substituto comum de *Psychotrya viridis* na composição do chá Ayahuasca e mostram, com base na composição química, que espécies de anayahuasca – sendo formas análogas ao Ayahuasca, onde usam-se sintéticos ou plantas que contenham o inibidor MAO e fontes de DMT – foram encontradas como aditivos em chás feitos na Europa. Santos et al. (2020), cujos etnotipos analisados são os mesmos utilizados no presente estudo, comentaram que *D. pubipetala* (A. Juss.) W. R. Anderson & C. C. Davis foi apontada por um informante de um grupo religioso urbano no Brasil, supostamente erroneamente, como um etnotaxa de *B. caapi*. Essa amostra foi identificada com base na anatomia do caule (Naganime 2019). Entretanto, distinguir gêneros com base em anatomia do caule é fácil, mas espécies de um gênero, é muito difícil (Naganime 2019).

Embora haja proliferação de artigos sobre os benefícios da Ayahuasca à saúde humana, especialmente na melhoria da capacidade cognitiva (Mckenna et al. 1998, Barbosa et al. 2018, Jiménez-Garrido et al. 2020 e muitos outros), nenhum desses trabalhos fez uma documentação adequada com a correta citação do herbário onde encontraríamos o material testemunho do cipó analisado. Dessa forma, há uma passiva aceitação de que apenas *B. caapi* é utilizado como fonte de betacarbolinas no preparo do chá entre os grupos urbanos que utilizam a Ayahuasca.

Tendo em conta o crescente interesse pela Ayahuasca, é essencial o estabelecimento da entidade taxonômica formal dos etnotaxas de *B. caapi* com base também em marcadores moleculares. Estudos moleculares com a família Malpighiaceae (Cameron et al. 2001, Davis et al. 2001, 2002, 2004, Davis & Anderson 2010) tem trazido importantes esclarecimentos sobre as relações infrafamiliares.

A filogenia de Malpighiaceae, realizada por Davis & Anderson (2010) é a mais recente e, nesse estudo, foram incluídas 19 espécies de *Banisteriopsis*, incluindo *B. caapi*. *Banisteriopsis* pertence ao clado Stigmaphylloids, e a espécie *B. schwannioides* (Griseb.) B. Gates é definida como irmã de *B. caapi*, em um clado bem resolvido com *bootstrap* de 100%.

Embora documentados em herbário, a maioria dos vouchers coletados recentemente por nossa equipe e depositados no UB estão estéreis, pois o período de florescimento é curto e irregular, havendo o relato de plantas que nunca floresceram. O objetivo deste trabalho foi investigar as relações filogenéticas entre os etnotaxa e *B. caapi* com as demais espécies de *Banisteriopsis* e verificar se os etnotaxa são ou não mais relacionados a *B. caapi* do que a outras espécies.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Material vegetal*

Esta pesquisa está inserida no projeto intitulado “Taxonomia e fitoquímica de *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton (Malpighiaceae), componente do chá ayahuasca”, sob o protocolo 16533.78.29547.26042017, financiado pela Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF). O foco do projeto é o estudo etnobotânico entre os grupos religiosos que utilizam o cipó Ayahuasca.

Com isso, excursões de campo, registro fotográfico e observação das plantas em seu hábitat, foram realizadas nos seguintes grupos religiosos: Barquinha, Santo Daime e várias “neo-ayahuasqueiras”. Coleta e observação de indivíduos nativos no Acre. Foram coletadas amostras de tecido foliar dos etnotaxa “Arara”, “Caupuri”, “Ourinho”, “Pajezinho”, “Pingo de Ouro”, “Quebrador” e “Tucunacá” (Figura 1), de dois indivíduos com morfologia híbrida, e de outras espécies de *Banisteriopsis* e de Malpighiaceae utilizadas como grupo externo. As folhas foram acondicionadas em sacos plásticos com sílica gel para armazenamento e conservação (Tabela 1) (Chase & Hills 1991).

O material testemunho foi coletado e depositado no herbário UB (acrônimo em Thiers, continuously updated). Adicionalmente, foram utilizadas sequências de *Banisteriopsis* oriundas do estudo de Davis & Anderson (2010), disponíveis no banco de dados do GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Tabela 2).

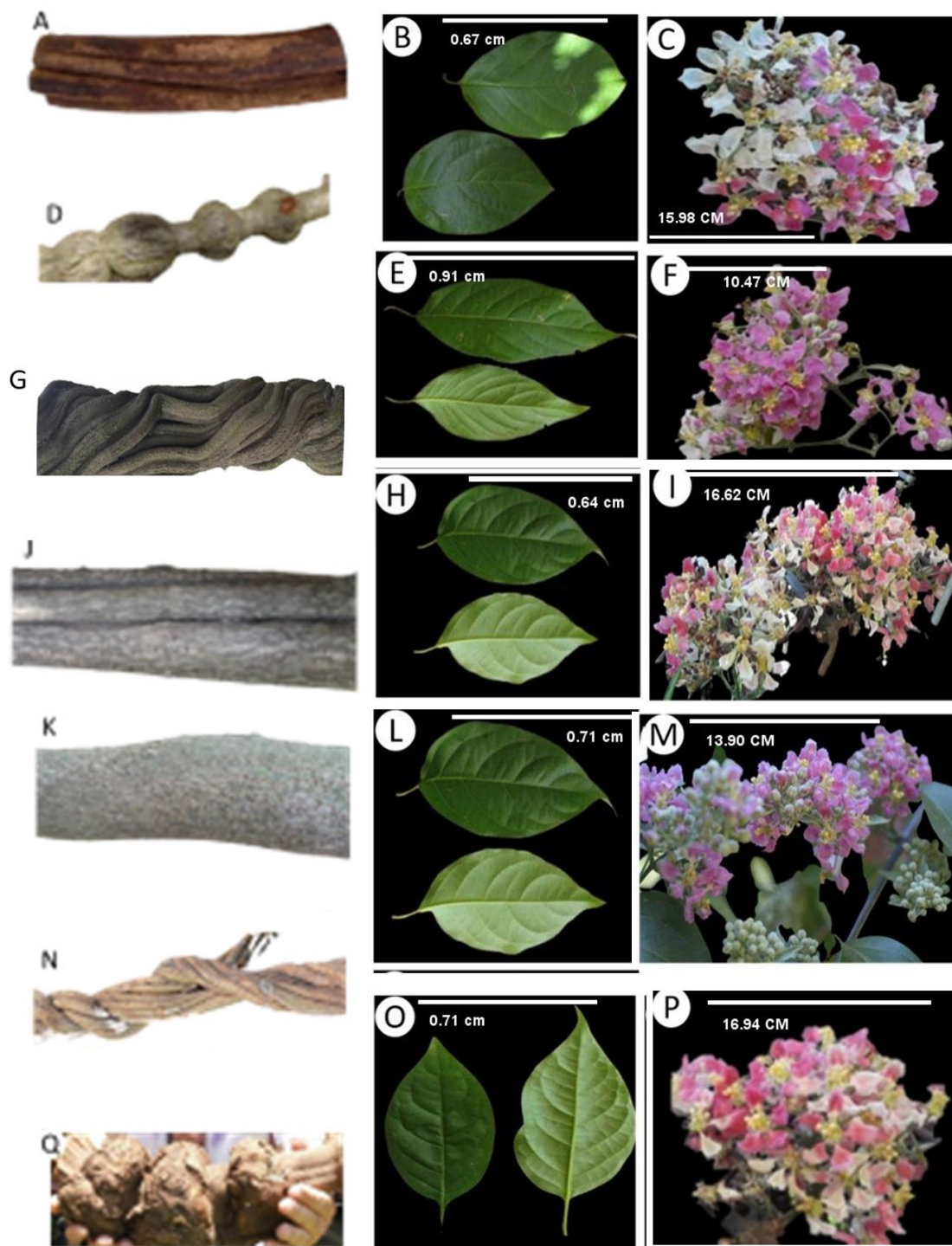


Figura 1. Etnotaxa de *B. caapi*, segundo informantes das religiões ayahuasqueiras brasileiras. A-B. Arara – A- caule, B- folha; C-E. Caupuri – C-flor, D-caule, E- folha; F-H. Ourinho– F-flor, G-caule, H-folha; I-J. Pingo de ouro – I-flor, J-caule; K-M. Quebrador – K-caule, L-folha, M-flor; N-P. Tucunacá–N-caule, O-folha, P-flor; Q. Pajezinho – Q – caule. Fotos: Regina Célia de Oliveira.



### Extração de DNA

As extrações de DNA e o PCR foram realizadas no Laboratório de Genética e Evolução de Plantas (LAGEV) do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. Foram testados os protocolos de extração de DNA de Tel-zur et al. (1999) e o protocolo adaptado para microtubos de Doyle & Doyle (1987). O DNA extraído foi avaliado por eletroforese em gel de agarose 1% em TAE1X, a 100V e corrente entre 250-300A. Para sua visualização as amostras de DNA foram coradas com GelRed™ (Biotium) e observadas sob luz UV. O DNA extraído também foi analisado em aparelho Biodrop, para determinação da concentração de cada amostra (em nanogramas) e verificar a presença de contaminações. O protocolo de Doyle & Doyle se mostrou mais eficiente para extração de amostras de DNA de melhor qualidade, considerando ambos os parâmetros, pureza e quantidade de DNA extraído, e foi utilizado para a extração de todas as amostras coletadas neste estudo.

Tabela 1. Amostras analisadas: etnotaxa, local de coleta, voucher. RCO= R.C. Oliveira; ADS= A.D. Silveira; CSB = C. S. Behrens; CWF= C.W. Fagg.

Enotaxa/Amostra	Estado	Voucher
Arara	AC	RCO 3397
Caupuri1	DF	RCO 3146
Caupuri2	MG	RCO 3521
Caupuri6	DF	RCO 3523
Cupuri8	GO	CSB 34
Caupuri9	DF	RCO 3449
Caupuri10	DF	ADS 03
Caupuri13	DF	CSB 28
Ourinho1	AC	RCO 3501
Ourinho 3	DF	RCO 3148
Ourinho4	AC	RCO 3399
Ourinho6	AC	RCO 3502
Ourinho 7	DF	RCO 3334
Ourinho8	AC	RCO 3395
Pajezinho1	AC	RCO 3394
Pajezinho2	GO	RCO 3433
Pingo de ouro	DF	CSB 26
Quebrador1	DF	CSB 27
Quebrador2	DF	CSB 25
Quebrador 3	DF	RCO 3514
Quebrador5	DF	RCO 3428
Tucunacá 1	DF	CSB 24
Tucunacá 2	DF	ADS 02
Tucunacá3	AC	RCO 3504

Tucunacá4	MG	RCO 3517
Tucunacá 8	-	RCO 3520
Tucunacá10	-	RCO 3323
Tucunacá11	-	RCO 3509
Tucunacá12	AC	RCO 3416
Tucunacá13	AC	RCO 3507
Tucunacá17	GO	RCO 3370
Tucunacá18	DF	CSB 30
Tucunacá20	GO	RCO 3434
Hibrido 3	MG	RCO 3555
Hibrido4	-	RCO 3137
Gema de ovo	AC	RCO 3494
* <i>Banisteriopsis campestris</i> (A.Juss.) Little (sp.1)	DF	RCO 3316
* <i>Banisteriopsis</i> sp.2 (Mistério – <i>B. caapi</i> )	GO	CSB 6
* <i>Banisteriopsis argyrophylla</i> (A. Juss.) B. Gates	DF	CWF 2445
* <i>Banisteriopsis variabilis</i> B. Gates	DF	CWF 2448
* <i>Diplopterys pubipetala</i> (A. Juss.) W.R. Anderson & C.C. Davis.	DF	CWF 2454
* <i>Banisteriopsis cf. laevifolia</i> (A.Juss.) B.Gates	-	CWF 2483
*Malpighiaceae2 - <i>Banisteriopsis megaphylla</i> (A.Juss.) B.Gates	-	RCO 3466
*Malpighiaceae3 - <i>Banisteriopsis megaphylla</i> (A.Juss.) B.Gates	-	RCO 3483
*outgroup.		

Tabela 2. Táxon, voucher e acrônimo do herbário onde está depositado, números de acesso do Genbank para as regiões ITS, matK e ndhF utilizadas neste estudo. Segundo o clado interno de *Banisteriopsis* do estudo de Davis & Anderson (2010). (-) Ausência de sequência no Genbank. \*\* Espécie utilizada como outgroup nas análises moleculares.

Táxon	Voucher (herbarium acronyms)	ITS	matK	ndhF
<i>Banisteriopsis argyrophylla</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Sebastiani; Moreno 87 (SP) Silva 3548 (MICH)	KR093006	HQ246752	HQ247199
<i>Banisteriopsis confusa</i> B. Gates	Krapovickas; Cristóbal 44854 (MICH)	-	HQ246755	HQ247202
<i>Banisteriopsis harleyi</i> B. Gates	Conceição 1713 (HUEFS) Carvalho 87 (MICH)	KR093007	HQ247204	HQ246756
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Francener; Hall; Koch 1359 (SP) Anderson 13631 (MICH)	KR093008	HQ246756	HQ247204
<i>Banisteriopsis latifolia</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Azevedo 698 (MICH)	-	HQ246758	HQ247206
<i>Banisteriopsis nummifera</i> (A.Juss.) B.Gates	Harley 54681 (MICH)	-	HQ246761	HQ247209.1
<i>Banisteriopsis paraguariensis</i> B.Gates	Ferrucci 1624 (MICH)	-	HQ246762	HQ247210
<i>Banisteriopsis pulchra</i> B. Gates	Dubs 2258 (MICH)	-		

<b><i>Banisteriopsis schwannioides</i> (Griseb.) B.Gates</b>	Mori 21590 (MICH)	-	HQ247212	HQ246764
<b><i>Banisteriopsis caapi</i> (Griseb.) C. V. Morton</b>	Anderson 13791 (MICH)	LC496605	HQ246753	HQ247200
<b>*<i>Diplopterys pubipetala</i> (Adr. Juss.) W. R. Anderson &amp; C. Davis</b>	Francener 1126 (SP) Salino 3472 (MICH)	KY421908.1	HQ247269	HQ246821

### *Amplificação e Sequenciamento*

Foram amplificadas e sequenciadas as regiões plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, e *ndhF*, e o espaçador interno transcrito do rDNA nuclear (ITS). A amplificação das regiões plastidiais foi realizada através de reação de PCR com Top Taq Master Mix Kit (Qiagen) seguindo as recomendações do fabricante, em um volume final de 15,4 µL, contendo 0,2 µM de cada primer e 25 ng de molde de DNA. Para amplificação do marcador ITS foram adicionados 10% de dimetil sulfoxido (DMSO), 0,15 µL de BSA (0,0015 mg/ml) e 3 µL de betaína (0,97 M) à mistura de PCR. Os ciclos de amplificação e os primers utilizados para cada marcador molecular são descritos na Tabela 3. Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose de 1-1,4% em tampão TAE 1X, corados com GelRed<sup>TM</sup> (Biotium) e visualizados sob luz UV.

Os produtos da PCR foram purificados utilizando o método de precipitação de DNA com polietilenoglicol – PEG 11% (Paithankar & Prasad 1991) e ressuspensos em água Milli-Q autoclavada. As reações de sequenciamento foram realizadas na plataforma de sequenciamento do Instituto Gonçalo Muniz, da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, em Salvador, Bahia (BA).

Os eletroferogramas gerados foram analisados e editados manualmente nos programas Geneious (Drummond et al. 2009), BIOEDIT (Hall 1999), e CodonCode Aligner (version 4.1 Codon Code Corporation, Massachusetts) para obtenção do consenso das sequências *forward e reverse*. Foram eliminadas as porções inicial e final de cada sequência (Tabela 4), a fim de evitar artefatos próximos à região de anelamento dos primers. O alinhamento das matrizes de sequências foi realizado nos programas Mega version X (Kumar et al. 2018) e PHYDE<sup>®</sup>v.0.9971 (Müller et. al 2006). No programa Mega version X foram obtidos os números de sítios variáveis, conservados e parcimoniosamente informativos.

Tabela 3 Primers utilizados por região, e descrição dos ciclos de amplificação das regiões nuclear e plastidial, número de ciclos e referências utilizadas no presente estudo dos etnotaxa de *B. caapi*.

Regiões	Primer (5' <i>sequence</i> 3')	Ciclo de amplificação	Número de ciclos	Referência
<b>Nuclear DNA</b>				
<b>ITS</b>	ITS75 (TATGCTTAAACTCAGCGGG) ITS92 (AAGGTTTCCGTAGGTGAAC)	Desnaturação inicial: 94°(3min) Desnaturação: 94° (45 seg) Anelamento: 53°-57° (1min) Extensão: 72° (1:30min) Extensão final: 72° (7 min)	35	White et al. 1990.
<b>Plastidial DNA</b>				
<b>matK</b>	<i>matK</i> -400F (CCCTAATTTACGATCAATTCATTCAAT) <i>trnK</i> -2R (AAC TAG TCG GAT GGA)	Desnaturação inicial: 94°(4min) Desnaturação: 94° (1 min) Anelamento: 52° (1min) Extensão: 72° (1min) Extensão final: 72° (7 min)	35	Cameron et al. 2001.
<b>ndhF</b>	<i>ndhF</i> 10.2R (TTAGTRAYAGTYGGTTGTATTACC) <i>ndhF</i> 5.5F (CCATCRATNACTCGYCYATCAAAAA)	Desnaturação inicial: 94°(3min) Desnaturação: 94° (1 min) Anelamento: 46° (1min) Extensão: 72° (1min) Extensão final: 72° (7 min)	35	Davis et al. 2001.
<b>psbA-trnH</b>	<i>psbA</i> (GTTATGCATGAACGTAATGCTC) <i>trnH</i> (ACCAATTGAACTACAATCCC)	Desnaturação inicial: 94°(3min) Desnaturação: 94° (1 min) Anelamento: 46° (1min) Extensão: 72° (1min) Extensão final: 72° (7 min)	35	Sang et al. 1997.
<b>trnL-trnF</b>	<i>trnL</i> (CGAAATCGGTAGACGCTACG) <i>trnF</i> (ATTTGAACTCGTGACACGAG)	Desnaturação inicial: 94°(4min) Desnaturação: 94° (1 min) Anelamento: 50° (1min) Extensão: 72° (2min) Extensão final: 72° (10 min)	35	Tarbelet et al. 2001.

<b><i>trnK</i> 5' 3914F-1110R</b>	<i>trnK</i> 3914F (GGGTTGCTAACTCAACGG) <i>trnK</i> 1110R (TATTCTGTTGATACATTCG)	Desnaturação inicial: 94°(3min) Desnaturação: 94° (1 min) Anelamento: 48° - 49° (1min) Extensão: 72° (1min) Extensão final: 72° (7 min)	35	Chandler et al. (2001).
<b><i>Rpl32</i> <i>trnL</i></b>	F: (CAGTTCCCAAAA AAACGTACTTC) R: (CTGCTTCCTAAG AGCAGCGT)	Desnaturação inicial: 80°(5min) Desnaturação: 94° (1 min) Anelamento: 46° (1min) Extensão: 65° (4min) Extensão final: 65° (5min)	35	Shaw et al. (2007).

Tabela 4 Comprimento (em pares de bases – pb) e número de caracteres excluídos das matrizes das matrizes de marcadores regiões plastidiais e nuclear dos etnotaxa de *B. caapi*.

	<b><i>Rpl32</i> <i>trnL</i></b>	<b><i>trnK</i></b>	<b><i>trnL</i>- <i>trnF</i></b>	<b><i>psbA</i>- <i>trnH</i></b>	<b><i>matK</i></b>	<b><i>ndhF</i></b>	<b>ITS</b>	<b>Matriz Plastidial</b>	<b>ITS</b>	<b>Matriz Plastidial + ITS</b>
Comprimento da matriz (bp)	737	843	770	406	1236	737	578	4788	575	5299
Número de caracteres eliminados do início/fim	100/50	50/50	50/80	100/50	100/70	30/20	60/20	-	3/0	0/67

### *Análise de dados moleculares*

Foram realizadas análises com as matrizes do marcador nuclear ITS e os plastidiais concatenados (*trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpl32-trnL*, *ndhF*), e a análise combinando todos os marcadores plastidiais e o ITS. Adicionalmente foi realizada uma análise com matriz combinada de *matK*, *ndhF*, e ITS, acrescentando seqüências de todas as espécies de *Banisteriopsis* do clado interno do estudo do Davis & Anderson (2010).

Foi realizada a análise de Máxima Parcimônia (MP) usando o programa Mega version X (Kumar et al. 2018). Foi utilizada a busca Tree-Bisection-Regrafting (TBR) com 10 adições aleatórias de táxons e retenção de 100 árvores por busca.

A análise Máxima Verossimilhança (ML) foi realizada no programa RAxML-HPC2 on XSEDE (v8.2.12) na plataforma digital Cipres Science Gateway (Miller et al. 2006), alterando os parâmetros de Bootstrap iterations (#N) para 1.000 replicações. A Inferência Bayesiana (IB) também foi realizada na plataforma CIPRES, utilizando os modelos de evolução calculados no software MrModeltest v2.2 (Nylander 2004). O modelo evolutivo mais apropriado para cada conjunto de sequências foi selecionado conforme o Critério de Informação de Akaike. As análises bayesianas foram realizadas com 200 milhões de gerações (convergência de 0,001) por duas execuções, cada uma com quatro cadeias Monte Carlo Marcov (MCMC), três quentes e uma fria, amostrando uma árvore a cada 500 gerações. As árvores iniciais (10%) correspondentes ao período de “burn-in” foram descartadas e as demais sequências foram usadas para gerar a árvore de consenso da maior parte da topologia e das probabilidades posteriores (PP) de cada clado. As árvores obtidas foram editadas usando o software FigTree. 1.2.2 (Rambaut 2009).

Foi realizado o teste para confiabilidade dos cladogramas *Bootstrap* (BS), com 1.000 réplicas, para as análises de MP e ML. Valores de *bootstrap* menores que 75, foram considerados baixos, de 75 a 90 moderados, e maiores que 90 altos. O suporte dos cladogramas obtidos na análise de IB foi estimado pelas suas probabilidades posteriores (PP), e considerados fracos se a PP for inferior a 0,9, moderados se a PP for maior que 0,9, e altos se a  $PP \geq 0,95$  (Silva 2016, Rolim 2017).

## **RESULTADOS**

A Tabela 1 mostra as coletas das quais foram obtidas 44 novas sequências, que incluem os etnotaxa 37 de *B. caapi* e seis espécies do gênero e uma espécie de

*Diplopterys*. Informações sobre o tamanho (pares de bases), número de sítios variáveis conservados e parcimoniosamente informativos das matrizes de ITS, das regiões plastidiais combinadas, das regiões plastidiais e marcador ITS combinados, e de todas as regiões *-matK*, *ndhF* e ITS- combinados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Tamanho (pares de bases), número de sítios variáveis, número de sítios conservados, e sítios parcimoniosamente informativos das matrizes utilizadas, e índices de consistência e retenção das árvores mais parcimoniosas, número de árvores igualmente parcimoniosas geradas e número de passos das árvores mais parcimoniosas obtidas no presente estudo.

	ITS	Matriz de marcadores plastidiais combinada	Matriz combinada de marcadores plastidiais + marcador ITS	Matriz combinada ITS, <i>matK</i> e <i>ndhF</i>
<b>Comprimento do alinhamento (pb)</b>	575	4788	5299	2372
<b>Sítios variáveis (pb)</b>	113	550	613	261
<b>Sítios conservados (pb)</b>	451	4021	4495	2059
<b>Sítios parcimoniosamente informativos</b>	44	99	119	88
<b>Índice de Consistência</b>	0,678161	0.585106	0.613953	0.711268
<b>Índice de Retenção</b>	0,798561	0.758514	0.748485	0.827731
<b>Nº de árvores igualmente parcimoniosas geradas</b>	1	2	1	3

As reconstruções filogenéticas realizadas a partir da região nuclear ITS com base nas análises de MP e IB geraram árvores filogenéticas com topologias idênticas, por isso optou-se por apresentar apenas a árvore gerada pela análise de MP (Figura 2). As informações referentes à MP estão descritas na tabela 4. A análise de Máxima Verossimilhança de dados da região ITS a topologia foi idêntica, mas não recuperou nenhum clado com grande suporte, visto que os valores de bootstrap foram em torno de 70%.

Os etnotaxa de *B. caapi* formaram um grande clado (Clado A) altamente suportado (PP 0.98, BS 91%), entretanto sem resolução interna. Importante ressaltar que o espécime identificado como *Banisteriopsis* sp.2, que é proveniente de um cultivo de grupo religioso e identificado como “Mistério” porque o informante não estava seguro da identidade da planta ao que tudo indica, é também *B. caapi*.

Este clado apresenta como grupo irmão a espécie *B. variabilis* B. Gates (PP 0.98, BS 86% - Clado B). O clado C (PP 1,0, BS 99%) compreende as espécies:

*Banisteriopsis megaphylla* (A.Juss.), (Malpighiaceae 3) e mais dois subclados, A e B.

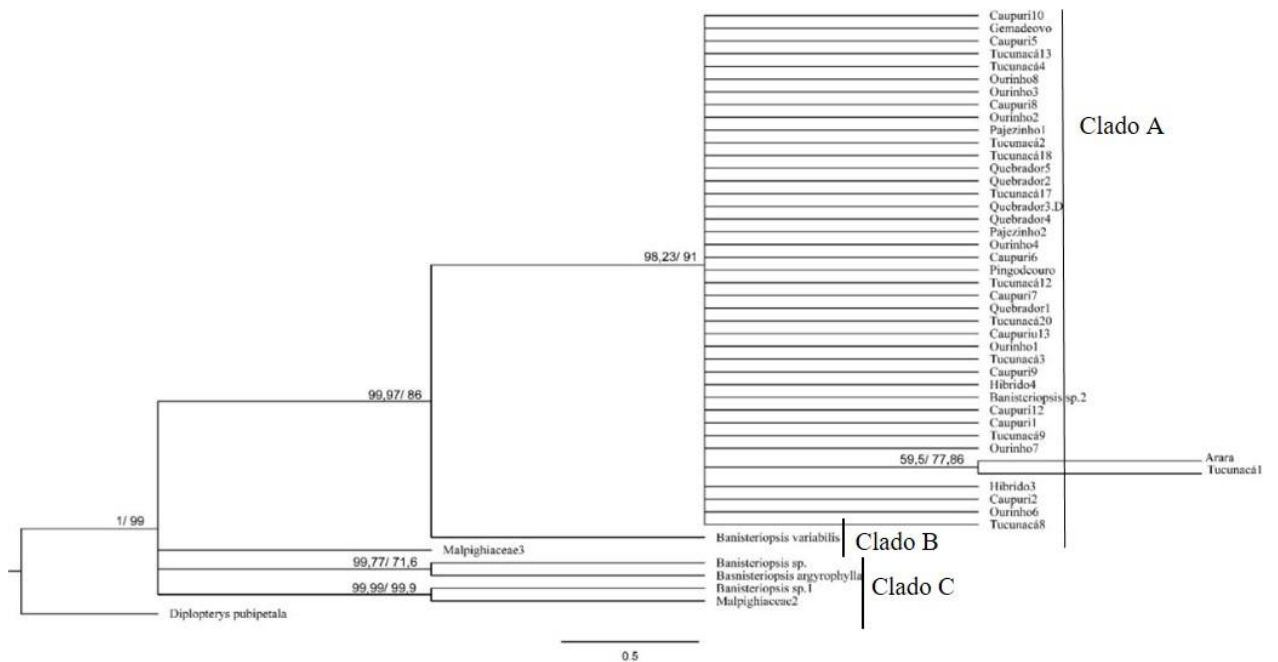


Figura 2. Árvore filogenética obtida a partir da análise da região nuclear ITS por meio de Máxima Parcimônia mostrando as relações entre os etnotaxa de *B. caapi*. Os valores mostrados acima dos ramos correspondem aos valores de suporte (PP/BS). As amostras estão identificadas por espécime e etnotaxa de acordo com a Tabela 1.

O subclado A apresenta *Banisteriopsis cf. laevifolia* (A. Juss.) B. Gates (*Banisteriopsis* sp.) e *B. argyrophylla* (A. Juss.) B. Gates como irmão do subclado B que corresponde a *Banisteriopsis campestris* (A. Juss.) Little. (*Banisteriopsis* sp.1) e *Banisteriopsis megaphylla* (A. Juss.) (Malpighiaceae 2).

A figura 3 mostra a árvore gerada pela análise de ML, a partir do conjunto de dados das regiões plastidiais: *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL* e *ndhF*. As hipóteses filogenéticas tanto da MP como da IB foram todas idênticas.

Foram identificados três clados: o Clado A, assim como o clado A recuperado na análise da região ITS, reúne os etnotaxa de *B. caapi* e os dois espécimes supostamente híbridos em uma grande politomia, com alto suporte (PP 0,91; BS – MV 98%; BS – MP 99%). Entretanto, *B. variabilis* está inserido neste grande clado.

No Clado B, *B. megaphylla* (Malpighiaceae sp. 3) emergiu como grupo irmão do Clado A, porém com alto suporte apenas de PP (PP 1.0; BS – MV 80%; BS – MP 79%). O Clado C, irmão dos outros dois clados, incluiu *B. cf. laevifolia* (*Banisteriopsis* sp.) e *B. argyrophylla* (PP 0,98; BS – MV 87%; BS – MP 84%). Na hipótese filogenética do



marcador nuclear ITS, formam um subclado dentro de um clado em que as relações não estão bem resolvidas.

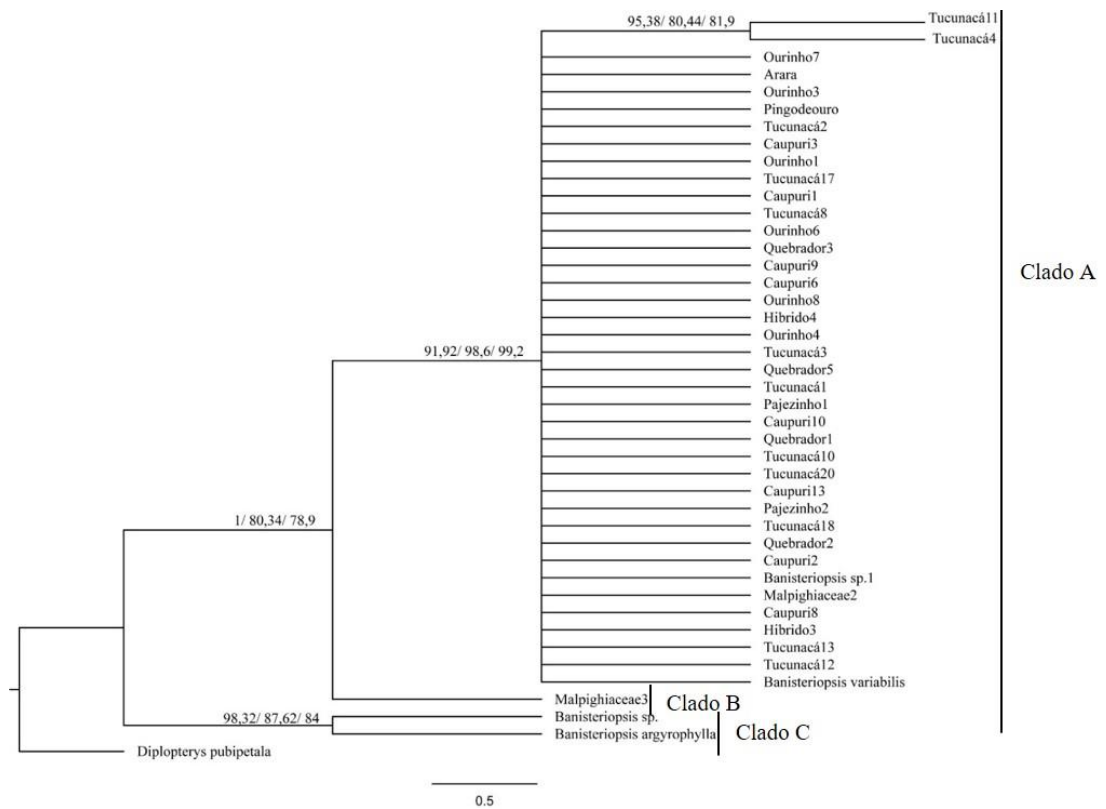


Figura 3. Árvore filogenética obtida a partir da análise da matriz de combinadas dos marcadores plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL* e *ndhF* por meio de Máxima verossimilhança mostrando as relações entre os etnotaxa de *B. caapi*. Os valores mostrados acima dos ramos correspondem aos valores de suporte: (PP)/BS (MV)/ BS (MP). As amostras estão identificadas por espécime e etnotaxa de acordo com a Tabela 1.

As reconstruções filogenéticas a partir da matriz combinada da região ITS e os marcadores plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, *ndhF*, geraram resultados idênticos nas análises MP, MV e IB (Figura 4). Assim como observado nas análises anteriores, os etnotaxa de *B. caapi* e os dois espécimes supostamente híbridos formaram uma politomia (PP 0,99; BS – MV 99%; BS – MP 100%; Clado A). Dentro deste clado, entretanto, foi recuperado um pequeno clado (Clado B) agrupando dois espécimes do etnotaxa Caupuri (C3 e C9) e um do etnotaxa Quebrador3 (PP 0,72; BS – MV 94%; BS – MP 96%). A espécie *B. variabilis* se estabelece como grupo irmão (PP

99,7; BS – MV 100%; BS – MP - Clado C) dos cladogramas A e B, semelhante à topologia encontrada na análise da matriz individual do marcador nuclear ITS.

*B. cf. laevifolia* (*Banisteriopsis* sp.) e *B. argyrophylla* formaram um clado (Clado D) que constitui o grupo irmão de *B. variabilis*, e *B. caapi* (PP 89,0; BS – MV 100%; BS – MP 100%). Esta topologia confirma as encontradas anteriormente com as análises das matrizes individuais de cada tipo de marcador, nuclear e plastidial.

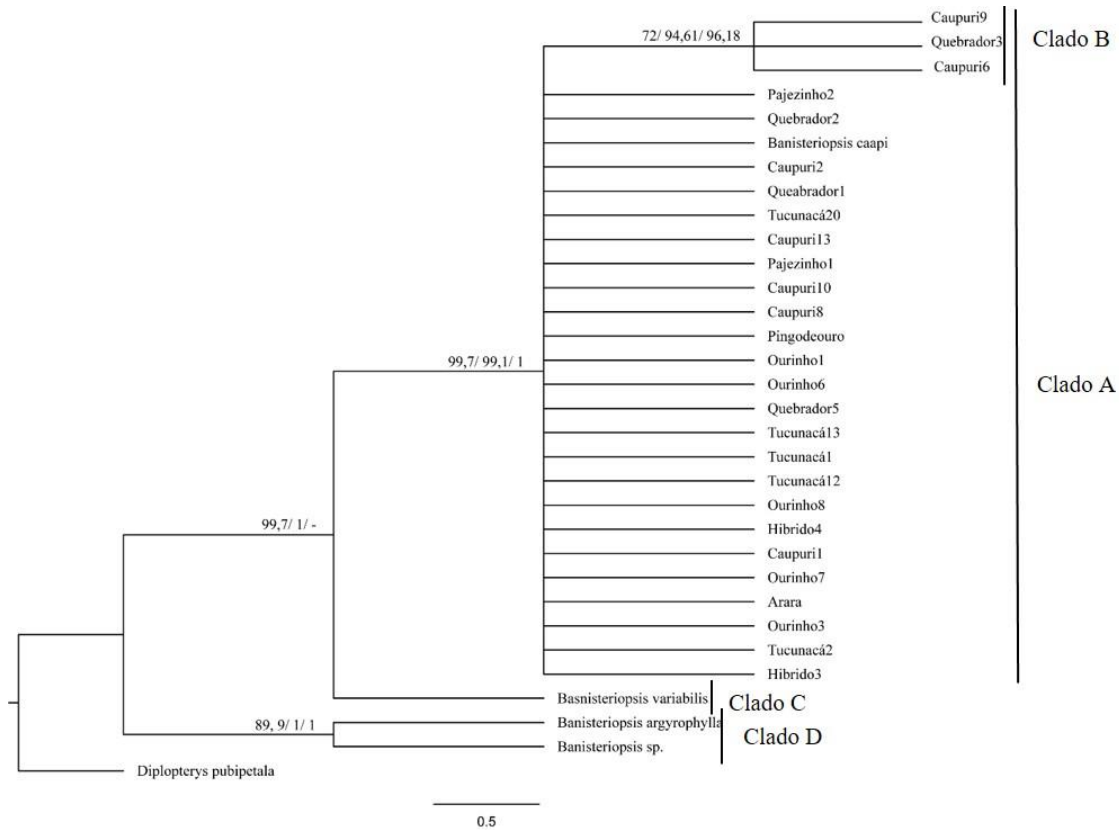


Figura 4. Árvore filogenética obtida a partir da análise da matriz de combinadas da região ITS e marcadores plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL* e *ndhF* por meio de análise de Máxima verossimilhança mostrando as relações entre os etnotaxa de *B. caapi*. Os valores mostrados acima dos ramos correspondem aos valores de suporte: (PP)/BS (MV)/ BS (MP), (-) valor inexistente. As amostras estão identificadas por espécime e etnotaxa de acordo com a Tabela 1.

Também foram realizadas reconstruções filogenéticas combinando os marcadores ITS, *matK* e *ndhF* juntando as sequências dos etnotaxa de *B. caapi* produzidas neste estudo, com sequências de outras espécies de *Banisteriopsis* provenientes do estudo de Davis & Anderson (2010), com o objetivo de verificar se

algum dos etnotaxa identificados como *B. caapi* pertence a outra espécie de *Banisteriopsis*. Todas as análises filogenéticas (MP, ML e IB) resultaram em árvores com topologias idênticas (Figura 5).

Esta hipótese filogenética corrobora a história de *Banisteriopsis*, em que no Clado A os etnotaxa de *B. caapi* e os dois espécimes dos híbridos formaram uma politomia (PP 94,5; BS-MV 96,61%; BS-MP 94,5%; Clado A), que incluiu também *B. schwannioides* (Griseb.) B.Gates, apontada como grupo irmão de *B. caapi* na filogenia de Malpighiaceae (Davis & Anderson 2010).

O Clado B, grupo irmão do Clado A, corresponde as espécies: *Banisteriopsis pulchra* B. Gates, *B. confusa* B. Gates e *B. latifolia* (A. Juss.) B. Gates (PP 98,1; BS-

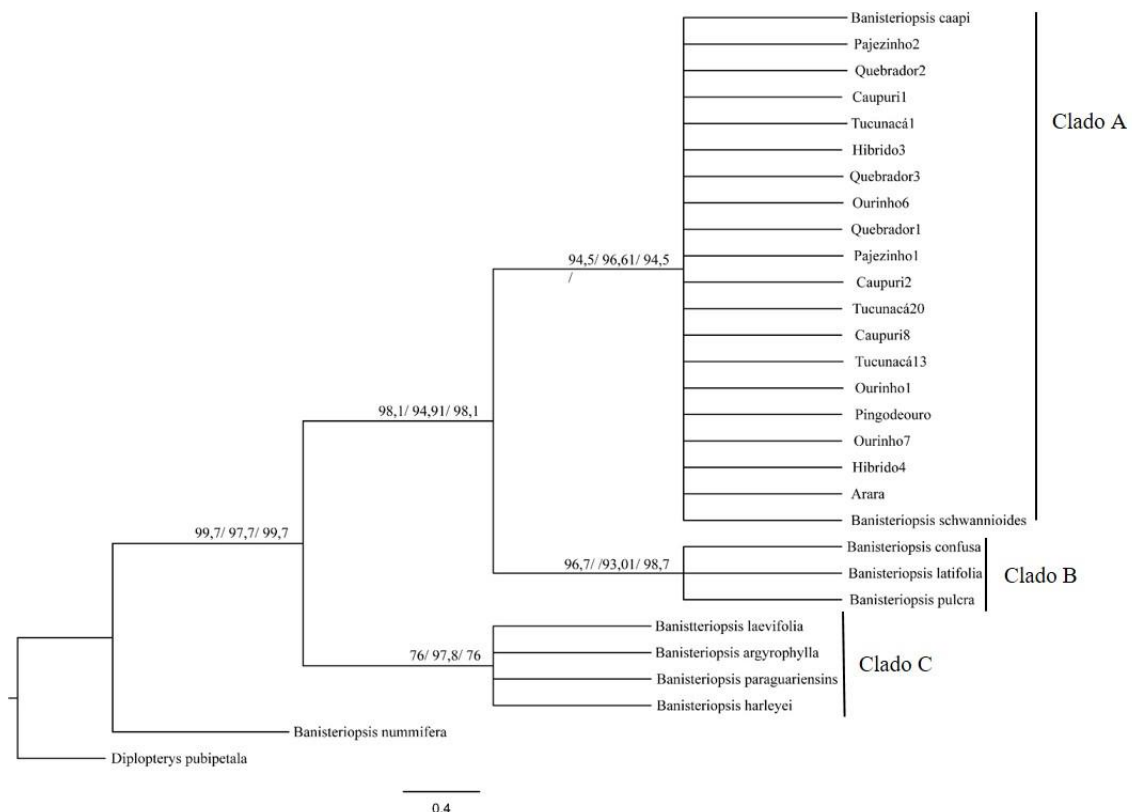


Figura 5. Árvore filogenética obtida a partir da análise da matriz de combinadas dos marcadores ITS, *matK* e *ndhF* por meio de análise de Máxima Verossimilhança mostrando as relações entre os etnotaxa de *B. caapi* e as espécies de *Banisteriopsis* do estudo de Davis & Anderson (2010). Os valores mostrados acima dos ramos correspondem aos valores de suporte: (PP)/BS (MV)/ BS (MP). As amostras estão identificadas por espécime e etnotaxa de acordo com a Tabela 1.

MV94,91%; BS-MP 98,1%). E o Clado C, irmão dos Clados A e B agrupam, embora sem resolução interna, *Banisteriopsis laevifolia* (A. Juss.) B. Gates, *B. harleyi*, *B. paraguariensis* B. Gates e *B. argyrophylla* (PP 99,7; BS-MV 97,7%; BS-MP 99,7%;).

## DISCUSSÃO

Os resultados de todas as análises filogenéticas mostram que os etnotaxa estão relacionados e não possuem divergências genéticas suficientes para considerá-los como espécies distintas. Bem como, não estão incluídos espécimes de outras espécies do gênero nesse grupo.

Segundo Lopes (2006) politomias podem ser explicadas de duas formas: a primeira, que a árvore representa a verdadeira filogenia entre os táxons, isto é, que uma espécie ancestral deu origem a mais de duas espécies simultaneamente; a segunda hipótese é que as filogenias com politomia representam o momento onde a ordem exata das bifurcações não pode ser representadas com fidelidade a partir dos dados disponíveis.

Essa falta de diferenciação genética entre os etnotaxa de *B. caapi* foi encontrada também por Luz (2019), que realizou a caracterização genética de *B. caapi*, com base na sintetização de primers nucleares específicos. A autora encontrou variação genética suficiente para inferir a existência de 12 linhagens de *B. caapi*, relacionadas à distribuição geográfica, mas a autora afirma que se trata de espécies candidatas não confirmadas, visto que caracteres morfológicos não foram analisados para sustentarem essa divergência. Os resultados encontrados por Luz (2019) levam-nos a supor que, devido tratar-se de uma planta fácil e frequentemente cultivada, a espécie tenha algum grau de domesticação o que justificaria o reconhecimento de etnotaxa.

A espécie *B. variabilis* não foi anteriormente amostrada na filogenia de Malpighiaceae (Davis & Anderson 2010), mas na reconstrução filogenética individual da região ITS é a espécie mais próxima de *B. caapi* e seus etnotaxa. Assemelha-se a *B. caapi* por possuir flores com pétalas róseo claro, tornando-se amarelo-claras ou alvas com o tempo; inflorescências axilares do tipo cimeiras de umbelas com 4 flores; frutos com núcleo seminífero piloso interiormente (Saia et al. 2021, Francener & Almeida 2022). Segundo Gates (1982) *B. variabilis* é uma espécie polimórfica, assim como *B. caapi* que possui grande diversidade morfológica. Difere de *B. caapi* pelo hábito arbustivo, ou quando jovens subarbustivos e, pela distribuição no Cerrado de onde é nativa, enquanto *B. caapi* ocorre naturalmente na amazônia (Gates 1982, Mamede 2015).

Quando combinados todos os marcadores plastidiais (figura 3), *B. variabilis* inclui-se no grupo de *B. caapi*, revelando que são espécies intimamente relacionadas.

Novello (2013) comenta equívocos em hipóteses filogenéticas podem ocorrer devido à baixa taxa evolutiva do gene escolhido em relação à taxa de especiação, se o fragmento analisado for muito pequeno, métodos inadequados de análises filogenéticas para investigar padrões de diversificação em grupos muito recentes ou que sofreram rápida especiação. Nesse sentido, alguns destes critérios deve ter influenciado o fato de *B. variabilis* incluir-se na politomia.

Ao passo que na análise no qual uni todas as regiões plastidiais mais a região nuclear, a relação entre *B. variabilis* e o clado de *B. argyrophylla* e *B. cf. laevifolia* (*Banisteriopsis* sp.), a relação fica altamente suportada. Esta relação corrobora a afinidade de *B. cf. laevifolia* com o grupo *argyrophylla*, encontrada por Gates (1982). Onde compartilham as seguintes características: posição e tipo de glândulas na folha; inflorescência em umbelas com quatro flores suportadas em cimeiras ou dicásio; estames com filetes curtos, com anteras reflexas, subigual, com lóculos pilosos e conectivos eglandulares; estiletos curtos, recurvado e lateralmente comprimido na porção apical; fruto com núcleo seminífero liso e a asas abrançando o núcleo seminífero (Francener & Almeida 2022, Gates 1982). Além disso, *B. argyrophylla* está relacionada à *B. harleyi* B. Gates (Gates 1982, Davis & Anderson 2010), onde segundo Gates (1982) *B. harleyi* pode substituir *B. argyrophylla* em ambientes de vegetação de campo rupestre na Bahia. Inclusive, Carvalho et al. (2010) comentam serem semelhantes e diferem-se apenas pelas folhas menores, subsésseis, coriáceas.

A figura 5 traz a reconstrução ancestral dos etnotaxa de *B. caapi* mais as espécies de *Banisteriopsis* da filogenia de Malpighiaceae, mostrando que os etnotaxa não pertencem a outra espécie. A filogenia descrita aqui mostra que confirma relações observadas por Gates (1982) e a filogenia de Malpighiaceae de Anderson & Davis (2010). Com base nas relações morfológicas, Gates (1982) havia suposto que *B. schwannioides* e *B. caapi* são muito relacionadas, diferenciadas pela pubescência velutina das folhas, maior comprimento dos pedicelos e flores, lóculos da antera glabro e pelos estiletos posteriores reduzidos e anteriores alargados em *B. schwannioides*. Enquanto *B. caapi* possui folhas com ambas faces glabrescente ou esparçamente serícea; pedicelos sésseis; lóculo da antera glabro ou piloso; estiletos um pouco maior que o anterior (Francener & Almeida 2022, Gates 1982). *Banisteriopsis schwannioides* é uma espécie amazônica pouco conhecida. A descrição de Gates (1982) foi baseada na análise de, apenas, oito coletas do Amazonas e Pará e nós desconhecemos a espécie a campo. A análise de espécimens de herbário e da descrição de Gates, chamou atenção ao menor

tamanho das lâminas foliares de *B. schwannioides* com 2.2-8.3 cm de compr. 1.2-4.8 cm largura em relação à *B. caapi* (9.83-16.72 compr. 4-9.24 largura), embora não comentado por (Gates 1982).

O comprimento relativo dos estigmas é um carácter usado também como diagnóstico de *B. inebrians* (Morton 1931). Onde o estilete anterior é menor que dois posteriores, enquanto em *B. caapi* os estiletos posteriores são um pouco maior que o anterior.

O clado com as espécies *B. confusa* B. Gates, *B. latifolia* (A.Juss.) B. Gates e *B. pulchra* B. Gates corresponde ao clado irmão de *B. caapi* (Davis & Anderson 2010). As duas primeiras espécies pertencem ao grupo morfológico *B. malifolia*, e compartilham as seguintes características morfológicas: flor com elaióforo no cálice e pétalas branca/róseo, frutos com rotação das duas asas posteriores ficando paralelas à asa anterior e lóculo do núcleo seminífero é densamente piloso (Gates 1982). *Banisteriopsis pulchra* pertence ao grupo morfológico *B. membranifolia*, também considerada próxima de *B. caapi* por Gates (1982). *B. membranifolia* possui folhas ovadas coriáceas, pedicelos curtos, flores menores, fruto sem asas laterais, lóculo pubescente no interior, estas são características que a diferenciam de *B. caapi*.

O clado formado pelas espécies *B. laevifolia* (A. Juss.) B. Gates, *B. argyrophylla*, *B. paraguariensis* B. Gates e *B. harleyi*. Concorda com a afinidade encontradas por Gates (1982), em que afirma que *B. laevifolia* é próxima do grupo morfológico *B. argyrophylla*, possuindo os seguintes caracteres em comum: posição das glândulas nas lâminas foliares na margem / nervuras laterais; inflorescência em umbelas, quatro flores em cimeiras ou dicásio; estames com filamentos curtos, com anteras subiguais, com lóculos pilosos e conectivos eglandulares; estiletos curtos divergentes, recurvados; fruto com núcleo seminífero liso e asa abraçando o núcleo seminífero.

*B. argyrophylla*, *B. paraguariensis* B. Gates e *B. harleyi* pertencem ao grupo *B. argyrophylla*, que se caracterizam morfológicamente por um ou muitos pares de glândulas nas nervuras laterais da face abaxial; folhas abaxialmente densamente branco seríceo; sépalas arredondadas no ápice e adpressas no botão; glândulas do cálice verde ou marrom; pétalas longas fimbriadas, unha da pétala posterior não constricta; filamentos curtos, grossos, subiguais; antera subigual, lóculo piloso, com conectivos oblongos, não glandulares; estiletos divergentes achatados lateralmente, estilete anterior mais grosso; fruto com núcleo seminífero velutino (Gates 1982).

A espécie *B. nummifera* (A. Juss.) B. Gates não forma um clado com as demais espécies, mais uma vez corroborando com Gates (1982), que a inclui num grupo morfológico com espécies que não foram amostradas aqui. O grupo morfológico *B. nummifera* é constituído pelas seguintes espécies: *B. anisandra* (A. Juss.) B. Gates, *B. gardneriana* (A. Juss.) W.R. Anderson & B. Gates, *B. lyrata* B. Gates e *B. sellowiana* (A. Juss.) B. Gates (Gates 1982).

Por fim, para responder à questão da existência de outras possíveis espécies dentro dos etnotaxas de *B. caapi*, foram utilizados marcadores e análises filogenéticas considerados potenciais para o estudo das relações entre espécies. E os resultados mostraram que os etnotaxas não pertencem a outra espécie do gênero, bem como todas as amostras são *B. caapi*. As politomias encontradas sugerem que talvez uma maior e mais abrangente amostragem, no sentido de coletas de ambientes fora do país. Possam resolver essa relação, bem como usar o marcador PHYC que foi usado na filogenia de Malpighiaceae (Anderson & Davis 2010) também é outra possibilidade de resolução das politomias. Além disso, foi corroborado as relações morfológicas descritas pela ampla revisão de Gates (1982), mostrando que as afinidades morfológicas correspondem as afinidades filogenéticas.

## LITERATURA CITADA

- Anderson WR, Anderson C, Davis CC. 2022. Malpighiaceae. <http://herbarium.lsa.umich.edu/malpigh/index.html> (Acesso em: 25 mar. 2022).
- Assis GLD, Rodrigues JA. 2017. De quem é a ayahuasca? Notas sobre a patrimonialização de uma “bebida sagrada” amazônica. *Religião & Sociedade* 37: 46-70. <https://doi.org/10.1590/0100-85872017v37n3cap0>
- Barbosa PCR, Tófoli LF, Bogenschutz MP, Hoy R, Berro LF, Marinho EA, Winkelman MJ. 2018. Assessment of alcohol and tobacco use disorders among religious users of ayahuasca. *Frontiers in psychiatry* 9: 136 <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2018.00136>
- Callaway JC, McKenna DJ, Grob CS, Brito GS, Raymon LP, Poland RE, Andrade EN, Andrade EO, Mash DC. 1999. Pharmacokinetics of Hoasca alkaloids in healthy humans. *Journal of ethnopharmacology* 65: 243-256. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00168-8](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00168-8)
- Cameron KM, Chase MW, Anderson, WR, Hills, HG. 2001. Molecular systematics of

- Malpighiaceae: evidence from plastid rbcL and matK sequences. *American Journal of Botany* 88: 1847-1862. <https://doi.org/10.2307/3558361>
- Carvalho PD, Rapini A, Conceição, AA. 2010. Flora da Bahia: Malpighiaceae: *Banisteriopsis*, *Broweniae Diplopterys*. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 10: 158-191
- Chandler GT, Bayer RJ, Crisp MD. 2001. A molecular phylogeny of the endemic Australian genus *Gastrolobium* (Fabaceae: Mirbelieae) and allied genera using chloroplast and nuclear markers. *American Journal of Botany* 88:1675-1687.
- Chase MW, Hills HH. 1991. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40:215-220. <https://doi.org/10.2307/3558413>
- Christenhusz MJ, Fay MF, Chase MW. 2017. *Plants of the world: an illustrated encyclopedia of vascular plants*. University of Chicago Press. Chicago.
- Cuatrecasas, J. 1958. *Prima Flora Colombiana* 2. Malpighiaceae. *Webblla* 13:343–664. <https://doi.org/10.1080/00837792.1960.10669703>.
- Davis W. 1996. *One river*. Simon & Schuster, New York.
- Davis CC, Anderson WR, Donoghue MJ. 2001. Phylogeny of Malpighiaceae: Evidence from chloroplast ndhF and trnL-F nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 88:1830–1846. <https://doi.org/10.2307/3558360>
- Davis CC, Bell CD, Fritsch PW, Mathews S. 2002. Phylogeny of *Acridocarpus-Brachylophon* (Malpighiaceae): implications for Tertiary tropical floras and Afroasian biogeography. *Evolution* 56:2395-2405. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00165>
- Davis CC, Peter WF, Charles DB, Sarah M. 2004. High-latitude tertiary migrations of an exclusively tropical clade: Evidence from Malpighiaceae. *International Journal of Plant Sciences* 165:S107-S121. <http://dx.doi.org/10.1086/383337>
- Davis CC, Anderson WR. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 97:2031–2048. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000146>
- Domínguez-Clavé E, Soler J, Elices M, Pascual JC, Álvarez E, de la Fuente Revenga M, Riba J. 2016. Ayahuasca: pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. *Brain research Bulletin* 126: 89-101. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.03.002>
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11–15.



- Drummond AJ, Ashton B, Cheung M, Heled J, Kearse M, Moir R, Stones-Havas S, Thierer T, Wilson A. 2009. Geneious v.4.7 <http://www.geneious.co>. (accessed 2019 Ago 10).
- Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. (accessed 2022 Mai 09).
- Frias UA, Costa MCM, Takahashi JA, Oki Y. 2012. *Banisteriopsis* species: a source of bioactive of potential medical application. Industrial Journal of Biotechnology Wellness Industrial 1: 163-171. <http://dx.doi.org/10.6000/1927-3037/2012.01.03.01>
- Gates B. 1982. *Banisteriopsis Diplopterys* (Malpighiaceae). Flora Neotropica Monographs 30:1–236.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41:95-98. [http://dx.doi.org/10.14601/PHYTOPATHOL\\_MEDITERR-14998U1.29](http://dx.doi.org/10.14601/PHYTOPATHOL_MEDITERR-14998U1.29)
- Jiménez-Garrido DF, Gómez-Sousa M, Ona G, Dos Santos RG, Hallak JE, Alcázar-Córcoles MÁ, Bouso JC. 2020. Effects of ayahuasca on mental health and quality of life in naïve users: A longitudinal and cross-sectional study combination. Scientific Reports 10: 1-12. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-61169-x>
- Kaasik H, Souza RC, Zandonadi FS, Tófoli LF, Sussulini A. 2020. Chemical Composition of Traditional and Analog Ayahuasca. Journal of Psychoactive Drugs 1-11. <https://doi.org/10.1080/02791072.2020.1815911>
- Koch-Grunberg, T. 1923. Von Roraima zum Orinoco: Ergebnisse einer Reise in Nordbrasilien und Venezuela in den Jahren 1911–1913, vol.3. Stuttgart: Stecker und Schroder.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution 35:1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Langdon EJ. 1986. Las clasificaciones del yagé dentro del grupo Siona: etnobotánica, etnoquímica e historia. América Indígena 46:101–116.
- Lopes, DP. 2006. Filogenia molecular de Tunicata com ênfase em Ascidiacea. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

- Luz TZ. 2019. Caracterização genética de *Banisteriopsis* cf. *caapi* (Spruce ex Griseb.) CV Morton (Malpighiaceae), um cipó utilizado no preparo do chá ayahuasca. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- Mamede MCH. 2015. *Banisteriopsis* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8803>> (accessed 2020 Jul 12).
- Mackenna DJ, Callaway JC, Grob CS. 1998. The scientific investigation of Ayahuasca: a review of past and current research. *The Heffer Review of Psychedelic Research* 1: 65-77.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2006. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *In Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. LA, New Orleans, p.1 - 8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>
- Monteles RAR. 2020. " Eu venho da Floresta": a sustentabilidade das plantas sagradas amazônicas do Santo Daime. Tese de doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Morton CV. 1931. Notes on yagé, a drug plant of southeastern Colombia. *Journal of the Washington Academy of Science* 21:485–488.
- Müller K, Quandt D, Müller J, Neinhuis C. 2006. PhyDE®: Phylogenetic Data Editor. [www.phyde.de](http://www.phyde.de). (accessed 2020 Jul 12).
- Naganime-Pinheiro N. 2019. Vegetative morpho-anatomy of three lianas (Malpighiaceae) used in Ayahuasca analogues. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília.
- Nylander JA. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Suécia.
- Novello M. 2013. Filogenia molecular e delimitação de espécies no gênero *Brasiliorchis* (Maxillariinae, Orchidaceae). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba. <https://doi.org/10.11606/D.11.2013.tde-22082013-160556>
- Oliveira RC, Christopher WF, Labate B, Oliveira JS. 2018. The urgent need to review the botanical classification of the Ayahuasca vine. <<https://chacrana.net/urgent-botanical-classification-ayahuasca/>>. (accessed 2019 Oct 08).

- Paithankar KR, Prasad KSN. 1991. Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol. *Nucleic Acids Research* 19:1346.
- Pires APS, Oliveira CDRD, Yonamine M. 2010. Ayahuasca: uma revisão dos aspectos farmacológicos e toxicológicos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* 31: 1.
- Powo 2022. "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (accessed 2022 Ago 09).
- Queiroz MF, Queiroz EF, Marti G, Marcourt L, Castro IG, Bolzani VS, Wolfender JL 2013. Isolation and quantification of alkaloids from *Tetrapteryx mucronata*—a plant used in the ayahuasca preparation. *Planta Medica* 79:13. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1352175>
- Rambaut A. 2009. FigTree v1. 3.1. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. (accessed 2019 Nov 10).
- Rolim PL. 2017. Filogenia molecular, biogeografia e aspectos evolutivos de *Pilosocereus* (Cactaceae). Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Rose IS, Langdon EJ. 2010. Diálogos (neo) xamânicos: encontros entre os Guarani e a ayahuasca. *Tellus* 18: 83-113.
- Saia TFF, Meneghi SP, Sebastiani R. 2021. Some aspects of germination in *Banisteriopsis variabilis* B. Gates (Malpighiaceae). *Brazilian Journal of Biology* 81:210-212. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.220556>
- Sang T, Crawford Dj, Stuessy TF. 1997. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany* 84:1120-1136. <https://doi.org/10.2307/2446155>
- Santos RG, Osório FL, Crippa JAS, Hallak JE. 2016. Antidepressive and anxiolytic effects of ayahuasca: a systematic literature review of animal and human studies. *Brazilian Journal of Psychiatry* 38: 65-72.
- Santos BWL, Oliveira RCD, Sonsin-Oliveira J, Fagg CW, Barbosa JBF, Caldas ED. 2020. Biodiversity of  $\beta$ -Carboline Profile of *Banisteriopsis caapi* and Ayahuasca, a Plant and a Brew with Neuropharmacological Potential. *Plants* 9:870. <https://doi.org/10.3390/plants9070870>
- Schultes RE. 1957. The identity of the malpighiaceae narcotics of South America. *Botanical Museum Leaflets* 18: 1-56.

- Schultes RE. 1970. The Botanical and Chemical Distribution of Hallucinogens. Annual Review of Plant Physiology 21: 571–598. <https://doi:10.1146/annurev.pp.21.060170.003035>
- Schultes RE. 1986. El desarrollo histórico de la identificación de las Malpigiáceas empleadas como alucinógenos. América Indígena 46: 9–47.
- Schultes RE, Hoffmann A, Ratsch C. 2001. Plants of Gods. Their Sacred, Healing, and Hallucinogenic Powers. Healing arts press, Vermont.
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL. 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 94:275–288. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
- Silva BS, Lima GP, dos Santos IRA, da Silva JC, Garcia DM, Antunes AA. 2022. O Uso da Ayahuasca como terapia alternativa na depressão: efeitos farmacológicos e adversos. <https://doi.org/10.31415/bjns.v4i2.143>
- Silva AGD. 2016. Revisão taxonômica e filogenia molecular de *Callicostella* (Müll. Hal.) Mitt. para região neotropical. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Brasília. <http://dx.doi.org/10.26512/2016.08.T.22247>
- Spruce R. 1908. Notes of a botanist on the Amazon and Andes In: Notes of a botanist on the Amazon & Andes (AR Wallace ed.). Macmillan, London. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.17908>
- Stiffler JD. 2018. Ayahuasca: From the Amazon to a city near you. The American journal on addictions 27:648-649. <https://doi.org/10.1111/ajad.12833>
- Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J. 1991. Universal primers or amplification of 3 noncoding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology 5:1105-1109.
- Tel-Zur N, Abbo S, Myslabodski D, Mizrahi Y. 1999. Modified CTAB procedure for DNA isolation from epiphytic cacti of the genera *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). Plant Molecular Biology Reporter 17:249-254.
- Trujillo E, Bustamante GF, Correa M, Trujillo W. 2010. El uso de la Ayahuasca en la amazonia. Ingenierías y Amazonía, Ingenierías y Amazonía 3: 151-163.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. <https://tropicos.org> (accessed 2022 Ago 09)
- Tupper K. 2009. Entheogenic healing: The spiritual effects and therapeutic potential of ceremonial ayahuasca use. In The healing power of spirituality: How religion helps humans thrive (JH Ellens, ed.). CT: Praeger, Westport, p. 269-282.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (M Innis, D Gelfand, J Sninsky, T White, eds.). Academic Press, San Diego, p 315-322.

## CAPÍTULO II

### **Dated *Banisteriopsis* phylogeny suggests ancient Cerrado colonization and Amazonian origin of *B. caapi***

Summary:

*Banisteriopsis* belongs to the Malpighiaceae family and includes 61 species with the Brazilian Cerrado a centre of diversity. *Banisteriopsis* is particularly important for having medicinal active ingredients, including *B. caapi*, one of the components used in the production of Ayahuasca tea, whose ritual use is widespread throughout the world. The origin and original use of the tea is controversial and historical information about *B. caapi* brings elements that can support the discussion. In this research, the following hypotheses were tested: a) the ancestral area of *Banisteriopsis* and *B. caapi* was in the Amazon biome; b) the main dispersal route of *Banisteriopsis* species was from the Amazon to the Cerrado; c) the diversification of the genus was influenced by the expansion of savannas. The sampling used 19 sequences of *Banisteriopsis* from the phylogenetic study of Malpighiaceae, plus five new sequences produced and 14 species of genera close to *Banisteriopsis* for the outgroup. The plastid regions *matK*, *ndhF*, *rbcL* and the nuclear marker *PHYC* (Phytochrome C gene) were amplified and sequenced. The nuclear marker matrix (*PHYC*) had 847 characters and the plastid data matrix (*matK*, *ndhF* and *rbcL*) 3167 characters, resulting in 4,014 characters analysed. Divergence time analyses were performed using Bayesian inference with relaxed molecular clock and ancestral area reconstruction. Results show that *Banisteriopsis* originated in the Miocene around 20 million years ago and its diversification coincides with the expansion of dry areas in South America. *Banisteriopsis* started colonising the Cerrado in a period earlier than most plants and when the evolutionary history of the genus reveals that the Cerrado served as a source of species for neotropical rain forests such as the Amazon and the Atlantic Forest, ain verse pattern to the corded for most neotropical taxa. It is estimated that Ayahuasca has been used for 5,000 years by Indigenous groups in the Amazon basin. Thus, our results indicate a probable Amazonian origin of *B. caapi* and reinforce archaeologicall evidence of a millenary exchange of uses and knowledge about plants between Amazonian peoples.

Keywords: Ayahuasca, Biogeography, Malpighiales, Neotropics, Phylogeography.

## 1. Introduction

Malpighiaceae has a pantropical distribution with 77 genera and 1,315 species, with its greater diversity in the Neotropics (Davis and Anderson, 2010). This family probably had South America as an ancestral area 80 million years (Ma) ago in the Cretaceous period (Cai et al., 2016), at a time when the South American continent was already isolated from Africa and had its distribution expanded through several long-distance dispersal events (Anderson, 1979, 1990; Cameron et al., 2001; Davis et al., 2001, 2002; Davis and Chase, 2004). Davis and Anderson (2010) showed that Malpighiaceae reached the coast of West Africa through nine long-distance dispersions. This group of plants also reached North America through the Caribbean Basin and crossed the North Atlantic to Eurasia occupying tropical areas of the Old World in favourable paleoclimatic and palaeoecological conditions (Davis et al., 2002; Davis and Chase, 2004).

After the emergence of the oldest groups of Malpighiaceae in the Cretaceous (Cai et al., 2016), subsequent divergences occurred between the Paleocene (74.3 Ma) and the Eocene (52.1 Ma). Fiaschi et al. (2016) described that between the Paleocene and the Eocene there were large sclerophyllous rainforests, covering huge areas in South Laurasia and North America, which probably favoured the current disjunctions in the distribution of Malpighiaceae. Continental and volcanic islands scattered in the Caribbean Basin allowed for the dispersal of Malpighiaceae species, intensifying the biotic exchange between North and South America (Iturralde-Vinent and MacPhee, 1999; Davis et al., 2004). This was the case of the Stigmaphylloids clade, which includes genera that span the New and Old World (Davis and Anderson, 2010).

Stigmaphylloids diverged from the common ancestor in South America in the early Eocene around 49 MA, later colonising regions of Australia, Africa, North America and Southeast Asia (Cai et al., 2016). This great clade with a bout 300 species includes the following genera (Anderson, 2022): *Bronwenia* W. R. Anderson & C. Davis (10 espécies), *Diplopterys* A.Juss. (31), *Banisteriopsis* C.B. Rob. (61), *Stigmaphyllon* A. Juss. (119), *Sphedamnocarpus* Planch. ex Benth. & Hook.f. (10), *Philgamia* Baill. (4), *Mionandra* Griseb. (2), *Cordobia* Nied. (1), *Gallardoa* Hicken (1),

*Peixotoa* A. Juss. (29), *Janusia* A. Juss. ex Endl. (19), *Aspicarpa* Rich. (11), *Gaudichaudia* Kunth (20) and *Camarea* A.St.-Hil. (9) (Powo, 2022). Although 100% supported, the clades internal relationships are not fully resolved. It contains the Gaudichaudioid (99%), recognized as a tribe by Hutchinson and Jussieu (by reduced androecium and style number, distinct carpels, carpophore, dimorphic flowers and a tendency to herbaceous habit) and Cordobioid (100%) clades (Anderson and Davis, 2010).

*Banisteriopsis* part of Stigmaphylloids, the target group of this work. Gates (1982) detailed monographic treatment of this genus recognized three subgenera: *Banisteriopsis*, *Hemiramma* (Griseb.) B. Gates, and *Pleiopterys* (Nied.) B. Gates. In the subgenera, she listed species groups with similar morphology and difficult circumscription, without taxonomic connotation. *Banisteriopsis* in a broad sense (*sensu* Gates, 1982) is polyphyletic (Davis and Anderson, 2010). *Banisteriopsis* was reconfigured, excluding the species of subgenera *Pleiopterys* for *Diplopterys* A.Juss. and the *Hemmirana* for *Bronwenia* W.R. Anderson & C. Davis. The *Banisteriopsis*, *Bronwenia* and *Diplopterys* morphological circumscription is confusing. According to Anderson (2022) they have 10 fertile stamens, truncate or capitate terminal stigmas, and samaras with a dorsal wing (except the three species of *Diplopterys* in which that wing has been reduced or lost). The only key for distinction is in Anderson (2022). Under this delimitation, 61 neotropical species are recognized, distributed from Mexico to Argentina (Powo, 2022), with the Cerrado region being the richest, with 32 species (Francener and Almeida, 2020).

According to Gates (1982), the fact that *Banisteriopsis* is distributed exclusively in the New World and almost half of the species occur in the Cerrado, is probably related to the diversification of the genus in times of expansion of the savannas, during the Pleistocene. The phylogeny that included more *Banisteriopsis* species to the present has not tested the influence of savanna expansion on the evolutionary history of the genus, neither divergence time or biogeography (Davis and Anderson, 2010). Thus, the hypothesis of the expansion of savannas influencing the diversification of *Banisteriopsis* still needs to be answered considering the current knowledge of the evolutionary relationships of the genus.

The ancestral area of *Banisteriopsis* and the role of the transition of biomes in the evolutionary history of the genus remains unknown. Crisp et al. (2009) postulated that the transition of biomes was a rare event among neotropical plants. But the



biodiversity of the Neotropics includes a very significant number of biotic exchanges where the Amazon played the role as the main source of species for the other biomes in the region over the last 60 million years (Antonelli et al., 2018a). In this context, dispersal events from Amazon to South American savannas represent the second most frequent type of biotic exchange among neotropical plants (Antonelli et al., 2018a). Following this set of evidence, a possible explanation for the diversification and expansion of *Banisteriopsis* is that the genus would have had the Amazon Forest as an ancestral area colonizing the Cerrado later, having started its diversification in parallel with the expansion of dry areas in South America. But this hypothesis needs to be tested experimentally.

*Banisteriopsis* stands out for having medicinal species and is used ritually *B. caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton is the component most used in Ayahuasca tea, used in spiritual contexts by ancients (Frias et al., 2012; Santos et al., 2020) and by religious or therapeutic, artistic and ludic for many current cultures (De Assis and Rodrigues, 2017). Ritualistic use of Ayahuasca has proliferated in the last century, starting mainly from Brazil and Peru, and with consumer snow in almost all continents (Tupper, 2009).

The time of use and geographic origin of Ayahuasca is an intriguing subject. McKenna (1999) and Narby (1999) suggest that Ayahuasca has been consumed for millennia in South America, but without methodological arguments. Naranjo (1986, 1995) suggested that Ayahuasca had been consumed from 500 BC to 500 AC, based on pottery supposedly used in rituals. De Assis and Rodrigues (2017) comment that most religious groups in Brazil believe that the tea has been used since the Inca empire and that this connection to a remote past is a tool to legitimize the drink and those who use it, since the supposed traditional use linked to immemorial times gives credibility to society. According to the authors, this observation cannot so be extended to Indigenous peoples.

The arguments of Gow (1994), Brabec de Mori (2011), Brown (2012) and others bring new elements, inconsistent within ancestral origin of Ayahuasca. These authors show that there is a tendency to consider that the use of Ayahuasca is a relatively recent cultural practice, being credited to Mestizos (mixed race), the origin and diffusion of Ayahuasca along the rubber route in the western Amazon.

Although *Banisteriopsis* has its centre of diversity in the Cerrado of Central Brazil, *B. caapi* occurs in the North western Amazon (Brazil, Bolivia, Colombia,

Ecuador and Peru) extending from the Orinoco basin in Venezuela to the Pacific coast areas in Colombia and Panama (Schultes, 1977; Ott, 1996). Gates (1982) commented on the difficulty in knowing where *B. caapi* is native, since most herbarium records come from plants cultivated by native peoples. Gates (1982) also proposed that *B. caapi* has morphological affinities with species that occur in the Amazon and Atlantic Rainforest, which include *B. membranifolia* (A.Juss.) B.Gates and *B. schwannioides* (Griseb.) B.Gates. Due to its long period of cultivation in this extensive geographic area, it is difficult to accurately determine the region of origin of *B. caapi* (Gates, 1982; Oliveira et al., 2020), although the facts suggest a probable Amazon origin for *B. caapi*.

Gates (1982) argued that *Banisteriopsis* can be divided into several groups of closely related species, with all members of a group sharing the same flower and/or fruit characteristics. Each one of the 15 groups was named with one specific epithet within. Araújo et al. (2020) showed the taxonomic relevance of *Banisteriopsis* leaf anatomy and, as well as a phylogenetic reconstruction with morphology and molecular data (Davis and Anderson, 2010) corroborated part of the morphological groups recognized in *Banisteriopsis* by Gates (1982) as monophyletic, opening the possibility to recognize them as infrageneric ranks.

Hypotheses of taxonomic and biogeographic relationships still need to be tested in the context of the evolutionary history of *Banisteriopsis*. The objective of this work is to recover the biogeographic history of the genus and insights about the taxonomic relationships in the Gates (1982) species morphological groups, the time of emergence and the geographical origin of *B. caapi*, which adds elements to the discussion of the origin of Ayahuasca due to the socio-cultural relevance of this species to the peoples from South America. In this sense, we tested the following hypotheses: a) the ancestral area of *Banisteriopsis* and *B. caapi* was the Amazon biome; b) the main dispersal route of the species of the genus was from the Amazon to the Cerrado; c) the diversification of the genus was influenced by the expansion of savannas.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plant material

Twenty-four *Banisteriopsis* species were sampled, nineteen from the phylogenetic study of the Malpighiaceae family (Davis and Anderson, 2010). *Banisteriopsis campestris* (A. Juss.) Little, *B. irwinii* B. Gates, *B. membranifolia*, *B.*

*oxyclada* (A. Juss.) B. Gates and *B. veroniifolia* (A. Juss.) B. Gates, plus five new species sequenced were in our study (Table 1; Fig. 1).

For the external groups, two species of each genus known to be phylogenetically close to *Banisteriopsis* were selected, being *Diplopterys cabrerana* (Cuatrec.) B. Gates, *D. hypericifolia* (Adr. Juss.) W. R. Anderson & C. Davis, *Janusia anisandra* (A. Juss.) Griseb, *J. hexandra* (Vell.) W.R. Anderson, *Peixotoa cordistipula* A. Juss., *P. glabra* A. Juss., *Philgamia glabrifolia* Arènes, *P. hibbertioides* Baill., *Sphedamnocarpus angolensis* Planch. ex Oliv., *S. poissonii* Arènes, *Stigmaphyllon aberrant* C.E. Anderson and *S. ciliatum* (Lam.) Adr.Juss., based on the *Stygmaphylloid* clade, totaling 14 species (Table 1).

The nuclear marker *PHYC* and the plastid markers *matK*, *ndhF* and *rbcL* were used in our investigation. The sequences from Davis and Anderson (2010) were obtained from GenBank (Benson et al., 2013).

## 2.2. Molecular procedures

DNA extractions and PCR off rash samples were extracted using the protocol adapted for microtubes by Doyle and Doyle (1987) and, when using herbarium samples, we used the QuiaGen Mini Kit. Extracted DNA was evaluated by means of electrophoresis in 1% agarose gel.

The plastid regions *matK* and *ndhF*, and the nuclear marker *PHYC* (Phytochrome C gene) were amplified and sequenced using the same primers used by Davis and Anderson, 2010, with the exception of the *PHYC* region, which was not cloned. The amplification of the plastid and nuclear regions was carried out through a PCR reaction with Top Taq Master Mix Kit (Qiagen) following the manufacturer's recommendations, in a final volume of 15.4  $\mu$ L, containing 0.2  $\mu$ M of each primer and 25 ng of DNA template.

PCR products were purified using the method of DNA precipitation with polyethyleneglycol - PEG 11% (Paithankarn and Prasad, 1991) and resuspended in autoclaved Milli-Q water. The sequencing reactions were performed on the sequencing platform of the Instituto Gonçalo Muniz, from the Oswaldo Cruz Foundation – FIOCRUZ, in Salvador, Bahia (BA). Where complete sequencing was performed - BigDye Terminator V3.1, including precipitation with ethanol/EDTA, denaturation with Formamide and reading on the equipment (capillary electrophoresis).

Table1. Taxons included with collector, number and herbarium acronym and the marker sequences *rbcL*, *matK*, *ndhF* and *PHYC* in Genbank. \* New sequences obtained from this study.

<b>Taxon</b>	<b>Collector number, herbarium acronym</b>	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>	<i>ndhF</i>	<i>PHYC</i>
<i>Banisteriopsis acerosa</i> (Nied.) B. Gates	Guala 1370 (MICH)	-	HQ24719 7	-	HQ24696 5
<i>B. adenopoda</i> (Adr.Juss.) B. Gates	Silva 1109 (MICH)	HQ24743 8	-	HQ246750	HQ24696 6
<i>B. angustifolia</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Carvalho 80 (MICH)	-	HQ24719 8	HQ246751	HQ24696 7
<i>B. argyrophylla</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Sebastiani ; Moreno 87 (SP) Silva 3548(MICH) H)	KR09300 6	HQ24675 2	HQ247199	HQ24696 8
<i>B. caapi</i> (Spruce ex Griseb.) Morton	Anderson 13791 (MICH)	HQ24744 0	HQ24675 3	HQ247200	HQ24696 9
<i>B. calcicola</i> B. Gates	Lombardi 1690 (MICH)	-	HQ24720 1	HQ246754	HQ24697 0
* <i>B. campestris</i> (A. Juss.) Little	Lima 10 (UB)	-	-	-	-
<i>B. confusa</i> B. Gates	Krapovickas; Cristóbal 44854 (MICH)	-	HQ24675 5	HQ247202	HQ24697 1
<i>B. gardneriana</i> (Adr. Juss.) W.R. Anderson & B. Gates	Azevedo; Lopes 313 (MICH)	-	HQ24720 3	-	HQ24697 2
<i>B. harleyi</i> B. Gates	Conceição 1713 (HUEFS) Carvalho 87 (MICH)	-	HQ24720 4	HQ24675 6	-
* <i>B. irwinii</i> B. Gates	Kirbride 3134 (UB)	-	-	ON10923 3	-

<i>B. laevifolia</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Francener; Hall; Koch 1359 (SP) Anderson 13631 (MICH)	HQ24744 1	HQ24675 6	HQ24720 4	-
<i>B. latifolia</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Azevedo 698 (MICH)	-	HQ24675 8	HQ24720 6	HQ24697 5
<i>B. martiniana</i> (Adr. Juss.) Cuatrec.	Chase 90161 (MICH)	HQ24744 2	HQ24675 9	HQ24675 9	HQ24744 2
* <i>B. membranifolia</i> (A. Juss.) B. Gates	Kirbride4832 (UB)	-	-	ON10923 4	-
<i>B. muricata</i> (Cav.) Cuatrec.	Anderson 13799 (MICH)	HQ24744 3	HQ24720 8	HQ24676 0	HQ24697 7
<i>B. nummifera</i> (A. Juss.) B. Gates	Harley 54681 (MICH)	HQ24744 4	HQ24676 1	HQ24720 91	HQ24697 8
* <i>B. oxyclada</i> (A. Juss.) B. Gates	Oliveira 3827 (UB)	-	-	-	-
<i>B. paraguariensis</i> B. Gates	Ferrucci 1624 (MICH)	-	HQ24676 2	HQ24721 0	-
<i>B. prancei</i> B. Gates	Anderson 9910 (MICH)	-	-	-	HQ24698 0
<i>B. pulchra</i> B. Gates	Dubs 2258 (MICH)	-	HQ24721 1	HQ24676 3	HQ24697 1
<i>B. schwannioides</i> (Griseb.) B. Gates	Mori 21590 (MICH)	HQ24744 5	HQ24721 2	HQ24676 4	HQ24698 2
<i>B. sellowiana</i> (Adr. Juss.) B. Gates	Menendro 278 (MICH)	-	-	HQ24676 5	HQ24698 3
* <i>B. vernoniifolia</i> (A. Juss.) B. Gates.	Filgueira 1395 (UB)	-	-	ON10923 5	-
<i>Bronwenia cinerascens</i> (Benth.) W.R. Anderson & C. Davis	Nee 48570 (MICH)	HQ24745 0	HQ24721 6	HQ24676 9	HQ24698 7
<i>B. ferruginea</i> (Cav.) W. R. Anderson & C. Davis	Amorim et al. 3222 (MICH)	HQ24745 2	HQ24721 8	HQ24677 1	HQ24698 9
<i>Diplopterys cabrerana</i> (Cuatrec.) B. Gates	Dillon & Teillier 5103 (MICH)	AF34446 9	AF34454 2	AF35106 9	AF50057 0
<i>D. hypericifolia</i> (Adr. Juss.) W. R. Anderson & C. Davis	Anderson 13638 (MICH)	AF34446 0	AF34453 0	AF35103 7	-
<i>Janusia anisandra</i> (A. Juss.) Griseb	Anderson 13694 (MICH)	AF34448 5	AF34455 3	AF35102 8	-

<i>J. hexandra</i> (Vell.) W.R. Anderson	Thomas et al. 11423a (MICH)	HQ24753 2	HQ24732 2	HQ24686 2	-
<i>Peixotoa cordistipula</i> A. Juss.	Gerlach et al. 26/01 (MICH)	HQ24756 7	HQ24737 0	HQ24690 7	-
<i>P. glabra</i> A. Juss.	Anderson 13636 (MICH)	AF34450 4	AF34457 1	AF35103 6	-
<i>Philgamia glabrifolia</i> Arènes	Schatz et al. 4098(P)	HQ24756 8	HQ24737 4	HQ24691 0	-
<i>P. hibbertioides</i> Baill.	Du Puy et al. M635 (P)	HQ24756 9	HQ24737 5	HQ24691 1	-
<i>Sphedamnocarpus</i> <i>angolensis</i> Planch. ex Oliv.	Brummitt; Pope 19597 (MICH)	HQ24757 6	HQ24738 1	HQ24691 6	-
<i>S. poissonii</i> Arènes	Dorr 3959 (P)	HQ24757 7	HQ24738 2	HQ24691 7	-
<i>Stigmaphyllon aberrans</i> C.E. Anderson	Rojas et al. 2347(MICH)	HQ24758 1	HQ24738 7	HQ24691 9	-
<i>S. ciliatum</i> (Lam.) Adr.Juss.	Anderson 13739 (MICH)	HQ24758 4	HQ24739 0	HQ24692	-

The generated electropherograms on capillary sequencing platform (SANGER) in ABI format, were analyzed and manually edited in the BIOEDIT program (Hall, 1999). The initial and final portions of each sequence were eliminated to avoid artifacts close to the annealing region of the primers. Alignment of sequence arrays was performed in the Mega version X (Kumar et al., 2018) and PHYDE v.0.9971 (Müller et al., 2006) programs, using MUSCLE (Edgar, 2004) plugin with subsequent manual adjustments, see Supplementary data 1. Six new DNA sequences were generated, where all five new species were sequenced for *ndhF* region and *B. campestris* for *PHYC*, *matK* and *rbcL* regions presented problems in PCR and it was not possible to produce quality sequences. From the *ndhF* region 691 - 703 base pairs were obtained and for the *PHYC* 847 base pairs.

To select the best model of DNA substitution for each individual marker in the combined dataset, we used jModelTest v.2.1.6 (Darriba et al., 2012) performed on the CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2010), in which GTR-gamma was the best model for the markers *PHYC* and *rbcL*, GTR-invgamma for *ndhF*, and GTR-propinv for *matK*.



Figure 1. Some *Banisteriopsis* species sampled in this study. (a) *B. muricata*; (b) *B. argyrophylla*; (c) *B. gardneriana*; (d) *B. oxyclada*; (e) *B. caapi*. Photo by R.C. Oliveira.

### 2.3. Divergence time

Divergence times analysis was performed on the CIPRES Science Gateway platform, using the BEAST on XSEDE program (v1.10.4) (Suchard et al., 2018). The dataset was partitioned by gene, and for each the corresponding replacement model was applied. To determine the divergence time of the Stigmaphylloid clade, fossil pollen

from *Perisyncolporites pokornyi* Germeraad, Hopping and Muller, 1968 in crown node of the clade, with the date 49 MA, was used (following Cai et al., 2016). This analysis used an uncorrelated relaxed clock with a lognormal distribution of rates, and a birth–death speciation model (Gernhard, 2008), considering a standard deviation of 0.5 and a mean of 1.5, following the pattern of Cai et al. (2016). The Markov Monte Carlo Chain (MCMC) was run twice for 150 million generation search, with parameters sample every 10,000 generations. The results of the individual runs were combined into LogCombiner v1.10.4 (Drummond and Rambaut, 2007), in which 10% of the burnin was removed from the analysis. The maximum clade credibility tree with a posterior probability limit of 0.95 was produced using the Tree Annotator v1.10.4 program, see Supplementary data 1 (Drummond and Rambaut, 2007).

#### 2.4. Biogeographic analysis

*Banisteriopsis* encompasses 61 species that occur in South America (56 species) and Central America (5 spp). Most of *Banisteriopsis* species occur in Brazil (48), where the Cerrado is the center of diversity of the genus with 32 species, followed by Atlantic Forest with 14 species and Amazon with 13 species (Francener and Almeida, 2020). Our sampling represents all these major areas of diversification and geographical distributions of *Banisteriopsis* (Cerrado, Atlantic Forest and Amazon). We used literature surveys, data collected in fieldwork, in herbaria and in online data bases to define the geographical ranges of the studied species. Biogeographical areas were defined according to Antonelli et al. (2018b) with adaptations to coding Caribbean and Central America species, classified here as one unity. Thus biogeographical areas used in our analyses are A – Andes (Andes), B – Amazon Basin (Amazon), C – Cerrado (including the rest of the dry diagonal), D – East Coast (Atlantic Forest), E – Central America, see Supplementary data 2.

We carried out ancestral range reconstruction analyses testing the fit of DEC, DIVALIKE and BAYAREALIKE to our data in the RASP v.4 software through the BioGeoBEARS v0.2.1 package in R, see supplementary data 2 (Yu et al., 2020). We used 10,000 trees generated from the combination of each of the four Markov Chains used to estimate divergence times. We randomly selected 1,000 from the 10,000 available trees to calculate the mean frequency of ancestral geographic range. For each analysis, we ran two independent chains for 10,000,000 generations, sampling every 1,000 generations. Akaike weights were calculated to alternative models using the



function implemented in RASP v.4. To select the best model explaining the ancestral range of *Banisteriopsis*, we used the highest value of AICw (see supplementary date 2).

For this analysis, we applied different scenarios: the first one with out constraints to dispersal and the second one using a transition matrix. To increase the potential of comparison four work, we defined the probabilities of transition between biogeographic regions according to the suggestion of Thode et al. (2019). However, limitations in our sampling hampered the augmentation of time slices in this type of analysis. Thus, we tested only one scenario of constraints in dispersal, which corresponds to the 13 Ma to present in the Thode et al. (2019) analysis. In this scenario, we applied intermediate values of probability of connectivity in which the highest connectivity represented 0.75 and the lowest connectivity represented 0.25. Finally, we calculated the dispersal rates and vicariance events through time in RASP and the rate of lineages through time in packageape 5.0 (Paradis and Schliep, 2019).

### 3. Results

#### 3.1. Phylogeny

The nuclear marker matrix (*PHYC*) had 847 characters and the plastid data matrix (*matK*, *ndhF* and *rbcL*) 3167 characters, resulting in 4,014 characters analysed.

From the total of *Banisteriopsis* species analysed: one came from the Andes; nine from the Amazon Basin; nineteen from the Cerrado and five from the East Coast (Atlantic Forest), in addition to representing nine morphological groups, including 75% of the total, as 3 groups were transferred to *Diplopterys*, out of the fifteen proposed by Gates (1982). Unfortunately samples of species from the distribution limits, in Mexico and Argentina were not included.

We increased in group sampling, and Bootstrap support was greater than 100 or greater than 0.99 for all clades (Fig. 2). *Banisteriopsis s.s.* was confirmed as a monophyletic genus with high statistical support in our analyzes (pp = 1, Fig. 2) and the position of *Diplopterys* and *Bronwenia* also agree with Davis and Anderson (2010).

#### 3.2. Reconstruction of the ancestral area and time of divergence

Divergence time analysis showed that the ancestor of *Banisteriopsis* species appeared about 20.82 Ma (95%HPD 13.72-31.08 Ma) (Fig. 2). A second divergence event occurred 18.84 Ma (95%HPD 10.60-29.27 Ma) promoting the diversification that originated the grouping of *B. prancei*, *B. martiniana*, *B. gardneriana*, *B. sellowiana* and

*B. nummifera* (clades B4 and B5). The rest of the species in the genus diverged from the common ancestor around 15.75 Ma (95% HPD 10.10-24.95 Ma). After the main divergences, the group of species *B. muricata*, *B. oxyclada*, *B. irwinni*, *B. angustifolia* and *B. calcicola* (clade B2), have the oldest common ancestor (11.71 Ma, 95%HPD 5.84-19.54 Ma) and *B. laevifolia* is positioned as the oldest species of the genus, as it established itself soon after the initial divergences (11.64 Ma, 95%HPD 6.06-19.12 Ma). *Banisteriopsis gardneriana* and *B. sellowiana* diverged more recently (0.52 Ma, 95% HPD 0.42 Ma). Most *Banisteriopsis* lineages diverged around 3 Ma, at the end of the Miocene or early Pliocene.

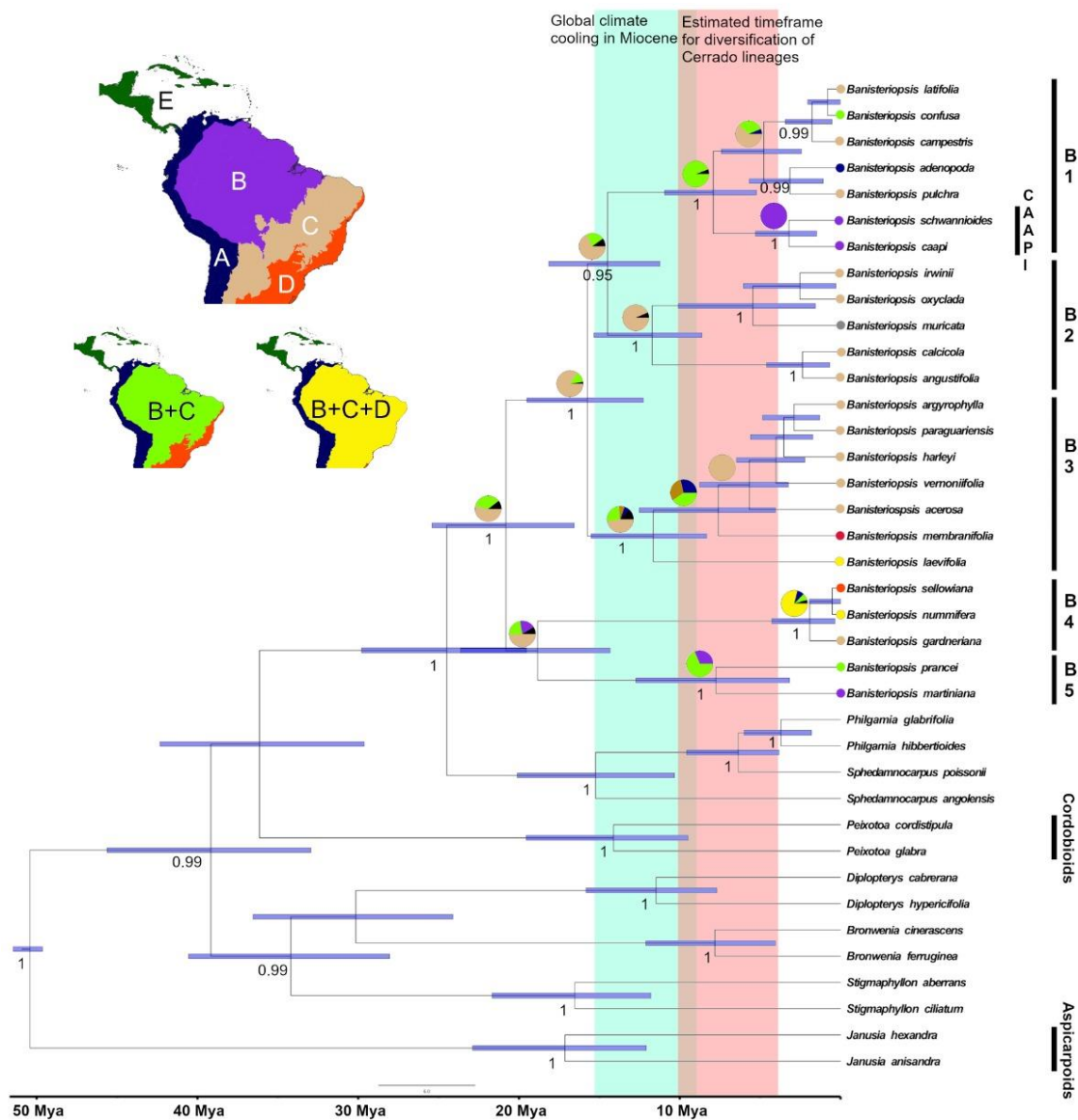


Figure 2. BEAST chronogram of Bayesian analysis of time divergence (Mya) of Stigmaphylloids and ancestral range reconstruction of *Banisteriopsis*. Including 24

species of this genus, 14 closely related species representing the outgroup. Blue bars represent 95% confidence intervals for age of clades. Numbers above the branches are posterior probabilities of clades. Pie charts show posterior probability of ancestral ranges. Plot colors in tips and in the pie charts are coded according to inset maps that indicate possible and actual geographical ranges, except for *B. membranifolia* (BD) and *B. muricata* (ABCE) which are not presented in inset maps. Geographical range categories A= Andes; B =Amazon Basin; C = Cerrado (plus dry areas of South America), D = East Coast (Atlantic Forest), and E = Central America and Caribe.

Unconstrained models show superior statistical support than constrained model (Supplementary data 2). The best model selected and discussed below were the DEC-unconstrained (LnL = -76.99, AICc = 158.3, AICw = 0.94). This model recovered the Cerrado as a likely ancestral range of the genus. However, the level of uncertainty does not allow us to define with precision the ancestral range of the MRCA of *Banisteriopsis*. For the second event of divergence, the Cerrado is indicated as the ancestral range of most of *Banisteriopsis* with 70% of probability. Amazon Basin was recovered as the likely ancestral area of the clade formed by *B. caapi* and *B. schwannioides*, and these two species diverged about 3.2 MA, in the middle of the Pliocene (HPD 95% 0.72-7.77 Ma).

Dispersion cycles presented peaks around 18 Ma, 12 Ma, 6 Ma and 2 Ma, while the vicariance events concentrated around 7 Ma in the Pliocene (Fig. 3). Vicariance events are associated with an increase in the number of lineages in the evolutionary history of *Banisteriopsis* (Fig. 3). Dispersal events were identified for other biomes such as the Atlantic Forest (*B. adenopoda* and *B. sellowiana*); for Amazonian and Atlantic Forests (*B. nummifera*, *B. muricata* and *B. membranifolia*); for the Amazon (*B. schwannioides*, *B. caapi*, *B. confusa*, *B. prance* and *B. martiniana*); and to the Andes and Amazon (*B. laevifolia*). Reconstruction analysis registered that most of these dispersal events occurred from Cerrado areas to the Amazon Basin, while the speciation process was greater in the Cerrado (Supplementary data 2). Our results demonstrate several colonization events in biomes adjacent to the Cerrado, such as the Amazon and Atlantic Forest.

#### 4. Discussion

The results obtained in this study confirmed that the diversification of

*Banisteriopsis* began to occur simultaneously with the expansion of seasonally dry areas in South America. However, *Banisteriopsis* started colonizing the Cerrado in an earlier period, as well as the evolutionary history of the genus reveals that the Cerrado served as a source of species for neotropical rainforests such as the Amazon and the Atlantic Forest, an inverse pattern to that recorded for the majority of neotropical plants (Almeida and Van den Berg, 2020). Several biome transition events have been recorded throughout the evolutionary history of the genus and many of them are associated with speciation events.

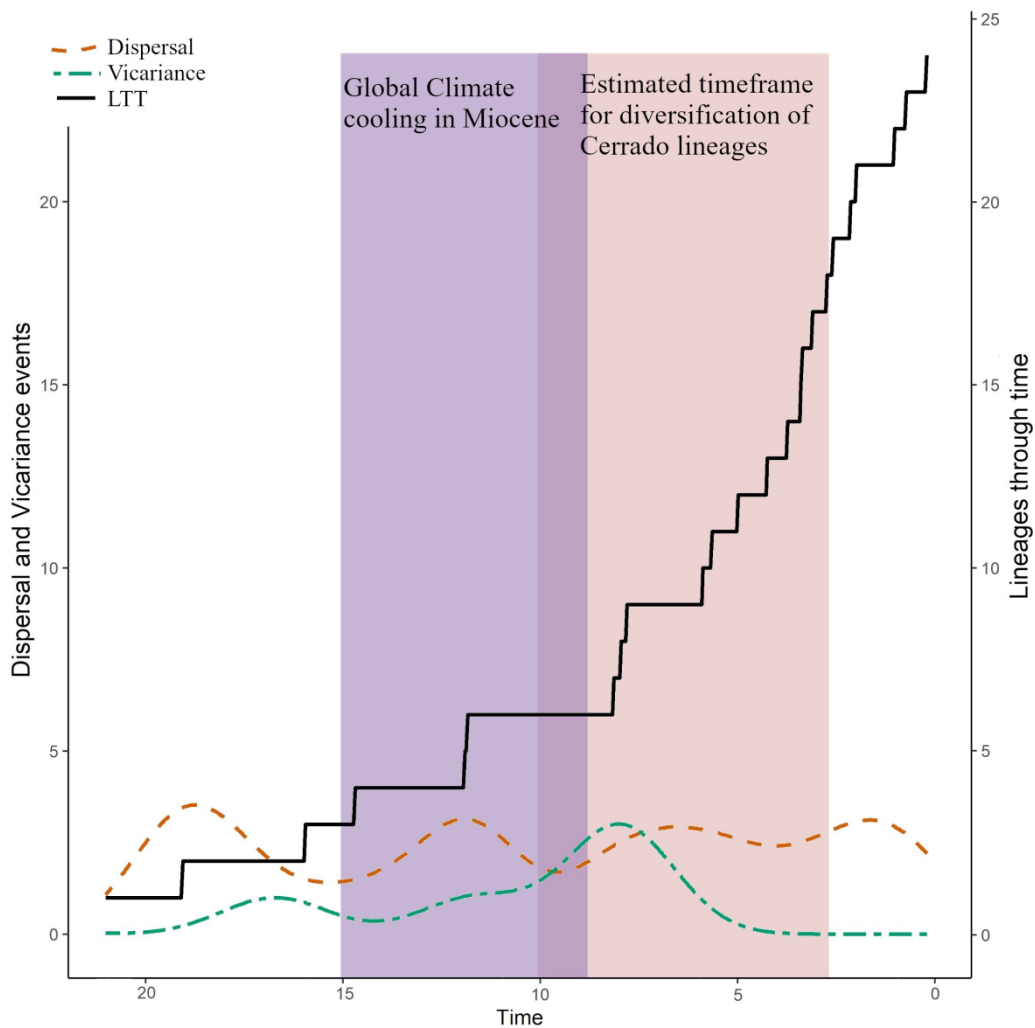


Figure 3. Rates of vicariance and dispersal events, and lineage through time plot (LTT) along the evolutionary history of *Banisteriopsis*.

#### 4.1. Taxonomic and morphological relationships in *Banisteriopsis*

The topology of the tree generated by Bayesian Inference (Fig. 2) differed in relation to the position of some branches of the phylogenetic hypothesis by Davis and Anderson (2010), but there were no significant inconsistencies in the relationships

between the taxa. An example is the clade formed by *B. argyrophylla* which in this study is a brother of *B. paraguariensis*, and in the phylogeny of Malpighiaceae it is close to *B. harleyi*. Furthermore, it was possible to make a partial correlation between the species sampled in this study with the species analysed by Gates (1982), proving some relationships established morphologically. Some of these morphological groups of Gates (1982) are also supported by anatomical evidence and were already clear in previous phylogenetic analyses and in this present study (Davis and Anderson, 2010; Araújo et al., 2020).

The morphological group *B. nummifera* (A. Juss.) B. Gates (*B. nummifera*, *B. sellowiana* (Griseb.) B. Gates, *B. gardneriana* (Adr. Juss.) – clade B4) W.R.), was partially recovered in a clade as monophyletic, with high statistical support (pp = 1, Fig. 2). While the group *B. argyrophylla* (Adr. Juss.) B. Gates (*B. argyrophylla*, *B. paraguariensis* B. Gates, *B. harleyi* B. Gates and *B. veroniifolia* (A. Juss.) B. Gates – clade B3), is in a group with low support (pp = 0.61).

The clade formed by *B. nummifera*, *B. sellowiana* and *B. gardneriana* (clade B4) are morphologically supported by having yellow flowers, unistratified adaxial epidermis and dorsiventral mesophyll (Araújo et al., 2020).

On the other hand, our results also suggest evidence of geographic conservatism in the evolutionary history of *Banisteriopsis*. The fact that *B. prancei* and *B. martiniana* form a clade (clade B5) is probably due to the sympatry of the species in Amazonia, since their morphology and anatomy have not previously suggested a relationship between them (Gates, 1982).

In another case, the clade formed by *B. argyrophylla*, *B. paraguariensis*, *B. harleyi* and *B. veroniifolia*, grouped by Gates (1982) because they shared one to several pairs of leaf glands abaxially on the lateral veins; leaves adaxially densely white-tomentose-sericeous; sepals rounded at the apex and appressed in bud; calyx glands green or brown; petals long-fimbriate, the claw of the fifth petal not constricted; filaments short (up to 2.6 mm), thick, subequal; anthers subequal, locules pilose, the connectives oblong, not glandular; styles diverging, flattened laterally and flaring distally, the anterior style thicker, 0.8-1.0(-1.4) mm in diameter; fruit nut velutinous. In addition to showing morphological affinities and sharing similar environmental conditions with many xeric features (Gates, 1982), its relationships have now been ratified with phylogenetic evidence.

The clade constituted by the species *B. prancei* B. Gates and *B. nummifera*, is

close to the clade of *B. caapi* and *B. schwannioides* (Griseb.) B. Gates (clade *B. caapi*), all forming monophyletic groups with good statistical support (pp = 1), in addition to all occurring in an Amazonian environment. Furthermore, the *B. caapi* clade emerged as a sister group to the clade represented by *B. campestris* (A. Juss.) Little, *B. latifolia* B. Gates and *B. confusa* (Adr. Juss.) B. Gates (clade B1), the latter species are related to *B. caapi*.

On the other hand, our results provide evidence that some informal groups are not monophyletic. Like *B. campestris* that emerged as a sister species to the low support species group (pp = 0.62) consisting of *B. latifolia* and *B. confusa*, not being related to *B. angustifolia* (Adr. Juss.) B. Gates. As well as *B. membranifolia* (A. Juss.) B. Gates emerging as a sister species of another group, and not of the morphological group *B. pulchra* B. Gates and *B. adenopoda* (Adr. Juss.) B. Gates. *Banisteriopsis oxyclada* formed a clade with high support (pp = 0.93) with *B. irwinii*, both occurring in the Cerrado, and *B. muricata*, the most widely distributed species in the genus which was related to the same morphological group, emerging as a sister species of that clade.

#### 4.2. Origin of the genus *Banisteriopsis* (clade *Stigmaphyllum sensu Davis and Anderson, 2010*) and biome transition

*Banisteriopsis* probably originated in the early Miocene around 21 Ma and its diversification began to intensify around 18 Ma in the Cerrado. This period coincides with the expansion of seasonally dry areas in the diagonal of open formations in South America, in addition to the formation of the Atacama Desert (Fiaschi et al., 2016). At approximately 15 Ma after the Mid-Miocene climatic optimum, a period of drastic reduction in global temperatures led to the expansion of dry areas in South America (Antonelli et al., 2010). Expansion of dry areas in South America has been intensified by the orogenic activity of the Andes Mountain range in the Oligocene-Miocene transition which resulted in the formation of a climatic barrier (Simon et al., 2009; Antonelli et al., 2010; Zanella, 2011; Fiaschi et al., 2016). Thus, the evidence presented here suggests that the expansion of dry areas in South America resulting from Miocene climatic cooling and Andes an orogeny coincides with the period of origin and diversification of *Banisteriopsis*.

Our results demonstrate that *Banisteriopsis* probably colonized the Cerrado earlier than what has already been recorded for other groups of plants, such as *Andira* Lam., *Mimosa* L. and *Chamaechrista* that diversified less than 10 Ma (Simon et al.,

2009; Simon and Pennington, 2012; Mendes et al., 2020). It has been stipulated that the Cerrado biota would be the result of processes of fire adaptation, rather than the dispersion of lineages already adapted to fire (Simon et al., 2009). This age would place the main events forming Cerrado biodiversity around 8-10 Ma (Simon et al., 2009; Simon and Pennington, 2012).

Therefore, the evolutionary history of *Banisteriopsis* imposes the need to revise the current theory that the formation of the Cerrado biota is the result of recent colonization and diversification processes (Simon et al., 2009). However, *Banisteriopsis* is not the only group that exemplifies an older age for Cerrado colonization than predicted in the most current model. For example, Almeida and Van den Berg (2020) recovered a Cerrado colonization event around 15 Ma for *Stigmaphyllon*. Gagnon et al. (2019) uncovered a long-history of niche conservatism in the Succulent Biomes of South America, although they highlighted that the dynamic exemplified by *Cenostigma Tul.* reinforces the recent assembly of the Cerrado.

The evolutionary history of *Banisteriopsis* illustrates several examples of biome transition. In the absolute majority of cases, species of the genus colonized biomes adjacent to the Cerrado, such as the Amazon and Atlantic Forest. This is an inverse process to that recorded for neotropical plants, where the Amazon Forest acted as the main source of biodiversity for the colonization of other biomes (Antonelli et al., 2018b).

Cerrado occupies the central region of Brazil, covering an area of about 2,000,000 km<sup>2</sup>, with an extensive contact area between the two tropical humid rainforests (Simon et al., 2009). It is considered a Biodiversity hotspot, covering about three of the largest hydrographic basins in South America, having an enormous importance for the conservation of species and provision of ecosystem services (Strassburg et al., 2017). During the climate change cycles experienced in the last 10 Ma, the Gallery Forests – one of the physiognomic types found in the Cerrado – expanded allowing the establishment of two biological corridors between the Cerrado and the Humid Forests of South America: in the northwest the contact is with the Amazon region and in the east and southeast with the Atlantic-Paranaense Forest (Oliveira-Filho and Ratter, 1995; Machado et al., 2004). These paleo environmental dynamics and the large contact zone must have been the causes of the most intense biotic exchanges between adjacent biomes and the ancestral area of the genus, according to the results obtained in our work.

#### 4.4. Amazonian origin of *B. caapi*

Our results confirm the hypothesis proposed by Gates (1982) that *B. caapi* and *B. schwannioides* are morphologically related and would form a natural group. The clade constituted by *B. caapi* and *B. schwannioides* diverged in the middle Pliocene around 3.2 Ma, originating and diversifying exclusively in the Amazon Basin. Over time, several forces acted on the Amazonian neotropical biodiversity, including the uplifting of the Andes. One of the consequences of the Andean uplift was the emergence and drainage of the Pebas system in western Amazon, a river system of lakes and swamps interspersed with mountains (Antonelli et al., 2009; Antonelli and Sanmartin, 2011). The drainage of the Pebas system implied in-situ diversification of lineages that adapted to dry land and facilitated the dispersal of Andean taxa in most of the region (Antonelli et al., 2009; Antonelli and Sanmartin, 2011). This dynamic must have enabled the adaptation of the common ancestor of the clade where *B. caapi* is found, which transitioned from the Cerrado and diversified into a dry forest environment.

*Banisteriopsis caapi* has the  $\beta$ -carbolines harmine, harmaline and tetrahydroharmine (Ruffell et al., 2020), which are not psychoactive. Harmine presence in an artefact and hair of two mummies that inhabited the Andes in Bolivia and Chile, respectively, was related to *B. caapi*, due to the recognized regional cultural use of this species (Ogalde et al., 2009, 2010; Miller et al., 2019). However, recent use of Ayahuasca is not a unanimously accepted hypothesis, with some authors defending an ancestral origin of tea, in the Andes (Varella, 2005) or in Ecuador (Naranjo, 1995; Zuluaga, 2002).

*Banisteriopsis caapi* was first documented by Spruce, between 1852-1853, from a specimen cultivated by Indigenous people in the state of Amazonas, Brazil, close to the border with Colombia (Oliveira et al., 2020). Spruce (1908) commented on *B. caapi* cultivation in several geographically distant places in the Amazon. Schultes (1957) published a map with the historical distribution of Ayahuasca, documenting tea consumption by 33 ethnic groups in the north-western Amazon. Luz (2019) studied the genetic variability of 120 samples from 9 populations of *B. caapi*, supposedly native to the Brazilian Amazon. She demonstrated that *B. caapi* populations have very low genetic variability and diverse geographic lineages.

In general terms, our study adds new elements to understand the evolution of *Banisteriopsis* and the history of neotropical biodiversity. Some informal groupings of



species proved to be monophyletic, but for definitive conclusions about taxonomic relationships in *Banisteriopsis*, a more representative sampling of the species of the genus will be necessary. We present evidence to suggest that the Cerrado may have been colonized much longer than is established in the literature and that it may have served as a source of biodiversity for South American rainforests. The role of species transitions between biomes have contributed to making up the impressive neotropical biodiversity. The main transition of biomes recorded in *Banisteriopsis* provides evidence that one of the most emblematic and important species for traditional peoples and South American religious practices emerged in the Amazon after a secondary dispersal event from the Cerrado.

### Acknowledgements

Thanks to “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” (CAPES) for the doctoral scholarship granted to the first author and the postdoctoral scholarship granted to the second author (Proc. 88882.315044/2019-01). To CNPq for the last author's research productivity scholarship (Proc. 302213/2019-8) and to “Fundação de Pesquisa do Distrito Federal” (FAPDF) (grant number 0193000881, 2015 and 0193001773, 2017), for financial assistance.

### References

- Almeida, R.F., Van den Berg, C., 2020. Biogeography of *Stigmaphyllon* (Malpighiaceae) and a meta-analysis of vascular plant lineages diversified in the Brazilian Atlantic Rainforests point to the Late Eocene origins of this megadiverse biome. *Plants* 9, 1569. <https://doi.org/1569.10.3390/plants9111569>
- Anderson, W.R., 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11, 219–223. <https://doi.org/10.2307/2388042>
- Anderson, W.R., 1990. The origin of the Malpighiaceae: The evidence from morphology. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 64, 210–224.
- Anderson, W.R., 2022. Key to *Banisteriopsis*, *Bronwenia*, and *Diplopterys*. <https://webapps.lsa.umich.edu/herb/malpigh/Keys/BBDkey.html> (accessed 10 March 2022).
- Antonelli, A., Nylander, J.A., Persson, C., Sanmartín, I., 2009. Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences 105, 9749-9754. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811421106>
- Antonelli, A., Verola, C.F., Parisod, C., Gustafsson, A.L.S., 2010. Climate cooling promoted the expansion of a threatened group of South American orchids (Epidendroideae: Laeliinae). *Biological Journal of the Linnean Society* 100, 597-607. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2010.01438.x>
- Antonelli, A., Sanmartín, I., 2011. Why are there so many plant species in the Neotropics?. *Taxon* 60, 403-414. <https://doi.org/10.1002/tax.602010>
- Antonelli, A., Zizka, A., Antunes, C.F., Scharn, R., Bacon, C.D., Silvestro, D., Condamine, F.L., 2018a. Amazonia is the primary source of Neotropical biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115, 6034–6039. <https://doi.org/10.1073/pnas.1713819115>.
- Antonelli, A., Ariza, M., Albert, J., Andermann, T., Azevedo, J., Bacon, C., Edwards, S. V., 2018b. Conceptual and empirical advances in Neotropical biodiversity research. *PeerJ*. 6, e5644. <https://doi.org/10.7717/peerj.5644>
- Araújo, J.S., Almeida, R.F.D., Meira, R.M.S.A., 2020. Taxonomic relevance of leaf anatomy in *Banisteriopsis* CB Rob. (Malpighiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 34,214-228. <https://doi.org/10.1590/0102-33062019abb0276>
- Benson, D.A., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J., Sayers, E.W., 2013. GenBank. *Nucleic acids research*, 43(Database issue), D30.
- Brabec de Mori, B., 2011. Tracing hallucinations. Contributing to a critical ethnohistory of Ayahuasca usage in the Peruvian Amazon, in: Labate, B.C., Jungaberle, H. (Eds.), *The Internationalization of Ayahuasca*. LIT-Verlag, pp. 23-47.
- Brown, E.L., 2012. Investigating the use of coca and other psychoactive plants in Pre-Columbian mummies from Chile and Peru. An analytical investigation into the feasibility of testing ancient hair for drug compounds [Doctoral dissertation, University of Bradford]. West Yorkshire, UK. Bradford Scholars Repository. <http://hdl.handle.net/10454/5785>
- Cai, L., Zhenxiang, X., Peterson, K., Rushworth, C., Beaulieu, J., Davis, C.C., 2016. Phylogeny of Elatinaceae and the tropical Gondwanan origin of the Centroplacaceae (Malpighiaceae, Elatinaceae) Clade. *PloS One* 9, 1-21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161881>
- Cameron, K.M., Chase, M.W., Anderson, W.R., Hills, H.G., 2001. Molecular systematics of Malpighiaceae: Evidence from plastid *rbcL* and *matK* sequences. *American Journal of Botany* 88, 1847–1862. <https://doi.org/10.2307/3558361>

- Crisp, M.D., Arroyo, M.T.K., Cook, L.G., Gandolfo, M.A., Jordan, G.J., McGlone, M. S., Weston, P.H., Westoby, M., Wilf, P., Linder, P., 2009. Phylogenetic biome conservatism on a global scale. *Nature* 458, 754–756. <https://doi.org/10.1038/nature07764>
- Davis, C.C., Anderson, W.R., Donoghue, M.J. 2001. Phylogeny of Malpighiaceae: Evidence from chloroplast *ndhF* and *trnL-F* nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 88, 1830–1846. <https://doi.org/10.2307/3558360>
- Davis, C.C., Bell, C.D., Mathews, S., Donoghue, M.J., 2002. Laurasian migration explains Gondwanan disjunctions: Evidence from Malpighiaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 6833–6837. <https://doi.org/10.1073/pnas.102175899>
- Davis, C.C., Chase, M.W., 2004. Elatinaceae are sister to Malpighiaceae; Peridiscaceae belong to Saxifragales. *American Journal of Botany* 91, 262–273. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.91.2.262>
- Davis, C.C., Anderson, W.R. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 97, 2031-2048. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000146>
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., Posada, D., 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods* 9, 772-772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- De Assis, G.L., Rodrigues, J.A., 2017. De quem é a Ayahuasca? Notas sobre a patrimonialização de uma “bebida sagrada” amazônica. *Religião e Sociedade* 37, 46-70. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-85872017v37n3cap02>
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amount of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19, 11–15. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-60441-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-60441-6_4)
- Drummond, A.J., Rambaut, A., 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7, 214. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>
- Edgar, R.C., 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 32, 1792–1797.
- Fiaschi, P., Pirani, J.R., Heiden, G., Antonelli, A., 2016. Biogeografia da flora da América do Sul, in: Carvalho, C.J.B., Almeida, E.A.B. (Org.), *Biogeografia da*

- América do Sul. Roca, Rio de Janeiro, pp. 215-226.
- Francener, A., Almeida, R.F., 2020. *Banisteriopsis* in Flora do Brasil 2020. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB8803> (accessed 13 September 2020).
- Frias, U.A., Costa, M.C.M., Takahashi, J.A., Oki, Y. 2012. *Banisteriopsis* species: a source of bioactive of potential medical application. Industrial Journal of Biotechnology Wellness Industrial 1, 163-171. <https://doi.org/10.6000/1927-3037/2012.01.03.02>
- Gagnon, E., Ringelberg, J.J., Bruneau, A., Lewis, G.P., Hughes, C.E. 2019. Global succulent biome phylogenetic conservatism across the pantropical *Caesalpinia* Group (Leguminosae). New Phytologist 222, 1994-2008. <https://doi.org/10.1111/nph.15633>
- Gates, B., 1982. *Banisteriopsis*, *Diplopterys* (Malpighiaceae). Flora Neotropica 30, 1-237.
- Germeraad, J.H., Hopping, C.A., Muller, J., 1968. Palynology of Tertiary sediments from tropical areas. Review of Palaeobotany and Palynology 6,189-348 [https://doi.org/10.1016/0034-6667\(68\)90051-1](https://doi.org/10.1016/0034-6667(68)90051-1)
- Gernhard, T., 2008. The conditioned reconstructed process. Journal Theoretical Biology 4, 769–778. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.04.005>
- Gow, P., 1994. River people: Shamanism and history in Western Amazonia, in Thomas, N., Humphrey, C. (Eds.), Shamanism, history, and the state. Ann Arbor, Michigan , pp. 90-113.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and USA analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41,95-98. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-14998u1.29](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14998u1.29)
- Iturralde-Vinent, M.A., MacPhee, R.D.E., 1999. Paleogeography of the Caribbean region: Implications for Cenozoic biogeography. Bulletin of the American Museum of Natural History 238, 1–95. <http://hdl.handle.net/2246/1642>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura K., 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution 35, 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Luz, T.Z., 2019. Caracterização genética de *Banisteriopsis* cf. *caapi* (Spruce ex Griseb.) CV Morton (Malpighiaceae), um cipó utilizado no preparo do chá Ayahuasca [Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia]. INPA

- Repository. <https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/36402>
- Machado, R.B., Ramos Neto, M.B., Pereira, P.G.P., Caldas, E.F., Gonçalves, D.A., Santos, N.S., Tabor, K., Steininger, M., 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional,
- McKenna, T., 1999. Food of the gods: the search for the original tree of knowledge: a radical history of plants, drugs and human evolution. Random House Publishing Group.
- Mendes, T.P., De Souza, A.O., Silva, M.J., 2020. Molecular phylogeny and diversification timing of the *Chamaecrista* sect. *Absus* subsect. *Absus* ser. *Paniculatae*, a newly circumscribed and predominantly endemic of the Cerrado Biome group. *Phytotaxa* 446, 159-182. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.446.3.2>
- Miller, M.J., Albarracin-Jordan, J., Moore, C., Capriles, J.M., 2019. Chemical evidence for the use of multiple psychotropic plants in a 1,000-year-old ritual bundle from South America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 116, 11207-11212. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902174116>
- Miller, M.A., Pfeiffer, W., Schwartz, T., 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. Available at: <http://www.phylo.org/index.php/>.
- Müller, K., Quandt, D., Müller, J., Neinhuis, C., 2006. PhyDE®: Phylogenetic Data Editor. [www.phyde.de](http://www.phyde.de)
- Naranjo, P., 1986. El ayahuasca en la arqueología ecuatoriana. *América Indígena* 46, 117-127.
- Naranjo, P., 1995. Archaeology and psychoactive plants, in Schultes, R.E., Von Reis, S. (Eds.), *Ethnobotany: Evolution of a discipline*. Dioscorides Press, Portland, pp. 393-399.
- Narby, J., 1999. *The cosmic serpent*. Penguin Publishing Group.
- Ogalde, J.P., Arriaza, B.T., Soto, E.C., 2009. Identification of psychoactive alkaloids in ancient Andean human hair by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Archaeological Science* 36, 467-472. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2008.09.036>
- Ogalde, J.P., Arriaza, B.T., Soto, E.C., 2010. Uso de plantas psicoactivas en el norte de Chile: Evidencia química del consumo de ayahuasca durante el Periodo Medio

- (500–1000 dc). *Latin American Antiquity* 21, 441-450.  
<https://doi.org/10.7183/1045-6635.21.4.441>
- Oliveira, R.C., Sonsin-Oliveira, J., Santos, T.A.C., Simas e Silva, M., Fagg, C., Sebastiani, R., 2020. Lectotypification of *Banisteriopsis caapi* and *B. quitensis* (Malpighiaceae), names associated with an important ingredient of Ayahuasca. *Taxon* 00, 1-4. I <https://doi.org/10.1002/tax.12407>
- Oliveira-Filho, A.T., Ratter, J.A., 1995. A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. *Edinburgh journal of botany*. 52, 141-194. <https://doi.org/10.1017/S0960428600000949>
- Ott, J., 1996. *Pharmacotolon: Entheogenic drugs, their plant sources and history*. Natural Products Co, Kennewick.
- Paithankar, K.R., Prasad, K.S.N., 1991. Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol. *Nucleic Acids Research* 19,1346.  
<https://doi.org/10.1093/nar/19.6.1346>
- Paradis, E., Schliep, K., 2019. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* 35, 526-528.
- Powo, 2022. "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (accessed 10 March 2022).
- Ruffell, S., Netzband, N., Bird, C., Young, A. H., Juruena, M.F., 2020. The pharmacological interaction of compounds in Ayahuasca: a systematic review. *Brazilian Journal of Psychiatry* 42, 646-656. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-0884>
- Santos, B.W.L., Oliveira, R.C.D., Sonsin-Oliveira J., Fagg, C.W., Barbosa, J.B.F., Caldas, E. D., 2020. Biodiversity of  $\beta$ -Carboline Profile of *Banisteriopsis caapi* and Ayahuasca, a Plant and a Brew with Neuropharmacological Potential *Plants* 9,870-884. <https://doi.org/10.3390/plants9070870>
- Schultes, R.E., 1957. The identity of the Malpighiaceae narcotics of South America. *Botanical Museum Leaflets*. 18, 1-56.
- Schultes, R.E., 1977. Hallucinogen distribution. *Journal Psychedelic Drugs* 9, 247-263.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.pp.21.060170.003035>
- Simon, M.F., Grether, R., Queiroz, L.P., Skema, C., Pennington, R.T., Hughes, C.E., 2009. Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, 20359-20364.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0903410106>

- Simon, M.F., Pennington, T., 2012. Evidence for adaptation to fire regimes in the tropical savannas of the Brazilian Cerrado. *International Journal of Plant Sciences* 6, 711-723. <https://doi.org/10.1086/665973>
- Strassburg, B.B., Brooks, T., Feltran-Barbieri, R., Iribarrem, A., Crouzeilles, R., Loyola, R., Balmford, A., 2017. Moment of truth for the Cerrado hotspot. *Nature Ecology & Evolution* 1, 1-3. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0099>
- Suchard, M.A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D.L., Drummond, A.J., Rambaut, A., 2018. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution* 4, vey016. <http://doi.org/10.1093/ve/vey016>
- Thode, V.A., Sanmartín, I., Lohmann, L.G. 2019. Contrasting patterns of diversification between Amazonian and Atlantic forest clades of Neotropical lianas (*Amphilophium*, Bignoniaceae) inferred from plastid genomic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 133, 92-106. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.021>
- Tupper, K.W., 2009. Entheogenic healing: The spiritual effects and therapeutic potential of ceremonial ayahuasca use, in Ellens, J.H. (Ed.), *The healing power of spirituality: How religion helps humans thrive*. Praeger, Westport, pp. 269-282.
- Varella, A.C., 2005. *A Cultura do uso de psicoativos nas grandes civilizações pré-colombianas (aproximações e perspectivas)*. Neip, Salvador.
- Zanella, F.C.V., 2011. Evolução da biota da diagonal de formações abertas secas da América do Sul, in Carvalho C.J.B., Almeida, E.A.B. (Orgs.), *Biogeografia da América do Sul: Padrões e processos*. Roca, São Paulo, pp. 198-220.
- Zuluaga, G., 2002. A cultura do yagé. Um caminho de índios, in: Beatriz C. L., Wladimir, S.A. (Eds.), *O Uso Ritual da Ayahuasca*. Mercado das Letras, Campinas, pp. 129-180.
- Yu, Y., Christopher, B., Xingjin, H., 2020. RASP 4: Ancestral State Reconstruction Tool for Multiple Genes and Characters. *Molecular Biology and Evolution* 37, 604–606. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz257>

## Apêndice 1.

Supplementary informations of biogeographic analyses

1. Biogeographic coding of analysed species. Geographical range categories A= Andes; B =Amazon Basin; C = Cerrado (plus dry areas of South America), D = East Coast (Atlantic Forest), and E = Central America and Caribe.

ID,Species,Geographical range categories

- 1,Banisteriopsis\_adenopoda,CD
- 2,Banisteriopsis\_angustifolia,C
- 3,Banisteriopsis\_argyrophylla,C
- 4,Banisteriopsis\_caapi,B
- 5,Banisteriopsis\_calcicola,C
- 6,Banisteriopsis\_campestris,C
- 7,Banisteriopsis\_confusa,BC
- 8,Banisteriopsis\_gardeneriana,C
- 9,Banisteriopsis\_harleyi,C
- 10,Banisteriopsis\_hypericifolia,C
- 11,Banisteriopsis\_irwinni,C
- 12,Banisteriopsis\_laevifolia,BCD
- 13,Banisteriopsis\_latifolia,C
- 14,Banisteriopsis\_martiniana,B
- 15,Banisteriopsis\_membranifolia,BD
- 16,Banisteriopsis\_muricata,ABCE
- 17,Banisteriopsis\_nummifera,BCD
- 18,Banisteriopsis\_oxyclada,C
- 19,Banisteriopsis\_paraguariensis,C
- 20,Banisteriopsis\_prancei,BC
- 21,Banisteriopsis\_pulchra,C
- 22,Banisteriopsis\_schwannioides,B



- 23, *Banisteriopsis\_sellowiana*, D
- 24, *Banisteriopsis\_vernifolia*, C
- 25, *Banisteriopsis\_acerosa*, C
- 26, *Bronwenia\_cinerascens*, B
- 27, *Bronwenia\_ferruginea*, CD
- 28, *Diplopterys\_cabrerana*, B
- 29, *Janusia\_anisandra*, CD
- 30, *Janusia\_hexandra*, D
- 31, *Peixotoa\_cordistipula*, C
- 32, *Peixotoa\_glabra*, C
- 33, *Philgamia\_glabrifolia*, E
- 34, *Philgamia\_hibbertioides*, E
- 35, *Sphedamnocarpus\_angolensis*, E
- 36, *Sphedamnocarpus\_poissonii*, E
- 37, *Stigmaphyllon\_aberrans*, A
- 38, *Stigmaphyllon\_ciliatum*, D

2. Matrix of transitions probabilities between geographical areas. Geographical range categories A= Andes; B =Amazon Basin; C = Cerrado (plus dry areas of South America), D = East Coast (Atlantic Forest), and E = Central America and Caribe.

13 Mya to present

	A	B	C	D
B	0.75			
C	0.5	0.75		
D	0.25	0.5	0.75	
E	0.75	0.5	0.1	0.1

25 Mya to 13 Mya

	A	B	C	D
B	0.1			
C	0.1	0.75		
D	0.1	0.25	0.75	
E	0.5	0.1	0.1	0.1

3. Biogeographic coding of analysed species. Geographical range categories A= Andes; B =Amazon Basin; C = Cerrado (plus dry areas of South America), D = East Coast (Atlantic Forest), and E = Central America and Caribe.

Model	LnL	d	e	AICc	AICw
C-DEC	-76.38	0.01	> 0.0001	157.1	0.87
C-DIVALIKE	-78.29	0.02	> 0.0001	160.9	0.13
C-BAYAREALIKE	-93.98	0.02	0.04	192.3	> 0.0001
U-DEC	-76.99	0.01	> 0.0001	158.3	0.94
U-DIVALIKE	-79.68	0.01	> 0.0001	163.7	0.06
U-BAYAREALIKE	-93.13	0.01	0.04	190.6	> 0.0001

4. Additional informations on dispersal and speciation from the RASP.

Dispersal Between Areas:

B->A:0.3333333

B->D:0.5

C->A:1.3333333

C->B:9.5

C->D:4.5

C->E:1

D->A:0.3333333

D->B:0.5

D->C:1

Speciation Within Areas:

B:5

C:22

D:3

E:3

### CAPÍTULO III

#### **Morfologia, anatomia de caules e DNA Barcode de etnotaxa de *Banisteriopsis caapi* (Malpighiaceae): o cipó da Ayahuasca**

**Resumo:** Dentre as espécies do gênero *Banisteriopsis* destaca-se o cipó *B. caapi* por ser um dos componentes do chá Ayahuasca. Embora *B. caapi* seja citada por vários autores como a espécie usada na preparação do chá Ayahuasca, não existe concordância quanto a circunscrição da espécie. Visto que são reconhecidas pelas comunidades Ayahuasqueiras que cultivam cipó, o estabelecimento de “Tipos”, aqui denominados “etnotaxa”. Com isso o objetivo deste estudo foi verificar se os “etnotaxa” de *B. caapi* poderiam ou não ser considerados espécies distintas. Foram analisadas 90 amostras de *B. caapi* abrangendo os etnotaxa: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador e Tucunacá. Foram coletados dados da morfologia externa, como medidas da folha e da morfologia interna, informações da anatomia do caule disponibilizadas. Além disso, foram realizados extração, amplificação, sequenciamento e alinhamento de DNA, das regiões plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, *ndhF* e o espaçador interno transcrito do rDNA nuclear (ITS). Para análise de dados das sequências de DNA foram realizadas: análise de Componentes principais (PCA), Modelos Mistos Gaussianos (MMGs), análise Multivariada Permutacional de Variância (PERMANOVA), as análises BarcodingGap, Meier’s Best close match, Neighbour-Joining (NJ) e Rosenberg’s probability of reciprocal monophyly. Os resultados da PCA mostraram a localização dos etnotaxas no morfoespaço, a análise de modelos mistos gaussianos mostrou que a melhor proposta para classificar a variabilidade morfológica nos dados analisados é a de seis etnotaxas e a PERMANOVA propõe a formação de seis grupos: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador e Tucunacá. As análises moleculares mostraram que não existem diferenças significativas entre os etnotaxa. Uma característica distintiva entre os etnotaxa é a presença de “nó inflado ou não inflado” no caule, e este é um dos principais caracter usado na “etnoclassificação”, assim excluímos este caráter das análises para verificar como os outros dados conseguem confirmar a existência de etnotaxa. E as análises morfológicas mostraram que os grupos possuem correpondência com a etnoclassificação. Contudo, os etnotaxa de *B. caapi*, não pertencem a outra espécie. E as diferenças na morfologia externa e

interna sugere que os etnotaxa podem estar passando por um processo de domesticação, haja vista que estão sendo cultivado pelos humanos.

**Palavras-chave:** Yagé, Santo Daime, Vegetal etnoclassificação, domesticação, Amazônia.

**Abstract:** Among the species of the genus *Banisteriopsis* the vine *B. caapi* stands out because it is one of the components of Ayahuasca tea. Although *B. caapi* is cited by several authors as the species used in the preparation of Ayahuasca tea, there is no agreement on the circumscription of the species. Since they are recognized by the Ayahuasca communities that cultivate the vine, the establishment of "Types", here called "etnotaxa", is recognized. With this the objective of this study was to verify whether or not the "etnotaxa" of *B. caapi* could be considered distinct species. Ninety samples of *B. caapi* were analyzed, covering the etnotaxa: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador and Tucunacá. Data were collected from the external morphology, such as leaf measurements, and from the internal morphology, information from the stem anatomy made available. In addition, DNA extraction, amplification, sequencing and alignment of the plastidial regions *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, *ndhF* and the internal transcribed spacer of nuclear rDNA (ITS) were performed. For data analysis of the DNA sequences we performed: principal component analysis (PCA), Gaussian Mixed Models (MMGs), Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA), the BarcondingGap, Meier's Best close match, Neighbour-Joining (NJ) and Rosenberg's probability of reciprocal monophyly. The PCA results showed the location of the etnotaxa in the morphospace, the Gaussian mixed model analysis showed that the best proposal to classify the morphological variability in the analyzed data is six etnotaxa, and the PERMANOVA proposed the formation of six groups: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador, and Tucunacá. The molecular analyses showed that there are no significant differences among the etnotaxa. A distinctive feature among the etnotaxa is the presence of an "inflated or non-inflated knot" on the stem, and this is one of the main characters used in "ethnoclassification", so we excluded this character from the analyses to see how the other data are able to confirm the existence of etnotaxa. And the morphological analyses showed that the groups have correpndence with the ethnoclassification. However, the ethnotaxa of *B. caapi*, do not belong to another species. The differences in external and internal

morphology suggest that the etnotaxa may be undergoing a domestication process, since they are being cultivated by humans.

**Keywords:** Yagé, Santo Daime, Plant ethnoclassification, domestication, Amazon.

## INTRODUÇÃO

*Banisteriopsis* C. B. Rob. pertence à família Malpighiaceae, representada por 77 gêneros e 1.300 espécies tropicais e subtropicais (Davis & Anderson 2010). *Banisteriopsis* não é monofilético, pois as suas espécies encontram-se em três clados independentes (Anderson & Davis 2006, Anderson & Davis 2007). *Banisteriopsis* sentido restrito compreende 61 espécies (POWO 2022), distribuídas desde o México até a Argentina. Para o Brasil são citadas 48 espécies, das quais 34 são endêmicas e encontradas em todos os domínios fitogeográficos brasileiros (Gates 1982, Carvalho et al. 2010, Francener & Almeida 2022).

Dentre as espécies de *Banisteriopsis* destaca-se *B. caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton, que em associação com outras plantas, principalmente com *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae) e *Diplopterys cabrerana* (Cuatrec.) B. Gates compõe o chá Ayahuasca, Caapi, Yagé e outros nomes (McKenna & Riba 2015, Santos et al. 2020). A Ayahuasca é um enteógeno usado em rituais e como medicinal pelas comunidades indígenas da região amazônica tendo sido difundida a grupos urbanos pelos seringueiros, que criaram as três principais vertentes religiosas no Brasil – o Santo Daime, a Barquinha e a União do Vegetal. Atualmente, há registro de consumo da Ayahuasca em quase todos os continentes (Callaway & Grob 1998, Jiménez-Garrido et al. 2020, Diament et al. 2021). Com a difusão das religiões Ayahuasqueiras, novas modalidades urbanas de uso do Ayahuasca têm surgido, chamados de “Neo-ayahuasqueiro” (Labate 2000).

A liana ou cipó *Banisteriopsis caapi* possui as betacarbolinas Harmina, Harmalina e Tetrahydroharmina que atuam inibindo a enzima Monoamina oxidase A (MAO-A) amplificando o efeito da N, N-dimetiltriptamina (DMT), presente nas folhas de *P. viridis*, alterando a concentração do neurotransmissor serotonina e assim promovendo efeitos enteógenos (Frias et al. 2012, Froot 2015, Morales-García et al. 2017).

Há autores, que estimaram que a Ayahuasca é utilizada há cinco mil anos (Naranjo 1986). Por outro lado, McKenna (2002) comenta que a origem de uso na Amazônia remonta a centena ou milhares de anos. Spruce, o coletor original de *B. caapi*, encontrou as primeiras plantas da espécie sob cultivo nas margens do rio Uaupés e outros afluentes do Alto Rio Negro, nas cataratas do Orinoco e nos seus afluentes,

bem como no sopé oriental dos Andes Equatoriais, locais onde usavam uma decocção enteógena (Spruce 1908).

Apesar de *B. caapi* ser citada por vários autores como a espécie usada na preparação da decocção Ayahuasca, não existe concordância na circunscrição da espécie. Niedenzu (1928), Hammerman (1930) e Schultes (1982) reconhecem *B. quitensis* (Nied.) C.V. Morton e relacionaram seu uso na decocção utilizada por indígenas da Colômbia, Equador e Peru. Morton (1931) descreveu *B. inebrians* Morton com base no etnotaxa reconhecido como “yagé del monte”. Na discussão da nova espécie, Morton (1931) relacionou duas espécies de *Banisteriopsis* implicadas na preparação da decocção (*B. quitensis* e *B. rusbyana*, este sinônimo de *Diplopterys longialata* (Nied.) W. R. Anderson & C. Davis). Herrera (1941) apontou *B. metallicolor* (A. Juss.) O'Donnell & Lourteig (*Banisteriopsis muricata* (Cav.) Cuatrec.) como ingrediente único da decocção utilizado no Valle de Lares, Peru.

*Banisteriopsis inebrians* e *B. quitensis* foram sinonimizadas a *B. caapi* por Gates (1982), que analisou apenas exsiccatas, grande parte delas representadas por ramos estéreis e sem comentários sobre o colmo principal. Schultes et al. (2001), um etnobotânico experiente e estudioso de plantas psicoativas, reconhece *B. inebrians* como um táxon independente. Albuquerque (2012) enfatiza que o termo Cabi, um tipo de cipó amazônico utilizado na medicina popular no estado do Pará, é usado para designar tanto *B. caapi* (= *Banisteria caapi*) quanto *Callaeum antifebrile* (Ruiz ex Griseb.) D.M. Johnson (= *Cabi paraensis* Ducke).

O reconhecimento de “tipos” ou etnotaxas do cipó é pouco investigado taxonomicamente (Spruce 1908, Koch-Grunberg 1923, Langdon 1986, Schultes 1986, Davis 1996, Oliveira et al. 2018, Santos et al. 2020). Gates (1982) comenta que as populações que utilizam a decocção reconhecem diferentes etnotaxa, pelas propriedades alucinógenas da decocção, mas a autora argumenta que se trata de variantes químicas da mesma espécie. Davis (1996) relatou que os índios Inganos de Puerto Limón (Colômbia) podem distinguir até sete etnotaxas de *B. caapi* e destaca a regularidade com que vários índios de diferentes culturas e separados por grandes extensões identificam os mesmos etnotaxas de *B. caapi*.

Entre as religiões Ayahuasqueiras brasileiras, o Santo Daime, a Barquinha e a União do Vegetal (UDV), também há o reconhecimento de etnotaxa do cipó, não sistematizado na literatura. Behrens et al. (2016) relacionaram 14 nomes de etnotaxas



utilizados na preparação do chá entre grupos religiosos do Distrito Federal e pela compilação de nomes da literatura.

Monteles (2020) com base em três especialistas locais do Santo Daime relacionou 11 etnotaxa. Para o autor, os etnotaxa são caracterizados pela morfologia do caule e do chá. Os caules, segundo Monteles, apresentam forma, bagaço e seiva distintos. Quanto as formas os etnotaxa podem ser lisos ou com nós, o bagaço pode ser desmanchado em fibras ou pó e a seiva pode ser roxa, vermelha ou amarela. O chá pode ter sabor comum, doce ou amargo e o efeito do enteógeno que pode resultar em uma bebida com “força” suave ou forte, também são determinados pelo etnotaxa do cipó. Além disso, Monteles (2020) citou a formação de três “famílias” de etnotaxa, cuja circunscrição não é clara. As “famílias” do Caupuri (com nós), do Ourinho (sem nós) e do Arara (sem nó, agrupado pela seiva vermelha e propriedades do chá).

O reconhecimento desses etnotaxa e a publicação de nomes e espécies relacionadas à Ayahuasca conforme comentado acima, levou-nos à hipótese de haverem mais de uma espécie de *Banisteriopsis* usada na preparação do chá Ayahuasca entre os grupos religiosos brasileiros. A falta de documentação em herbários, os problemas na identificação e o uso estendido da planta cultivada em diferentes culturas, dificultam a compreensão da taxonomia do cipó. Estas perguntas levaram uma equipe multidisciplinar da Universidade de Brasília (UnB) a propor projetos que resultaram no acúmulo de mais 159 coletas de herbário dos etnotaxa associada a uma ampla coleção de caules (Oliveira et al. 2018). Um dos resultados deste esforço foi a análise química de 176 amostras, das quais, 159 foram *B. caapi* e 17 amostras de outras espécies de *Banisteriopsis* e *Diplopterys pubipetala*, que foi citada como fonte de betacarbolinas (Santos et al. 2020). Outro aporte fornecido pela equipe foi a lectotipificação de *B. caapi* e *B. quitensis*, conectando o tipo de *B. caapi* a um etnotaxa reconhecido pelos informantes dos grupos religiosos da pesquisa (Oliveira et al. 2020).

O chá Ayahuasca tem seu uso religioso legitimado pela Resolução nº5 de 04/11/2004/ CONAD – Conselho Nacional Antidrogas. Isto mostra o quão é importante é circunscrever e identificar as espécies utilizadas na preparação do chá.

Diante da complexidade taxonômica de *B. caapi* e da riqueza de formas e constância da classificação dos etnotaxa, o objetivo deste trabalho foi o de testar modelos em que os etnotaxas poderiam ou não ser considerados espécies distintas, com base em análises estatísticas multivariadas dos caracteres morfológicos das folhas e anatômicos do caule, bem como mostrar se existe uma relação entre os etnotaxa

reconhecidos pelas comunidades tradicionais e a ciência formal.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. Amostragem

Esta pesquisa é fruto do projeto intitulado “Taxonomia e fitoquímica de *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton (Malpighiaceae), componente do chá ayahuasca”, sob o protocolo 16533.78.29547.26042017, financiado pela Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF). O foco do projeto é o estudo etnobotânico entre os grupos religiosos que utilizam o cipó Ahyahuasca.

Com isso, foram analisadas 90 amostras de *B. caapi* coletadas junto a representantes de religiões brasileiras que utilizam Ayahuasca em rituais. Os espécimes foram agrupados segundo os “etnotaxa” informados, com detalhamento dos caracteres morfológicos resguardado pelo conhecimento tradicional (Figura 1). Foram analisados os etnotaxa e respectivo número de indivíduos: arara (3), caupuri (38), ourinho (11), pajezinho (4), quebrador (6) e tucunacá (28). As exsicatas analisadas estão na tabela 1 (detalhe Anexo 3).

Tabela 1. Material analisado e depositados no herbário UB: etnotaxa, estado, voucher: RCO = R.C. Oliveira; ADS= A.D. Silveira; CSB = C.S.B. Behrens, TACS= T.A.C. Santos.

<b>Etnotaxa</b>	<b>Estado</b>	<b>Voucher</b>
<b>Arara</b>	Acre	RCO 3397
<b>Arara</b>	Rio de Janeiro	TACS 86
<b>Caupuri</b>	Pará	RCO 3697
<b>Caupuri</b>	Pará	RCO 3684
<b>Caupuri</b>	Amazonas	CSB 47
<b>Caupuri</b>	Amazonas	CSB 38
<b>Caupuri</b>	Amazonas	CSB 42
<b>Caupuri</b>	Pará	RCO 3680
<b>Caupuri</b>	Pará	RCO 3712
<b>Caupuri</b>	Amazonas	CSB 37
<b>Caupuri</b>	Amazonas	CSB 43
<b>Caupuri</b>	Pará	RCO 3698

<b>Caupuri</b>	Pará	RCO 3682
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	CSB 29
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3150
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3449
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3430
<b>Caupuri</b>	Minas Gerais	RCO 3521
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3031
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3448
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	RCO 3554
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3794
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	CSB 34
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	CSB 35
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3786
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3783
<b>Caupuri</b>	Rio de Janeiro	TACS 88
<b>Caupuri</b>	Rio de Janeiro	TACS 87
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3783
<b>Caupuri</b>	Goiás	RCO 3786
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	RCO 3554
<b>Caupuri</b>	Minas Gerais	RCO 3521
<b>Caupuri</b>	Goiás	TACS 63
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	CSB 33
<b>Caupuri</b>	Goiás	CSB 28
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	CSB 34
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	ADS 03
<b>Caupuri</b>	Rio de Janeiro	TACS 85
<b>Caupuri</b>	Rio de Janeiro	TACS 78
<b>Caupuri</b>	Distrito Federal	RCO 3620
<b>Ourinho</b>	Amazonas	CSB 39
<b>Ourinho</b>	Distrito Federal	RCO 3621
<b>Ourinho</b>	Goiás	RCO 3334
<b>Ourinho</b>	Rio de Janeiro	TACS 83
<b>Ourinho</b>	Goiás	RCO 3446
<b>Ourinho</b>	Acre	RCO 3400
<b>Ourinho</b>	Acre	RCO 3395
<b>Ourinho</b>	Acre	RCO 3501

<b>Pajezinho</b>	Amazonas	CSB 41
<b>Pajezinho</b>	Goiás	RCO 3433
<b>Pajezinho</b>	Acre	RCO 3394
<b>Pajezinho</b>	Distrito Federal	RCO 3658
<b>Quebrador</b>	Distrito Federal	RCO 3553
<b>Quebrador</b>	Distrito Federal	RCO 3514
<b>Quebrador</b>	Acre	RCO 3528
<b>Quebrador</b>	Goiás	RCO 25
<b>Quebrador</b>	Goiás	RCO 27
<b>Quebrador</b>	Distrito Federal	RCO 3622
<b>Tucunacá</b>	Goiás	RCO 3490
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3702
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3707
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	RCO 3643
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3710
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3687
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3677
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3689
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3709
<b>Tucunacá</b>	Pará	RCO 3674
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	RCO 3326
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	RCO 3598
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	CSB 36
<b>Tucunacá</b>	Acre	RCO 3508
<b>Tucunacá</b>	Minas Gerais	RCO 3518
<b>Tucunacá</b>	Goiás	TACS 60
<b>Tucunacá</b>	Minas Gerais	RCO 3517
<b>Tucunacá</b>	Goiás	RCO 3370
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	RCO 3550
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	RCO 3551
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	RCO 3216
<b>Tucunacá</b>	Minas Gerais	RCO 3520
<b>Tucunacá</b>	Goiás	RCO 3798
<b>Tucunacá</b>	Goiás	RCO 3797
<b>Tucunacá</b>	Acre	RCO 3503
<b>Tucunacá</b>	Distrito Federal	CSB 30

<b>Tucunacá</b>	Goiás	CSB 24
<b>Tucunacá</b>	Goiás	TACS 64

As amostras foram coletadas no período de 2016 a 2020 junto a 38 informantes, na região centro-oeste (Distrito Federal e Goiás), sudeste (Minas Gerais e Rio de Janeiro) e norte (Acre, Pará). As excursões de campo e observação das plantas foram realizadas nos seguintes grupos religiosos: Barquinha, Santo Daime e várias “Neo-ayahuasqueiras”. Além da coleta e observação de espécimes nativos no Acre e Pará. Foi realizado o cadastramento no Sisgen. As amostras estão depositadas no herbário da UnB, cujo acrônimo é UB segundo Thiers (2018), com duplicatas para herbários colaboradores.

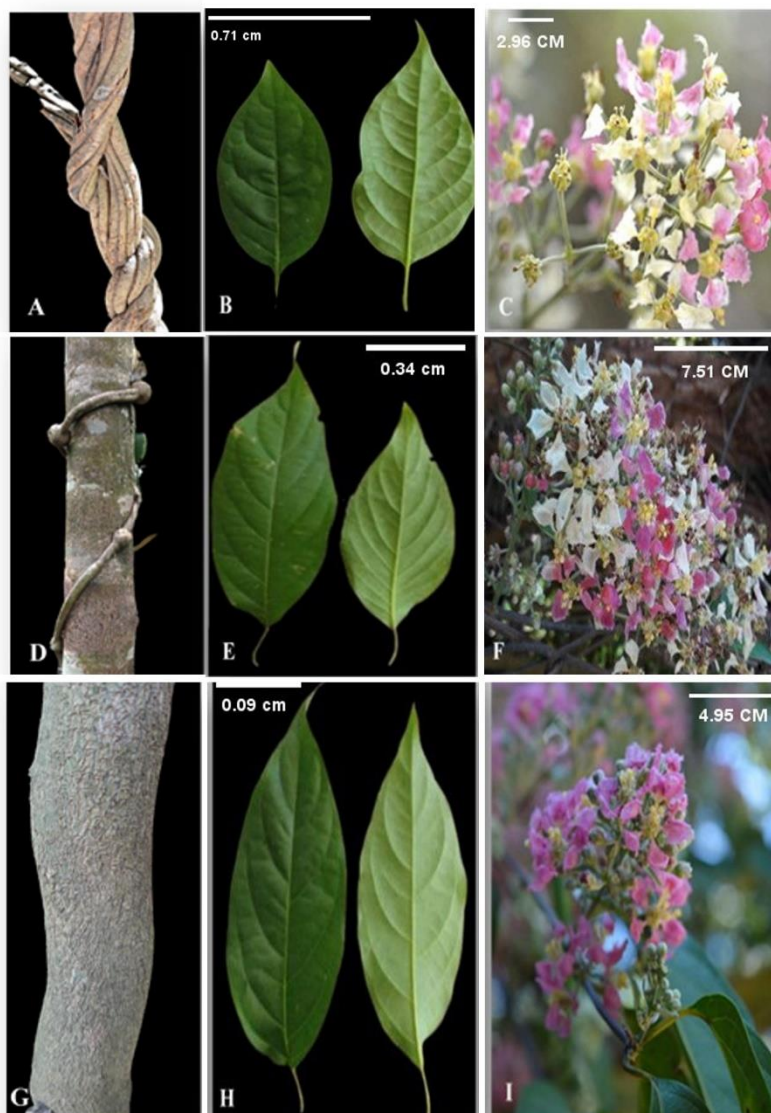


Figura 1. Etnotaxa de *Banisteriopsis caapi*, segundo informantes das religiões Ayahuasqueiras brasileiras. A, B e C –Tucunacá – caule, folha e flor; D, E e F –

Caupuri – caule, folha e flor; G, H e I – Quebrador, caule, folha e flor. A e G - Caules sem nós inflados. D – Caule com nós inflados. Fotos: Camila Behrens.

## 2. Morfologia externa e interna

2.1 *Morfologia externa*: para a terminologia das descrições dos estados de caracteres foram seguidos Radford et al. (1974) e Gates (1982). Para análise morfométrica das folhas foram selecionadas de 5 a 10 folhas por espécime, completamente expandidas, preferencialmente sem quaisquer sinais de danos ou de predação. Localizadas do primeiro ao terceiro nó a partir do ápice do ramo, mensuradas manualmente com auxílio de régua (Figura 2).

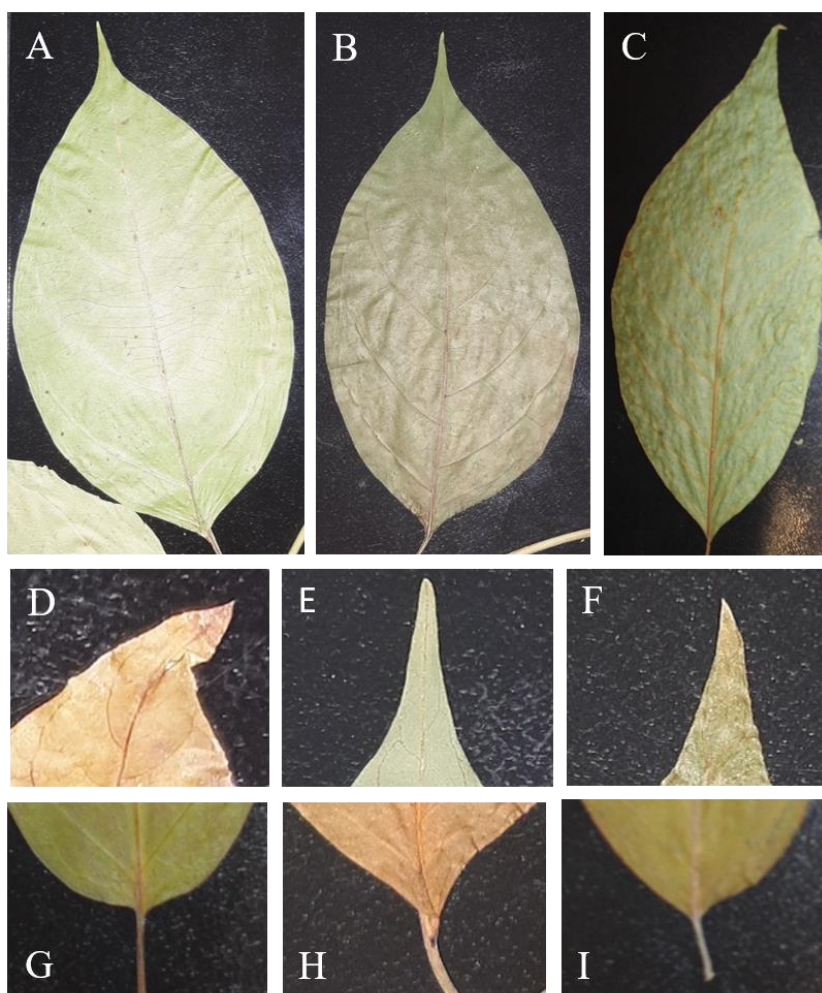


Figura 2. Folhas analisadas no estudo morfométrico. A – Folha amplamente ovada; B – Folha ovada; C – Folha elíptica; D – Ápice curto acuminado; E – Ápice longo acuminado; F – Ápice acuminado; G – Base ovada; H – Base obtusa; I – Base cuneada.

O cipó *B. caapi*, geralmente são plantas vigorosas que crescem no dossel da floresta amazônica, dificultando a coleta de flores do cipó nativo, além do curto período de floração segundo os informantes, inclusive há comentários de espécimes que nunca registraram floração no estado do Pará. Esse comportamento ocasionou a pouca coleta de espécimes com flores e/ou frutos, por isso não foi possível incluir nas análises caracteres reprodutivos.

2.2. *Dados anatômicos*: a construção da matriz foi realizada a partir dos dados anatômicos do caule do artigo Oliveira et al. (2021, no prelo). As amostras se encontram depositadas na xiloteca do herbário UB. Os descritores morfo-anatômicos utilizados neste trabalho estão na tabela 2.

Tabela 2. Descritores morfológicos das folhas e anatômicos do caule analisados nos etnotaxas de *B. caapi*. (Anexo 1 – tabela com os estados desses caracteres)

<b>Descritores morfológicos e anatômicos</b>	
1.	Forma do nó: (0) com nó (1) sem nó
2.	Comprimento do pecíolo (cm);
3.	Glândulas no pecíolo: (0) ausente (1) presente;
4.	Comprimento da lâmina foliar (cm);
5.	Largura da lâmina foliar (cm);
6.	Área foliar
7.	Forma da folha: (0) elíptica (1) ovada (2) amplamente ovada;
8.	Base da folha: (0) cuneada (1) obtusa (2) truncada;
9.	Ápice da folha: (0) acuminado (1) curto acuminado (2) longo acuminado;

10. Pontuações de vaso: Forma e tamanho iguais (0) Arredondadas (1)
11. Parênquima axial com bandas largas: Presente (0) Ausente (1)
12. Tilos nos vasos (0) pouco (1) muito
13. Fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: (0) sim (1) não
14. Parênquima axial: (0) Bandas curtas (1) Bandas grandes
15. Raio: (0) 1-3 células (1) mais de 6 células
16. Altura do raio: maior que 1mm (0) ausente (1)
17. Cristais prismáticos nas células do raio: (0) ausente (1) presente
18. Drusas na região axial do floema: (0) ausente (1) presente
19. Drusa no raio do parênquima: (0) ausente (1) presente

### 3. Extração de DNA, Amplificação, Sequenciamento e Alinhamento

As extrações de DNA foram realizadas usando o protocolo adaptado para microtubos de Doyle & Doyle (1987). O DNA extraído foi avaliado por meio de eletroforese em gel de agarose 1% em TAE 1X, a 100V e corrente entre 250-300A. Para sua visualização as amostras de DNA foram coradas com Gel Red<sup>TM</sup> (Biotium) e observadas sob luz UV. O DNA extraído também foi analisado em aparelho Biodrop, para determinação da concentração de cada amostra (em nanogramas) e verificar a presença de contaminações.

As regiões plastidiais *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, *ndhF* e o espaçador interno transcrito do rDNA nuclear (ITS) foram amplificadas e sequenciadas. A amplificação foi realizada através de reação de PCR com Top Taq Master Mix Kit (Qiagen) seguindo as recomendações do fabricante, em um volume final de 15,4 µL, contendo 0,2 µM de cada primer e 25 ng de molde de DNA. Para amplificação do marcador ITS foram adicionados 10% de dimetilsulfóxido (DMSO), 0,15 µL de BSA (0,0015 mg/ml) e 3 µL de betaína (0,97 M) à mistura de PCR. Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose de 1-1,4% em tampão TAE 1X, corados com GelRed<sup>TM</sup> (Biotium) e visualizados sob luz UV.

Os produtos da PCR foram purificados utilizando o método de precipitação de DNA com polietilenoglicol – PEG 11% (Paithankar & Prasad 1991) e ressuspensos em água Milli-Q autoclavada. As reações de sequenciamento foram realizadas na plataforma de sequenciamento do Instituto Gonçalo Muniz, da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, em Salvador, Bahia (BA).



Os eletroferogramas gerados foram analisados e editados manualmente nos programas Geneious (Drummond et al. 2009), BIOEDIT (Hall 1999), e CodonCodeAligner (version 4.1 CodonCode Corporation, Massachusetts) para obtenção do consenso das sequências forward e reverse. Foram eliminadas as porções inicial e final de cada sequência, a fim de evitar artefatos próximos à região de anelamento dos primers. O alinhamento das matrizes de sequências foi realizado nos programas Mega version X (Kumar et al. 2018) e PHYDE® v.0.9971 (Müller et al. 2006).

#### 4. Análise dos dados

Para testar a hipótese e verificar se existe distinção morfológica entre os etnotaxas de *B. caapi*, foi usado o framework estatístico proposto por Cadena et al. (2018). Inicialmente foi realizada uma análise de Componentes Principais (PCA) usando a matriz de dados morfológicos da tabela 2 (descritos acima no tópico de dados morfológicos) para criar e analisar o espaço morfológico entre as amostras dos etnotaxas. Ao invés de utilizar os componentes principais com maior taxa de variância, foram selecionados os componentes com maior poder de discriminação dos grupos encontrados utilizando o pacote clustvarsel 2.3.4 (Scrucca & Raftery 2018).

Modelos Mistos Gaussianos (MMGs) sem supervisão foram ajustados sobre a matriz de covariância dos componentes mais discriminatórios. Esses modelos avaliam o poder de propostas de classificação sem nenhuma informação antes sobre as classificações das amostras e eles testam explicitamente a possibilidade de que toda a variação encontrada possa ser explicada por apenas um grupo, no nosso caso, chamado etnotaxa. Foi testada a possibilidade de que a variação fenotípica pudesse ser classificada em até 10 etnotaxa. Além disso, também foi ajustado um MMGs supervisionado testando explicitamente a possibilidade de que a variação fenotípica encontrada na matriz fosse explicada por seis etnotaxa. Neste caso, cada amostra foi previamente classificada conforme as identificações dos informantes. O suporte empírico para diferentes MMGs foi avaliado usando o Critério de Informação Bayesiano (Schwarz 1978) e para ajustar os MMGs foi usado o pacote mclust 5.4.9 (Scrucca et al. 2016).

Após a seleção do melhor modelo de classificação indicada pela análise dos MMGs, nós criamos uma matriz de disparidade morfológica baseada nos dados morfológicos originais usando uma versão adaptada da função implementada no ambiente estatístico R por Chartier et al. (2014, 2017). Em seguida, foi realizada uma

análise Multivariada Permutacional de Variância (PERMANOVA) com 10.000 permutações para calcular a pseudo estatística F.

Para verificar a disparidade morfológica entre os etnotaxa de *B. caapi* foi realizada a mesma análise *post hoc* com o método Bonferroni de correção do valor de P. Neste teste a hipótese nula é de que não existe disparidade morfológica entre os etnotaxa, enquanto a rejeição da hipótese nula significa que existem disparidades significativas entre os etnotaxa. Para essas análises foi usado o pacote vegan 2.5-6 (Oksanen et al. 2019).

Para testar o poder discriminatório de cada caráter morfológico foram realizadas análises univariadas. Para os caracteres categóricos foram criadas tabelas de contingência das proporções de cada estado de caractere para as espécies. Em seguida, o teste foi aplicado para verificar se havia diferença significativa nas proporções, assumindo o valor de  $P < 0.05$ . Para os caracteres quantitativos foram realizados testes de Kruskal-Wallis com valor de significância de  $P < 0.05$ . Os caracteres quantitativos com que mostraram diferenças significativas no teste de Kruskal-Wallis foram submetidos a testes *post hoc* pareados de Wilcoxon com método Holm de correção do valor de P.

Além das análises morfológicas, também foram realizadas análises de DNA barcoding com as sequências produzidas para as regiões plastidiais (*trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, *ndhF*) e nuclear (ITS). Para as análises de DNA barcoding cada região foi analisada separadamente ou foram concatenadas em pares, em combinações múltiplas ou em um único dataset.

Para verificar se há estruturação genética correspondendo aos etnotaxa previamente identificados foram realizadas as análises BarcodingGap, Meier's Best close match, Neighbour-Joining (NJ) e Rosenberg's probability of reciprocal monophyly. BarcodingGap é uma análise que assume que a variação genética dentro das espécies é menor do que a variação entre as espécies. Na análise "Meier's Best close match", é um método baseado em distância genética e busca pelas melhores combinações de identificação. O resultado se dá em quatro categorias: 1. Correto, 2. Incorreto, 3. Ambíguo e, 4. Sem combinação.

*Neighbour-Joining* é um método de inferência filogenética sem raiz, que verifica o nível de similaridade molecular entre as amostras com base em uma matriz de distância (Saitou & Nei 1987, Yang & Rannala 2012). Por fim, "Rosenberg's probability of reciprocal monophyly" é uma ferramenta para testar hipóteses de

delimitação de espécie, onde o grau de importância da amostragem é analisado, para mostrar se o grupo é ou não estatisticamente significativo (Mehta & Rosenberg 2019).

## RESULTADOS

A PCA (Figura 3) com 19 caracteres morfo-anatômicos foi construída com base na análise de 90 de amostras de seis etnotaxas: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador e Tucunacá, mostra a posição dos indivíduos no morfoespaço.

O eixo um explica 27,5% da variação total, sendo um morfoespaço que agrupa todos os espécimes do etnotaxa Caupuri (Figura 1 D-F). Este eixo teve correlação com os caracteres: 11 (Parênquima axial com bandas largas: presente (0) ausente (1)), 12 (Tilos nos vasos (0) pouco (1) muito), 13 (Fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: (0) sim (1) não), 14 (Parênquima axial: (0) Bandas curtas (1) Bandas grandes), 15 (Raio: (0) 1-3 células (1) mais de 6 células) e 18 (Drusas na região axial do floema: (0) ausente (1) presente).

O eixo dois explica 20.2% da variação total, onde os outros etnotaxas ocupam esse morfoespaço. O Ourinho, Pajezinho e Quebrador, ocuparam morfoespaços exclusivos, enquanto o Tucunacá ficou entre estes etnotaxas. Os espécimes de Arara ocuparam um morfoespaço distinto e distante dos demais etnotaxas. Este eixo teve correlação com os caracteres: 4 (Largura da lâmina foliar (cm)), 5 (Forma da folha: (0) elíptica (1) ovada (2) amplamente ovada), 11 (Parênquima axial com bandas largas: presente (0) ausente (1)), 12 (Tilos nos vasos (0) pouco (1) muito), 13 (Fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: (0) sim (1) não), 14 (Parênquima axial: (0) Bandas curtas (1) Bandas grandes), 15 (. Raio: (0) 1-3 células (1) mais de 6 células).

O eixo um, onde estão os etnotaxa de Caupuri, possui o caráter drusas na região axial do floema, caractere 18, como exclusivo desse morfoespaço. E o eixo dois, onde estão os outros etnotaxa (Ourinho, Pajezinho, Quebrador, Tucunacá e Arara) possui os caracteres a largura e forma da lâmina foliar, 4 e 5 respectivamente, como exclusivo de morfoespaço.

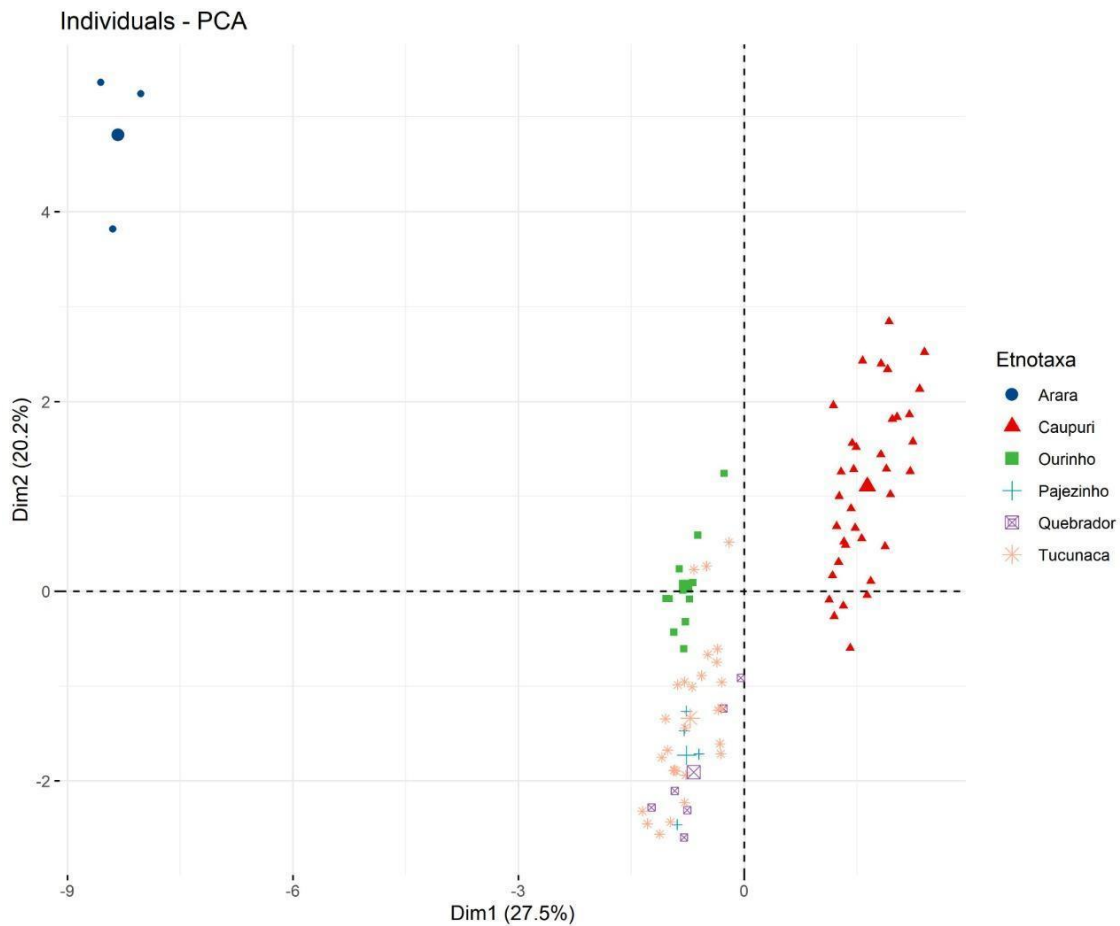


Figura 3. Análise de Componentes Principais (PCA) a partir de matriz morfo-anatômica com 19 caracteres, ilustrando a localização dos etnotaxas de *B. caapi* no morfoespaço.

A análise de modelos mistos gaussianos (Figura 4) mostrou que a melhor proposta para classificar a variabilidade morfológica nos dados analisados é a de seis etnotaxas. O segundo melhor modelo de classificação é de até nove etnotaxas. A possibilidade de que não haja diferenças morfológicas entre os etnotaxa analisados foi o pior modelo de classificação. Considerando esses resultados, a classificação da variabilidade morfológica dos dados analisados fica entre seis e nove etnotaxas possíveis.

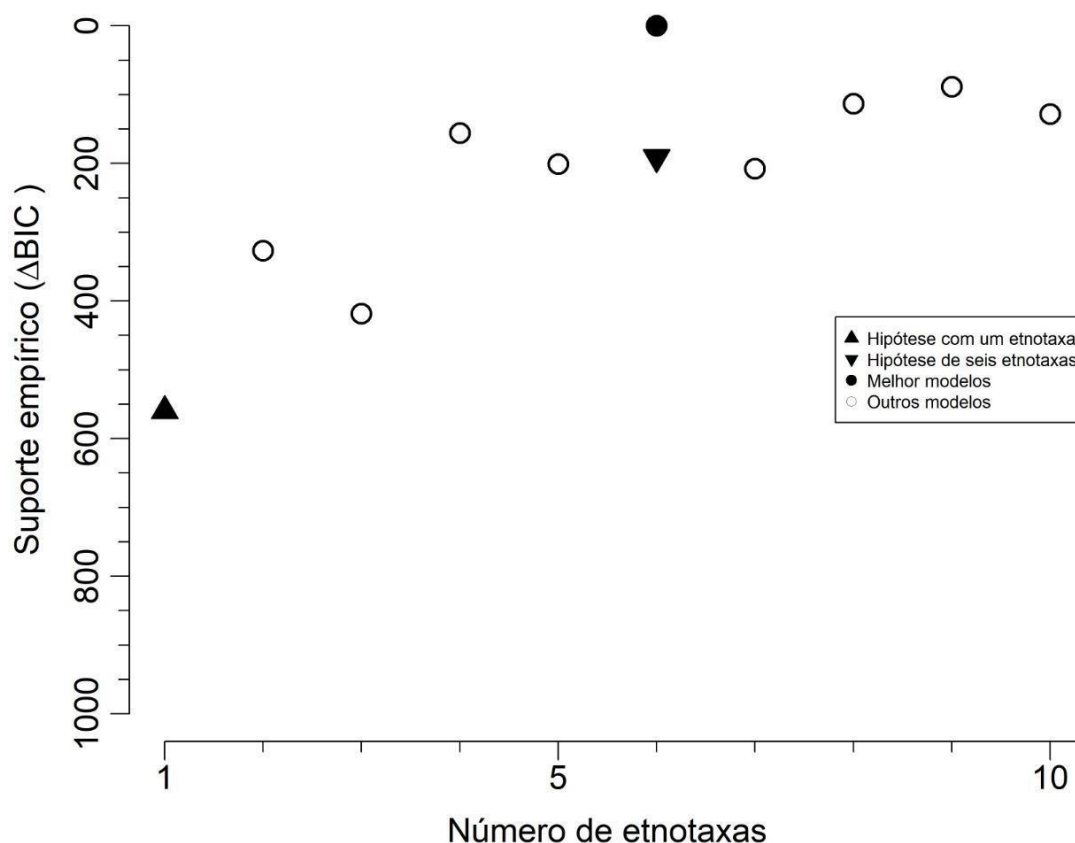


Figura 4. Análise de Modelos Gaussianos Mistos ilustrando as hipóteses de formação de grupos ou etnotaxas, a partir da matriz de co-variância da PCA.

A análise de PERMANOVA pareada (tabela 3) confirma as análises anteriores da formação de seis grupos. Caupuri e Tucunacá (78.916) apresentaram a maior dissimilaridade morfológica entre si, ao passo que a menor foi registrada entre Pajezinho e Quebrador (0.837).

Tabela 3. Resultados da análise de PERMANOVA pareada realizada a partir da matriz de distância entre os etnotaxas de *Banisteriopsis caapi*\* Valor-P = 0.003333, ns: não significativo.

Enotaxa	Arara	Caupuri	Ourinho	Pajezinho	Quebrador	Tucunacá
<b>Arara</b>	NA	16.282	12.323	19.226	10.239	17.728
<b>Caupuri</b>	*	NA	21.887	21.706	21.205	78.916
<b>Ourinho</b>	*	*	NA	10.153	7.887	19.661
<b>Pajezinho</b>	ns	*	*	NA	0.837	1.441

<b>Quebrador</b>	ns	*	*	ns	NA	1.612
<b>Tucunacá</b>	*	*	*	ns	ns	NA

O resultado do teste Qui-quadrado (Figura 5) mostrou que é possível identificar Caupuri, pelos estados de caráter 7 (Forma da folha, sendo o predominante o estado de caráter elíptica), 8 (Base da folha, com o caráter obtusa), 14 (Parênquima axial com as bandas grandes), 15 (Raio com mais de 6 células). E o Arara pelos caracteres 11 (Parênquima axial com bandas largas ausente), 13 (Sem as fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial) e 18 (Drusas na região axial do floema presente).

Para os outros etnotaxas o reconhecimento deve ser realizado pela combinação de caracteres, verificando quais caracteres tem maior valor. Assim, foi possível identificar que, por esta análise, podemos inferir as seguintes correspondências: Ourinho – caracteres: 12 (Com muitos tilos nos vasos) e 19 (Drusa no raio do parênquima presente); Pajezinho – 3 (Glândulas no pecíolo ausente) e 7 (Forma da folha ovada), Quebrador – 3 (Glândulas no pecíolo ausente) e 7 (Forma da folha ovada), Tucunacá – 3 (Glândulas no pecíolo ausente), 7 (Forma da folha elíptica) e 9 (Ápice da folha acuminado).

A análise de *Best Close* mostrou que não existem diferenças significativas entre os etnotaxas. Como comprova as taxas da região nuclear ITS que apresentou 0,73% *ambiguous*, 0% *correct* e 0,27% *incorrect*. A combinação das regiões ITS+MATK+PSBA+NDHF trouxe as taxas de 0% *ambiguous*, 0,13% *correct* e 0,87% *incorrect*. As taxas de “*No match*” foram baixas para todas as regiões, inclusive entre as combinações (tabela 4).

Os resultados do teste “*NJ*” mostraram baixas taxas de “verdadeiro” e altas taxas de “falso” para todas as regiões, estejam individuais ou combinadas, revelando uma árvore com baixa resolução (tabela 4). As figuras das análises *Barcoding Gap* e *Rosenberg’s probability of reciprocal monophyly* estão nos Anexos dois e três, respectivamente.

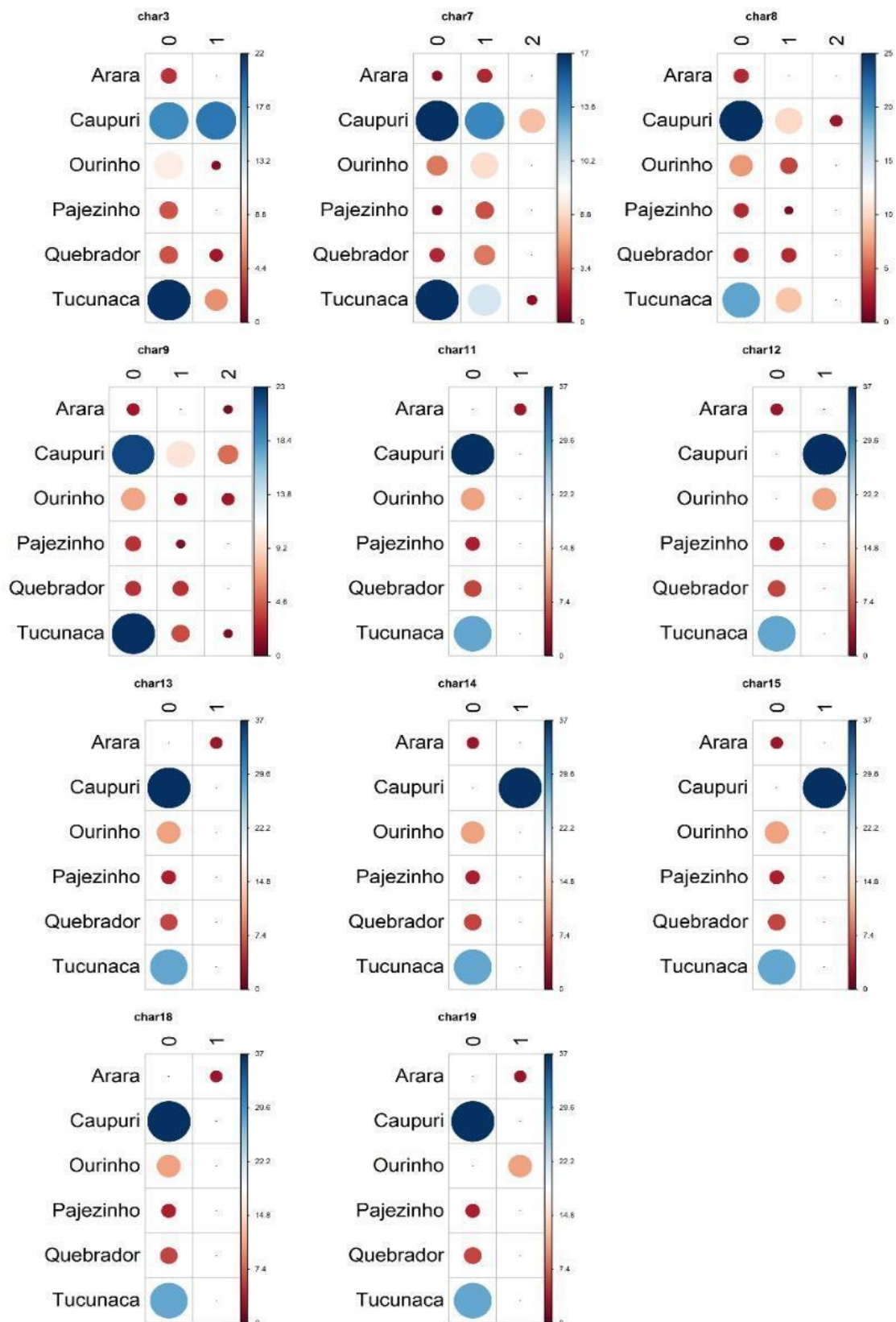


Figura 5. Resultado do teste Chi-quadrado ilustrando a distribuição dos estados de caracteres entre os etnotaxa de *B. caapi*. Char3. Glândulas no pecíolo: (0) ausente; (1) presente; Char7. Base da folha: (0) cuneada (1) obtusa; (2) truncada; Char8. Base da

folha: (0) cuneada (1) obtusa; (2) truncada; Char9. Ápice da folha: (0) acuminado (1) curto acuminado (2) longo acuminado; Char11. Parênquima axial com bandas grandes: Presente (0) Ausentes (1). Char12. Tilos nos vasos (0) pouco (1) muito. Char13. Fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: (0) sim (1) não; Char14. Parênquima axial: (0) Bandas curtas (1) bandas grandes; Char15. Raio: (0) 1-3 células (1) mais de 6 células; Char18. Drusas na região axial do floema: (0) ausente (1) presente; Char19. Drusa no raio do parênquima: (0) ausente (1) presente.

Tabela 4. Resultado da análise de *Meier's Best Close Match* e *Neighbor Joining-NJ* com os etnotaxa de *B. caapi*. A primeira coluna mostra as regiões moleculares analisadas independentemente ou combinadas.

Barcoding região	Best close match (%)				NJ	
	Ambiguous	Correct	Incorrect	No Match	FALSO	TRUE
<b>ITS</b>	0,73	0,00	0,27	0,00	1,00	0,00
<b>MATK</b>	0,20	0,05	0,70	0,05	1,00	0,00
<b>PSBA</b>	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00
<b>NDHF</b>	0,63	0,02	0,27	0,07	1,00	0,00
<b>ITS-MATK-PSBA-NDHF</b>	0,00	0,13	0,87	0,00	0,88	0,13
<b>ITS-MATK-PSBA</b>	0,00	0,13	0,87	0,00	0,88	0,13
<b>ITS-MATK</b>	0,00	0,11	0,89	0,00	1,00	0,00
<b>ITS-PSBA-NDHF</b>	0,00	0,06	0,94	0,00	1,00	0,00
<b>MATK-NDHF-ITS</b>	0,00	0,21	0,79	0,00	1,00	0,00
<b>MATK-PSBA</b>	0,13	0,07	0,80	0,00	0,88	0,13
<b>ITS-PSBA</b>	0,22	0,06	0,72	0,00	1,00	0,00
<b>MATK-NDHF</b>	0,21	0,05	0,74	0,00	1,00	0,00
<b>ITS-NDHF</b>	0,16	0,06	0,74	0,03	1,00	0,00
<b>PSBA-NDHF</b>	0,33	0,00	0,67	0,00	1,00	0,00

## DISCUSSÃO

A presença do “nó inflado” no caule é o primeiro caráter distintivo citado para os etnotaxa (Oliveira et al. 2018, Monteles 2020). Devido esse caráter do “nó inflado” e “não inflado” poder interferir nos resultados, de modo a causar uma classificação



tendenciosa, optou-se por retirá-los das análises morfo-anatômicas. Até porque, são citadas e observadas com frequência, plantas híbridas, morfologicamente intermediárias que surgem espontaneamente em áreas com cultivos de vários etnotaxa. Assim, os resultados da PCA, do Modelo Misto Gaussiano e da PEMANOVA sustentam a possibilidade de existirem os seis grupos morfológicos testados: Arara, Caupuri, Ourinho, Pajezinho, Quebrador e Tucunacá, mesmo sem considerar os nós (Anexo 5).

Gates (1982) afirma que a variação morfológica encontrada nas exsiccatas de *B. caapi* não sustentaria o reconhecimento de outras espécies, de modo que possivelmente estas plantas seria uma etnoclassificação das variações químicas. As exsiccatas analisadas por Gates (1982) em sua maioria, eram de plantas cultivadas por grupos indígenas da região Amazônica. Monteles (2020) mostrou que, para a caracterização e classificação do cipó no Santo Daime, são usadas características relacionadas à forma do caule, às características do chá e, aos efeitos da bebida. O autor traz uma etnoclassificação para *B. caapi* onde registra 11 “variedades”, das quais seis correspondem aos mesmos etnotaxas estudados, distribuídas em três “famílias”. O Arara, o Caupuri e o Ourinho são as “famílias” e cada qual, possuem “variedades”.

As características do chá resultante são importantes na etnoclassificação dos cipós utilizados no preparo da Ayahuasca (Callaway & Grob 1998, Callaway et al. 1999, McKenna 2002, McKenna & Riba 2015, Monteles 2020). Monteles (2020) explica que o cipó é o componente do chá responsável pela “força” e as folhas (*Psychotria* spp. ou *Diplopterys cabrerana*) pela luz. Dependendo do etnotaxa do cipó utilizado, mudam a cor, o sabor, a viscosidade e a “força” do chá. Chás provenientes do Caupuri, segundo vários relatos e em Monteles (2020), tem mais “força”.

Nesse sentido, Santos et al. (2020) analisaram as concentrações de betacarbolinas de 159 amostras de *B. caapi* oriundos de diversas religiões Ayahuasqueiras do Brasil, de distintos etnotaxa. Não encontraram padrão que justificassem a diferença de “força” entre os etnotaxa de *B. caapi* se baseados apenas na concentração de betacarbolinas instigando investigações que busquem a caracterização dos princípios ativos que causam esses efeitos.

O fato dos etnotaxa de *B. caapi* serem reconhecidos com certa facilidade e das plantas serem facilmente cultivadas leva-nos a pensar haver algum nível de domesticação da espécie, conforme pensava Gates (1982). Pickersgill (2007) comenta que a domesticação é o ponto final do continuum da exploração de uma planta selvagem, isto é, ao final do processo têm-se uma planta com características

morfológicas fixadas, selecionadas pelo homem, e diferenças genéticas entre o indivíduo selvagem (progenitor) e o indivíduo cultivado. As plantas propagadas vegetativamente e culturas de frutas perenes exibem menos características de plantas domesticadas, bem como a domesticação pode ocorrer mais lentamente (Pickersgill 2007, Miller & Gross 2011).

Para Clement (1999) segundo o grau de mudança de uma população no processo de domesticação, as populações em domesticação podem ser classificadas em: selvagem, incidentalmente coevoluído, incipientemente domesticado, semi-domesticado, domesticado, *Landrace*, cultivar moderno. Segundo esta classificação os espécimes de *B. caapi* se encaixam na categoria de plantas semi-domesticadas, visto que possuem seleção e intervenção humana no mínimo gerenciada, a variância fenotípica pode ser maior do que a da população selvagem. Com tipos comuns na população selvagem e tipos novos, a variabilidade genética tende a diminuir devido a menos indivíduos atenderem aos critérios de seleção. Além disso, os indivíduos conseguem sobreviver em ambiente natural sem intervenção humana, visto que os indivíduos retêm adaptabilidade ecológica suficiente.

O sequenciamento genético de região nuclear (ITS) e plastidiais (*trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *trnK*, *rpL32-trnL*, *ndhF*) foram realizadas a fim de identificar a possibilidade de existir outra(s) espécie(s) imersa na circunscrição de *B. caapi*, e para explicar essas variações na morfologia e nas características do chá. No entanto, as análises de Meier's Best Close Match, BarcodeGap, Species Monophyly Neighbor Joining e Rosenberg's probability of reciprocal monophyly mostraram que não existe diferença no genótipo. Assim, todos os etnotaxa analisados aqui são *B. caapi*, pois ao nível molecular ainda não é possível encontrar diferenças que a colocam como outra espécie.

O uso do DNA Barcode, é uma ferramenta eficaz na identificação de espécies de Rosaceae, *Carex* L. (Cyperaceae), *Parnassia* L. (Parnassiaceae), plantas vasculares do Canadá (Starr et al. 2009, Pang et al. 2011, Yang et al. 2012, Braukmann et al. 2017) e outras. No trabalho de Chen et al. (2015) com o gênero *Curcuma* L. (Zingiberaceae), uma planta amplamente utilizada e com ausência de caracteres morfológicos nítidos que distinguem as espécies, não foi possível discriminar molecularmente as amostras do estudo, sugerindo o desenvolvimento de marcadores mais variáveis para encontrar diferença no genoma. O mesmo padrão é apresentado por *B. caapi*, já que ainda não é possível diagnosticar, ao nível molecular, a distinção intraespecífica.

Luz (2019) desenhou 10 pares de *primers* para *B. caapi* entre os quais, dois marcadores nucleares foram utilizados para as análises de diversidade genética. A autora realizou as refinadas análises GMYC – *generalized mixed Yule coalescent* e bGMYC – implementação bayesiana do GMYC (Fujisawa & Barraclough 2013), de delimitação de espécies/ linhagens, usando um marcador cloroplastidial (*matK*) e um marcador nuclear (ITS). O marcador nuclear ITS recuperou 12 linhagens genéticas e a autora considera-as como espécies não confirmadas e comenta, que as linhagens estão relacionadas às regiões geográficas amazônicas.

Um caminho para entender e explicar essa variação no fenótipo entre os etnotaxas de *B. caapi*, que não é encontrada em seu genótipo, é a hibridização (Rieseberg et al. 2007, Abbott et al. 2013, Schley et al. 2021). Miller & Gross (2011) afirmam que a hibridização intra e interespecífica é um dos fatores que influenciam na formação da quantidade e estrutura da variação genética neutra de plantas cultivadas.

A variação fenotípica em amplitude ecológica, pode influenciar na evolução de novas linhagens (Schley et al. 2021). Neste sentido, Luz (2019) encontrou uma relação entre as linhagens e sua distribuição geográfica. Segundo Monteles (2020) os etnotaxas de *B. caapi* apresentam um padrão geográfico, onde na porção ocidental da Amazônia brasileira (Acre, região sudeste do Amazonas) ocorrem os cipós de caule liso dos etnotaxa Arara, Ourinho e Tucunacá. Enquanto na porção da Amazônia central (estado do Amazonas), ocorrem Pajezinho e Quebrador e cipós relacionados de caule liso. Por fim, na porção da Amazônia oriental brasileira ocorre o cipó com caule com nós inflados, denominados Caupuris.

Pensando nas bacias dos gigantes rios amazônicos, é fácil supor não haver troca gênica entre as populações e que, etnias distintas poderiam estar mantendo seus cultivos a partir de matrizes distintas de *B. caapi*. Tratando-se de uma espécie cultivada uma explicação viável para explicar essa diversidade fenotípica é a de que esteja ocorrendo um processo de domesticação.

Consideramos que os etnotaxa utilizados pelas comunidades Ayahuasqueiras brasileiras analisados neste estudo fazem parte da circunscrição de *B. caapi*. As comunidades na busca pela autossuficiência na disponibilidade das plantas sagradas, estão selecionando linhagens semi-domesticadas.

## LITERATURA CITADA

- Abbott R, Albach D, Ansell S, Arntzen JW, Baird SJ, Bierne N, ... Zinner D. 2013. Hybridization and speciation. *Journal of evolutionary biology*, 26: 229-246. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02599.x>
- Albuquerque, MBB. 2012. Modalidades de uso e saberes do cipó Cabi. *Saeculum* 27: 195-213.
- Anderson, WR, Davis, CC. 2006. Expansion of *Diplopterys* at the expense of *Banisteriopsis* (Malpighiaceae). *Harvard Papers in Botany* 11: 1–16. [https://doi.org/10.3100/1043-4534\(2006\)95\[1:EODATE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3100/1043-4534(2006)95[1:EODATE]2.0.CO;2)
- Anderson, WR, Davis, CC. 2007. Generic adjustments in neotropical Malpighiaceae. *Contributions from the University of Michigan Herbarium* 25:137–166.
- Behrens, CSB, Avanzi, MR, Sonsin, J, Oliveira, RC. 2016. Knowledge dialogues ethno-classification of *Banisteriopsis caapi* and formal Taxonomy. *Anais da 2ª Conferência Mundial de Ayahuasca*.
- Braukmann, TW, Kuzmina, ML, Sills, J, Zakharov, EV, Hebert, PD. 2017. Testing the efficacy of DNA barcodes for identifying the vascular plants of Canada. *PLoSone*, 12:1-e0169515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169515>
- Cadena CD, Zapata F, Jiménez I. 2018. Issues and perspectives in species delimitation using phenotypic data: Atlantean evolution in Darwin's Finches. *Systematic Biology* 67: 181–194 <https://doi.org/10.1093/sysbio/syx071>
- Callaway JC, Grob CS. 1998. Ayahuasca preparations and serotonin reuptake inhibitors: a potential combination for severe adverse interactions. *Journal of Psychoactive Drugs* 30: 367–369. <https://doi.org/10.1080/02791072.1998.10399712>
- Callaway, JC, McKenna, DJ, Grob, CS, Brito, GS, Raymon, LP, Poland, RE,..., Mash, DC. 1999. Pharmacokinetics of Hoasca alkaloids in healthy humans. *Journal of ethnopharmacology*, 65: 243-256. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00168-8](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00168-8)
- Chartier, M, Jabbour, F, Gerber, S, Mitteroecker, P, Sauquet, H, von Balthazar, M, ... Schoenenberger, J. 2014. The floral morphospace—a modern comparative approach to study angiosperm evolution. *New Phytologist* 204: 841-853. <https://doi.org/10.1111/nph.12969>
- Chartier M, Löfstrand S, von Balthazar M, Gerber S, Jabbour F, Sauquet H,

- Schönenberger J. 2017. How (much) do flowers vary? Unbalanced disparity among flower functional modules and a mosaic pattern of morphospace occupation in the order Ericales. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284: 20170066. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0066>
- Carvalho, PD, Rapini, A, Conceição, AA. 2010. Flora da Bahia: Malpighiaceae: *Banisteriopsis*, *Browenia* e *Diplopterys*. *Sitientibus Série Ciências Biológicas*, 10: 158-191. <https://doi.org/10.13102/scb476>
- Chen, J, Zhao, J, Erickson, DL, Xia, N, Kress, WJ. 2015. Testing DNA barcodes in closely related species of *Curcuma* (Zingiberaceae) from Myanmar and China. *Molecular ecology resources*, 15: 337-348. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12319>
- Clement, CR. 1999. 1492 and the loss of Amazonian crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. *Economic Botany*, 53: 188-202. <https://doi.org/10.1007/BF02866498>
- Davis W. 1996. *One river*. Simon & Schuster, New York.
- Davis, CC, Anderson WR. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 97:2031–2048. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000146>
- Diament M, Gomes BR, Tófoli LF. 2021. Ayahuasca and psychotherapy: Beyond integration. In *Ayahuasca Healing and Science* (pp. 63-79). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-55688-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-55688-4_4)
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amount of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11–15.
- Drummond AJ, Ashton B, Cheung M, Heled J, Kearse M, Moir R, Stones-Havas S, Thierer T, Wilson A. 2009. Geneious v.4.7. <http://www.geneious.com> (accessed 2020 Ago 10).
- Francener A, Almeida RF. 2022. *Banisteriopsis* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB8803> . (acesso 06 jun. 2022).
- Frias, UA, Mendes, MCC, Takahashi, JA. 2012. *Banisteriopsis* species: a source of bioactive of potential medical application. *Int J Biotechnol Wellness Ind.* 1: 163-171.
- Frood, A. 2015. Ayahuasca psychedelic tested for depression. *Nature*, <http://dx.doi.org/10.1038/nature.2015.17252>

- Fujisawa T, Barraclough, TG. 2013. Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic biology*, 62: 707-724. <http://dx.doi.org/10.1093/sysbio/syt033>
- Gates B. 1982. *Banisteriopsis*, *Diplopterys* (Malpighiaceae). *Flora Neotropica* 30: 1-237. <https://doi.org/10.13102/scb7958>
- Hammerman, AF. 1930. Le yage en Amazonie. *Revue de Botanique Appliquée et d' Agriculture Tropicale*, 10: 600-604.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.
- Jiménez-Garrido DF, Gómez-Sousa M, Ona G, Dos Santos RG, Hallak JE, Alcázar-Córcoles MÁ, Bouso JC. 2020. Effects of ayahuasca on mental health and quality of life in naïve users: A longitudinal and cross-sectional study combination. *Scientific Reports*, 10: 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61169-x>
- Koch-Grunberg, T. 1923. Von Roraima zum Orinoco. *Ergebnisse einer Reise in Nordbrasilien und Venezuela in den Jahren 1911-1913*. *Unternommen und herausgegeben im Auftrage und mit Mitteln des Baessler-Instituts in Berlin*. Stuttgart, BW: Stecker und Schroder.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Labate, BC. 2000. A reinvenção do uso da ayahuasca nos centros urbanos. *Dissertação de Mestrado*, Universidade de Campinas, São Paulo.
- Langdon, EJ. 1986. Las clasificaciones del yagé dentro del grupo Siona: etnobotánica, etnoquímica e história. *América Indígena* 46:101-116.
- Luz TZ. 2019. Caracterização genética de *Banisteriopsis* cf. *caapi* (Spruce ex Griseb.) CV Morton (Malpighiaceae), um cipó utilizado no preparo do chá ayahuasca. *Dissertação de Mestrado*, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- Mckenna, D. 2002. "Ayahuasca: uma história etnofarmacológica". In: METZNER, Ralfh (org.). *Ayahuasca: alucinógenos, consciência e o espírito da natureza*. Tradução de Márcia Frazão. Rio de Janeiro: Gryphus, p. 174.

- McKenna, D, Riba, J. 2015. New World Tryptamine Hallucinogens and the Neuroscience of Ayahuasca. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* [https://doi.org/10.1007/7854\\_2016\\_472](https://doi.org/10.1007/7854_2016_472)
- Mehta, RS, Rosenberg, NA. 2019. The probability of reciprocal monophyly of gene lineages in three and four species. *Theoretical population biology* 129: 133-147. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2018.04.004>
- Miller, AJ, Gross, BL. 2011. From forest to field: perennial fruit crop domestication. *American Journal of Botany* 98: 389-1414. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000522>
- Monteles RAR. 2020. "Eu venho da Floresta": a sustentabilidade das plantas sagradas amazônicas do Santo Daime. Tese de doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Morales-García JA, de la Fuente Revenga M, Alonso-Gil S, Rodríguez-Franco MI, Feilding A, Perez-Castillo A, Riba J. 2017. The alkaloids of *Banisteriopsis caapi*, the plant source of the Amazonian hallucinogen Ayahuasca, stimulate adult neurogenesis in vitro. *Scientific reports*, 7: 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05407-9>
- Müller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2006. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. LA, New Orleans, p.1 – 8.
- Naranjo, P. 1986. El ayahuasca em La arqueologia ecuatoriana. *América Indígena* 46: 117–127.
- Niedenzu, F. 1928. Malpighiaceae. In A. Engler (Ed.), *Das Pflanzenreich: regni vegetabilis conspectus* (pp. 1-870). Leipzig, ST: W. Engelmann.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre RP, McGlenn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H. 2019. *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-6. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Oliveira, RC, Fagg, CW, Labate, B, Sonsin-Oliveira, J. 2018. The urgent need to review the botanical classification of the Ayahuasca vine. Disponível em <https://chacrana.net/urgent-botanical-classification-ayahuasca/> (accessed 2 Set 2020).
- Oliveira RC, Sonsin-Oliveira J, Santos TAC, Simas e Silva M, Fagg CW, Sebastiani R. 2020. Lectotypification of *Banisteriopsis caapi* and *B. quitensis* (Malpighiaceae), names associated with an important ingredient of Ayahuasca.

- Taxon, 70: 185-188. <https://doi.org/10.1002/tax.12407>
- Oliveira RC, Behrens CS, Nagamine-Pinheiro N, Fagg FC, Silva MS, Martins-Silva T, Sonsin-Oliveira J. 2021. Ethnobotany and wood anatomy of *Banisteriopsis caapi* ethnobotany and *Diplopterys* cf. *pubipetala*, components of Ayahuasca in Brazilian rituals. Economic Botany. No prelo.
- Paithankar KR, Prasad, KSN. 1991. Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol. Nucleic Acids Research 19: 1346. <https://doi.org/10.1093/nar/19.6.1346>
- Pickersgill B. 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. Annals of botany 100: 925-940. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm193>
- Powo 2022. "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (accessed 2022 Ago 09).
- Radford, AE, Dickison, WC, Massey, JR, Bell, CR, col. 1974. Vascular Plants Systematics. New York, Harper & Row.
- Rieseberg LH, Kim SC, Randell RA, Whitney KD, Gross BL, Lexer C, Clay K. 2007. Hybridization and the colonization of novel habitats by annual sun flowers. Genetica 129: 149-165. <https://doi.org/10.1007/s10709-006-9011-y>
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4: 406-425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Santos BWL, Oliveira RCD, Sonsin-Oliveira J, Fagg CW, Barbosa JBF, Caldas ED. 2020. Biodiversity of  $\beta$ -Carboline Profile of *Banisteriopsis caapi* and Ayahuasca, a Plant and a Brew with Neuropharmacological Potential. Plants 9: 870-884. <https://doi.org/10.3390/plants9070870>
- Schley RJ, Twyford AD, Pennington RT. 2021. Hybridization: a 'double-edged sword' for Neotropical plant diversity. Botanical Journal of the Linnean Society 199: 331-356. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boab070>
- Schultes, RE. 1982. The beta-carboline Hallucinogens of South America. Journal of psychoactive drugs 14: 205-220. <https://doi.org/10.1080/02791072.1982.10471930>
- Schultes, RE. 1986. El desarrollo histórico de La identificación de las malpigiáceas empleadas como alucinógenos. América Indígena 46: 9-47.
- Schultes, RE. 2001. Plants of the gods: their sacred, healing, and hallucinogenic



- Powers. Rochester, Vermont: Healing Arts Press.
- Scrucca L, Fop M, Murphy TB, Raftery AE. 2016. “mclust 5: clustering, classification and density estimation using Gaussian finite mixture models.” *The R Journal* 8: 289–317. <https://doi.org/10.32614/RJ-2016-021>
- Scrucca L, Raftery AE. 2018. clustvarsel: A Package Implementing Variable Selection for Gaussian Model-Based Clustering in R. *Journal of Statistical Software* 84: 1–28. <https://doi.org/10.18637/jss.v084.i01>
- Spruce, R. 1908. Notes of a Botanist on the Amazon and Andes In: Wallace, A.R. (Ed.). London: Macmillan.
- Starr, JR, Naczi, RF, Chouinard, BN. 2009. Plant DNA barcodes and species resolution in sedges (*Carex*, Cyperaceae). *Molecular Ecology resources* 9:151-163. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02640.x>
- Yang, JB, Wang, YP, Moeller, M, Gao, LM, Wu, D. 2012. Applying plant DNA barcodes to identify species of *Parnassia* (Parnassiaceae). *Molecular Ecology Resources* 12: 267-275. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03095.x>

## ANEXOS

### Anexo um.

Tabela 1. Estado dos caracteres dos descritores morfológicos das folhas e anatômicos do caule analisados nos etnotaxas de *B. caapi*. Char 1. Forma do nó: (0) com nó (1) sem nó; char 2. Comprimento do pecíolo (cm); char 3. Glândulas no pecíolo: (0) ausente (1) presente; char 4. Comprimento da lâmina foliar (cm); char 5. Largura da lâmina foliar (cm); char 6. Área foliar; char 7. Forma da folha: (0) elíptica (1) ovada (2) amplamente ovada; char 8. Base da folha: (0) cuneada (1) obtusa (2) truncada; char 9. Ápice da folha: (0) acuminado (1) curto acuminado (2) longo acuminado; char 10. Pontuações de vaso: Forma e tamanho iguais (0) Arredondadas (1); char 11. Parênquima axial com bandas largas: Presente (0) Ausente (1); char 12. Tilos nos vasos (0) pouco (1) muito; char 13. Fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: (0) sim (1) não; char 14. Parênquima axial: (0) Bandas curtas (1) Bandas grandes; char 15. Raio: (0) 1-3 células (1) mais de 6 células; char 16. Altura do raio: maior que 1mm (0) ausente (1); char 17. Cristais prismáticos nas células do raio: (0) ausente (1) presente; char 18. Drusas na região axial do floema: (0) ausente (1) presente; char 19. Drusa no raio do parênquima: (0) ausente (1) presente.

Coletor	nº de col	Etotaxa	char1	char2	char3	char4	char5	char7	char8	char9	char 10.	char 11.	char 12.	char 13.	char 14.	char 15.	char 16.	char 17.	char 18.	char 19.
<b>RCO</b>	3397	Arara	1	3.1	0	12.6	6.27	1	0	2	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1
<b>TACS</b>	86	Arara	1	1.6	0	17.34	7.64	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1
<b>SC</b>	SN	Arara	1	1.57	0	12.17	5.27	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1
<b>SC</b>	SN	Caboquim	1	2.48	0	13.75	7.34	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<b>RCO</b>	3697	Caupuri	0	1.48	0	13.94	6.02	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3684	Caupuri	0	2.78	0	15.78	7.46	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	47	Caupuri	0	1.83	NA	12.54	5.8	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	38	Caupuri	0	1.88	1	13.72	7.38	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	42	Caupuri	0	1.54	1	12.64	5.42	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3680	Caupuri	0	2.32	1	13.06	5.6	0	0	2	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3712	Caupuri	0	2.33	1	16.4	6.87	0	1	2	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0

<b>CSB</b>	37	Caupuri	0	1.8	1	13.8	7.48	0	1	2	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	43	Caupuri	0	1.18	1	9.83	4.55	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3698	Caupuri	0	2.38	1	13.14	5.83	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3682	Caupuri	0	2.16	0	13.18	6.06	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	29	Caupuri	0	1.15	1	14.2	6.5	2	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3150	Caupuri	0	1.48	0	10.5	5.3	2	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3449	Caupuri	0	1.3	0	10.5	5.23	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3430	Caupuri	0	1.7	1	11.2	7.2	2	0	2	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3521	Caupuri	0	2	0	13.6	7	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3031	Caupuri	0	2.07	0	16.76	9.63	2	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3448	Caupuri	0	1.22	0	12.98	5.98	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3554	Caupuri	0	0.93	0	13.5	6.63	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3794	Caupuri	0	1.95	0	17.63	7.8	1	0	2	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	34	Caupuri	0	1.5	1	16.8	7.8	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	35	Caupuri	0	1.24	0	12.4	5.55	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3786	Caupuri	0	1	1	12	6	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3783	Caupuri	0	1	0	12	5.63	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>TACS</b>	88	Caupuri	1	2.06	0	14.77	7.61	2	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>TACS</b>	87	Caupuri	0	1.22	1	15.24	7.35	2	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3783	Caupuri	0	0.83	0	12	5.73	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3786	Caupuri	0	0.98	1	12.15	5.4	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3554	Caupuri	0	0.83	1	13.01	6.37	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3521	Caupuri	0	2	0	13.6	7	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>TACS</b>	63	Caupuri	0	1.68	0	16.45	8.13	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	SN	Caupuri	0	1.85	1	15.2	6.17	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	33	Caupuri	0	1.33	0	12.55	6.88	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0

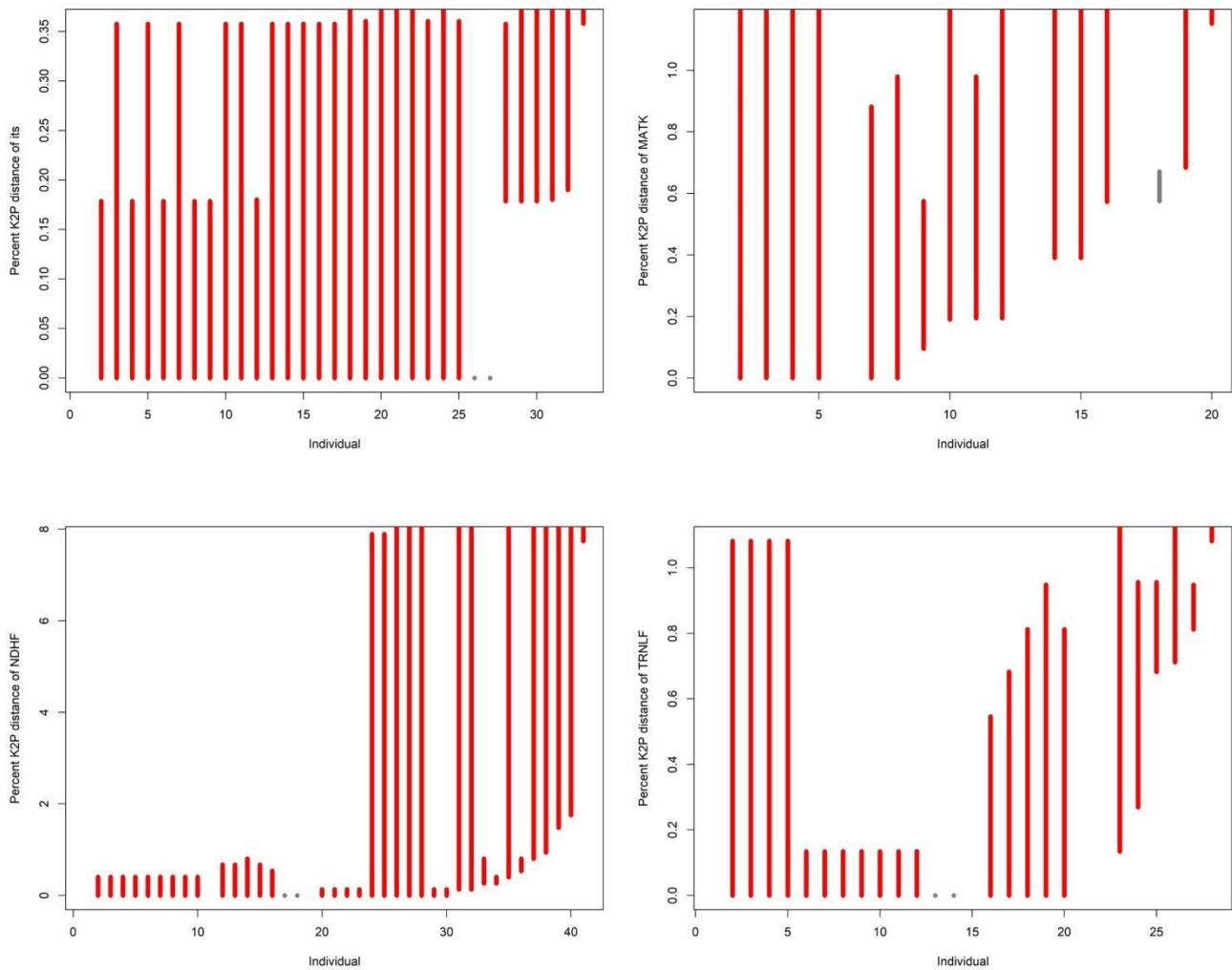
<b>CSB</b>	28	Caupuri	0	0.87	1	13.6	7.47	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>CSB</b>	34	Caupuri	0	1.5	1	16.5	7.7	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3494	Gema de ovo	1	1.58	0	14.18	7.34	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3623	Híbrido	1	1.65	1	14.6	7	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>CSB</b>	3620	Ourinho	1	2.04	0	13.84	6.67	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>CSB</b>	39	Ourinho	1	1.89	0	14.06	5.65	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>RCO</b>	SN	Ourinho	1	1.79	1	15.14	7.59	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>RCO</b>	3621	Ourinho	1	1.98	0	13.02	7.28	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>RCO</b>	3619	Ourinho	1	1.74	0	13.07	7.29	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>RCO</b>	3334	Ourinho	1	1.3	0	12.8	6.3	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>TACS</b>	83	Ourinho	1	1.46	0	12.68	7.14	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>RCO</b>	3446	Ourinho	1	1.22	0	14.38	7.04	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>RCO</b>	3400	Ourinho	1	1.5	0	15.5	8.3	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>RCO</b>	3395	Ourinho	1	1.5	0	11.04	6.45	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>Rco</b>	3501	Ourinho	1	1.6	0	13.04	6.04	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
<b>CSB</b>	41	Pajezinho	0	1.18	0	12.34	6.72	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3433	Pajezinho	1	1.52	0	13.61	6.06	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3394	Pajezinho	1	1.5	0	13	6.3	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3658	Pajezinho	1	0.97	0	11.09	4.98	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>CSB</b>	26	Pingo de ouro	1	1.5	1	14.5	8	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3553	Quebrador	1	1.1	0	11.1	5.5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3514	Quebrador	1	0.9	0	9.35	4.4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3528	Quebrador	1	1.2	1	13.45	6.4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>CSB</b>	25	Quebrador	1	1.86	0	10.5	4.23	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>CSB</b>	27	Quebrador	1	1.35	1	12.6	6.85	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

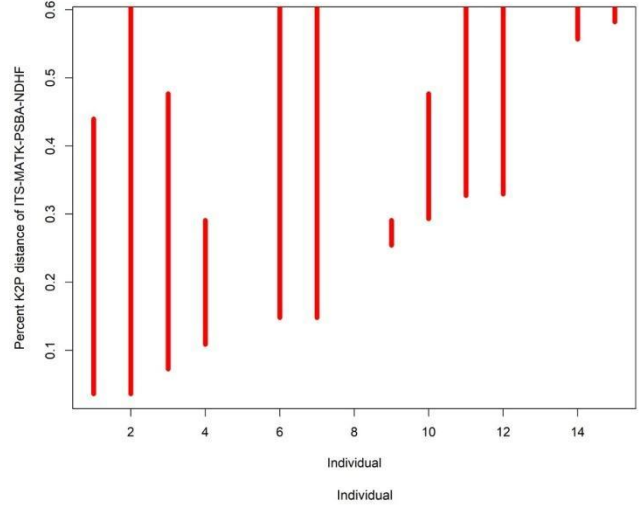
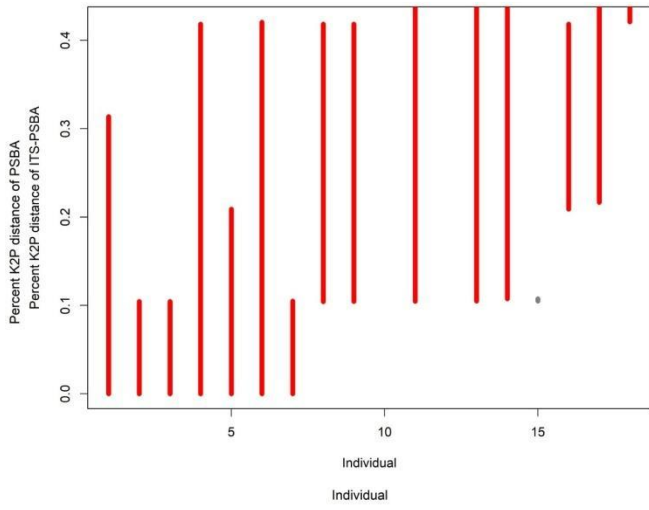
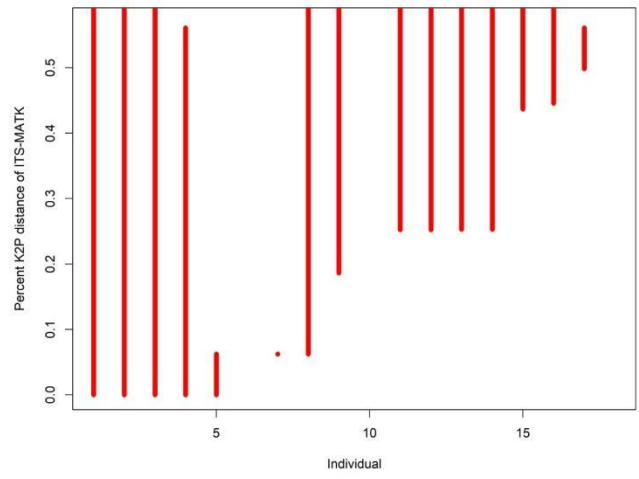
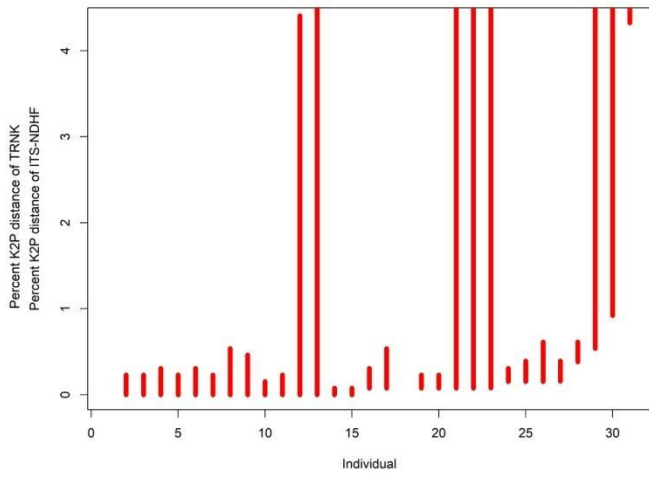
<b>RCO</b>	3622	Quebrador	1	1.34	0	12.02	5.08	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3490	Tucunaca	1	1.75	0	14.65	7.31	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3702	Tucunaca	1	1.36	1	14.58	6.08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3707	Tucunaca	1	1.36	0	13.48	5.44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3643	Tucunaca	1	1.98	0	16.72	9.24	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3710	Tucunaca	1	1.33	0	10.87	5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3687	Tucunaca	1	2	0	11	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3677	Tucunaca	1	2.26	0	12.9	5.88	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3689	Tucunaca	1	2.3	0	11	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3709	Tucunaca	1	1.9	0	13.12	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3674	Tucunaca	1	2.27	0	13.63	5.88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3326	Tucunaca	1	2.1	0	12.03	5.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3598	Tucunaca	1	1.55	0	11.25	5.45	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>CSB</b>	36	Tucunaca	1	2.63	0	16.93	8.3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3508	Tucunaca	1	1.8	0	14.43	7.6	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3518	Tucunaca	1	1.39	0	15.08	6.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>TACS</b>	60	Tucunaca	1	1.62	0	14.72	6.86	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3517	Tucunaca	1	1.25	0	13.96	4.4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3370	Tucunaca	1	1.25	0	13.85	7.63	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3550	Tucunaca	1	2.1	0	16.74	9.34	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3551	Tucunaca	1	1.18	1	11.53	6.47	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3216	Tucunaca	1	1.8	0	13.8	5.95	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3520	Tucunaca	1	1.43	1	11.85	5.1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3798	Tucunaca	1	1.27	0	10.47	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3797	Tucunaca	1	1.5	1	14.93	6.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>RCO</b>	3503	Tucunaca	1	2	1	14.8	7.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

<b>CSB</b>	30	Tucunaca	1	1.45	0	11.05	4.45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>CSB</b>	24	Tucunaca	1	1.95	0	11.37	5.5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>TACS</b>	64	Tucunaca	1	1.3	1	13.93	6.68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<b>ADS</b>	3	Cupuri	0	1.5	1	17.2	10.2	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>TACS</b>	85	Caupuri rosário	0	2.33	0	18.2	8.38	0	2	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<b>TACS</b>	78	Cupuri	0	1.78	1	15.7	8.92	0	2	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0

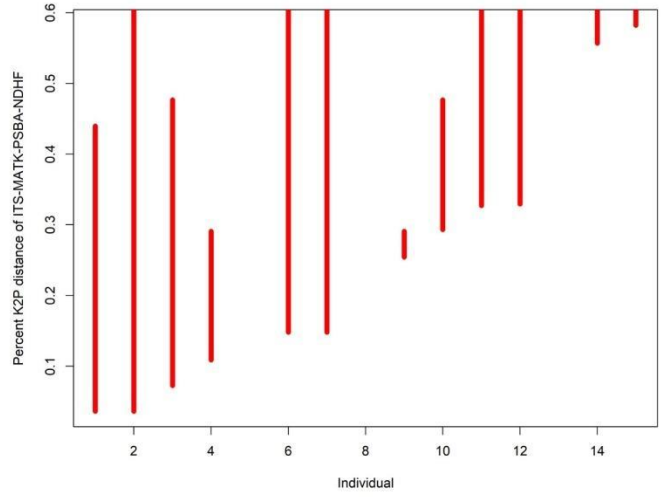
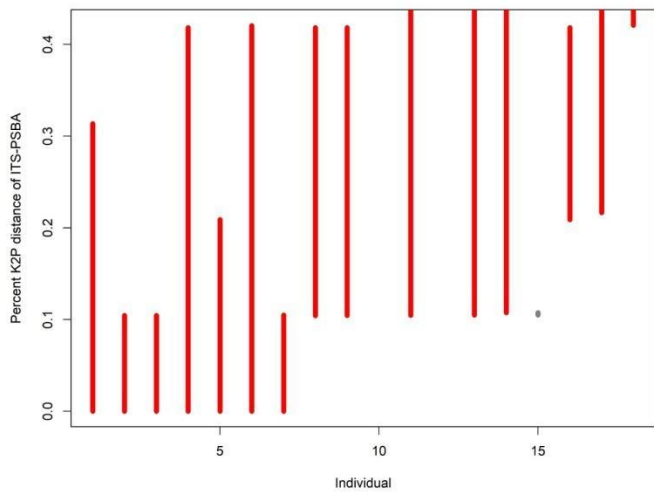
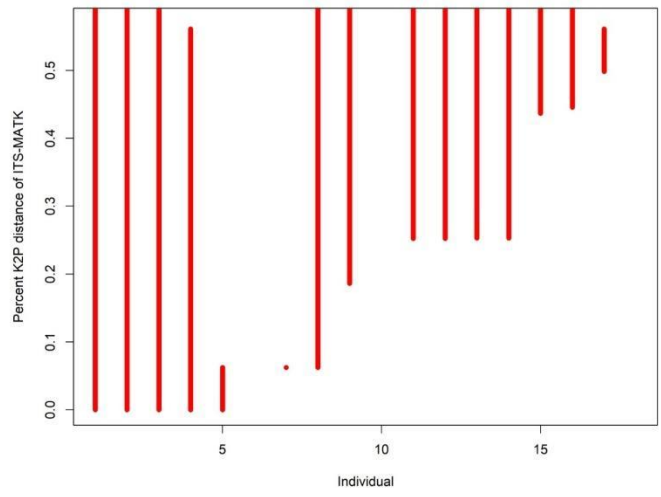
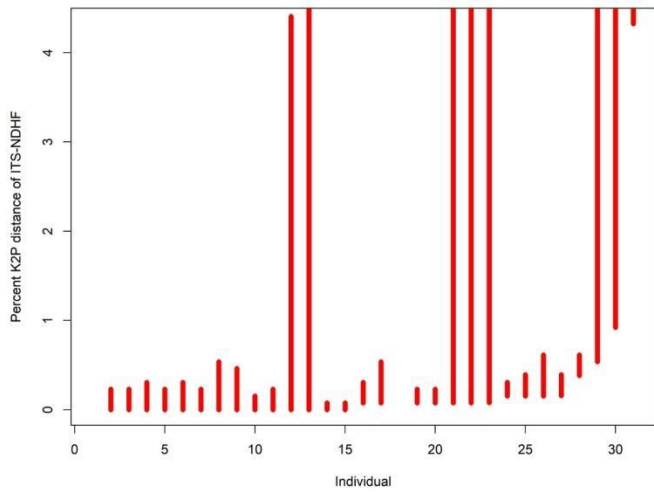
## Anexo dois.

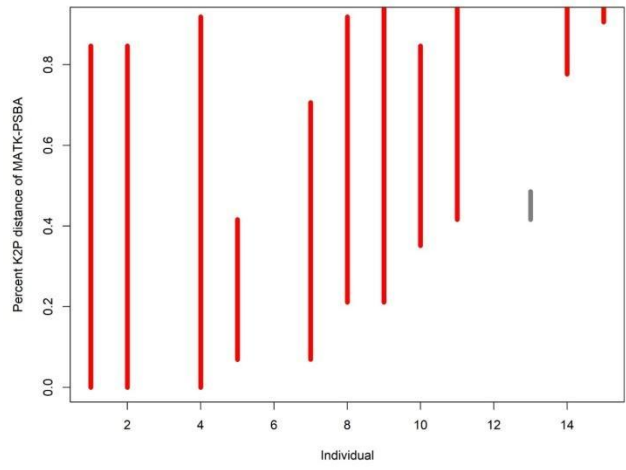
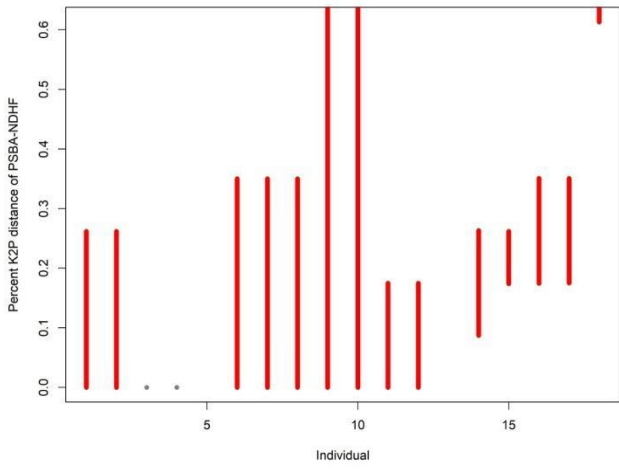
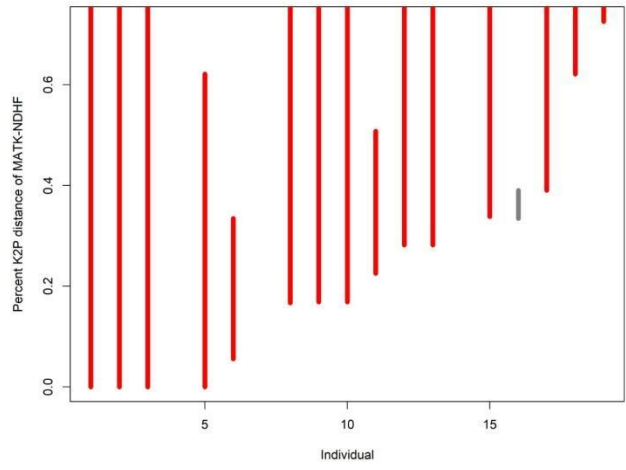
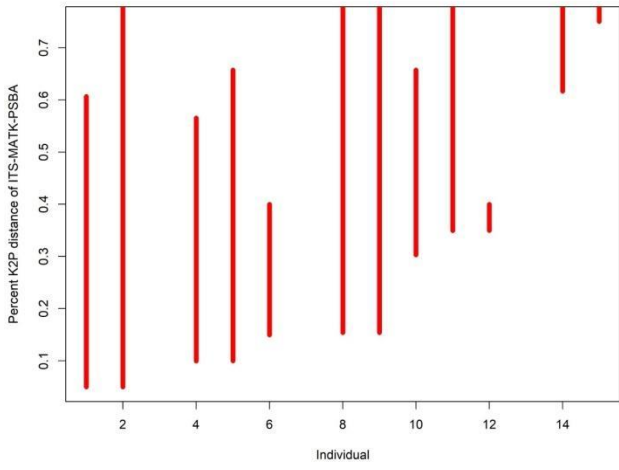
Figura 1. Gráficos da análise de Barcode Gap mostrando nenhuma diferença entre os etnotaxas, já que as barras estão todas vermelhas, caso estivessem cinzas mostraria alguma variação.





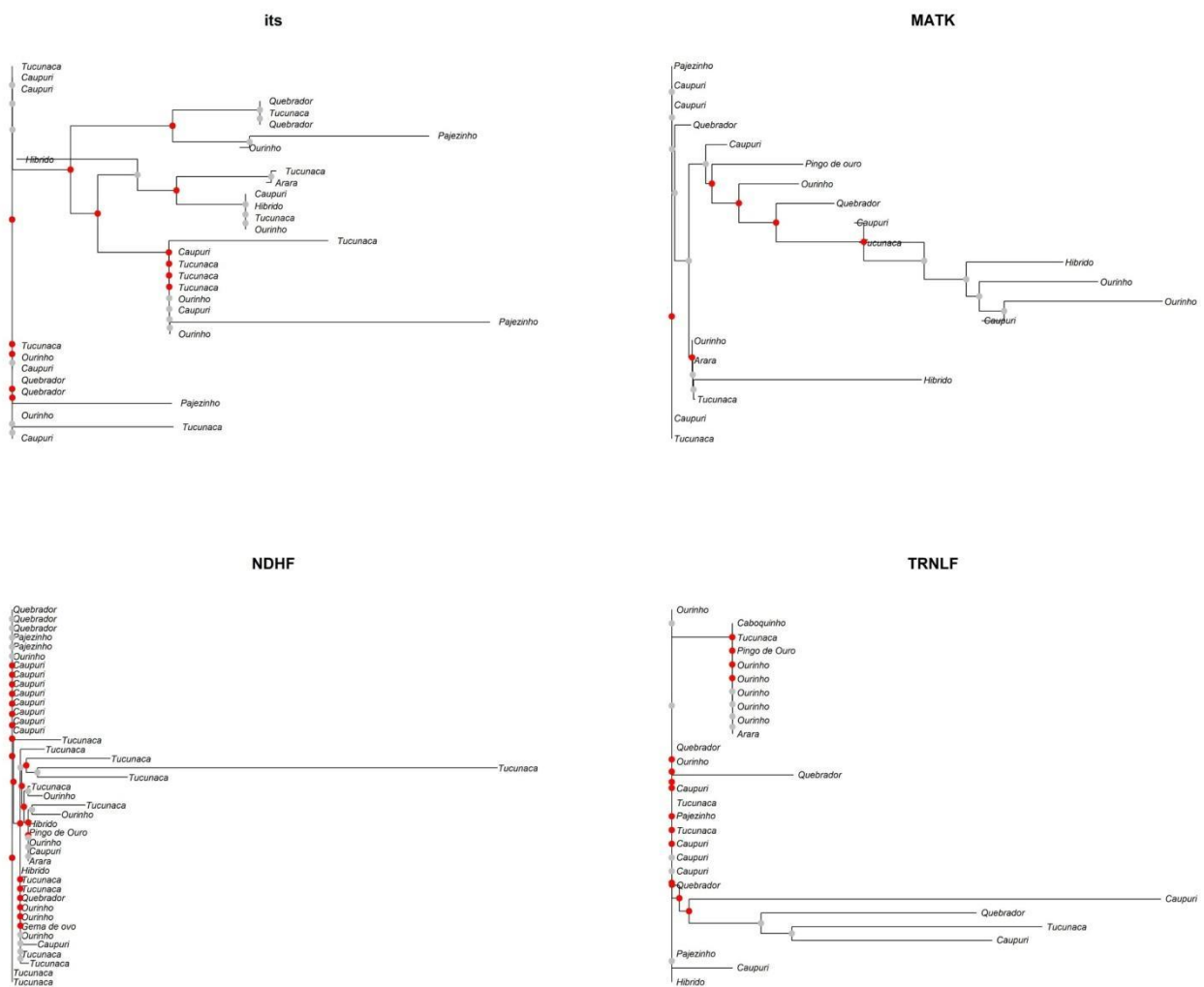




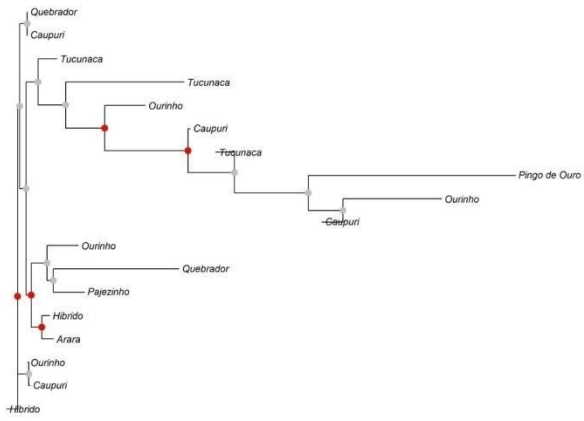


### Anexo três.

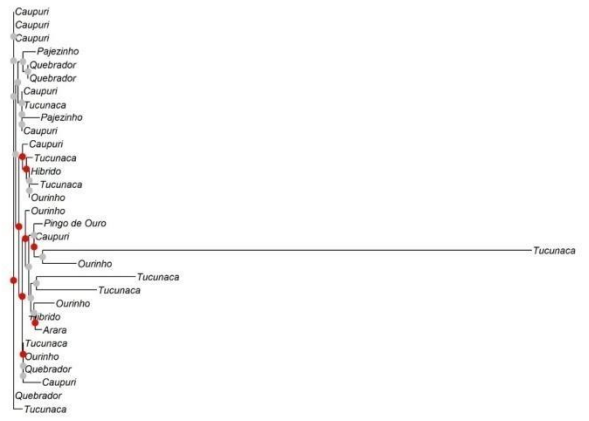
Figura 1. Árvores resultantes da análise de Rosenberg's probability of reciprocal monophyly. Os pontos vermelhos indicam grupos estatisticamente significativos. Os cinzas indicam o contrário e que seria necessário melhor amostragem para aquele grupo.



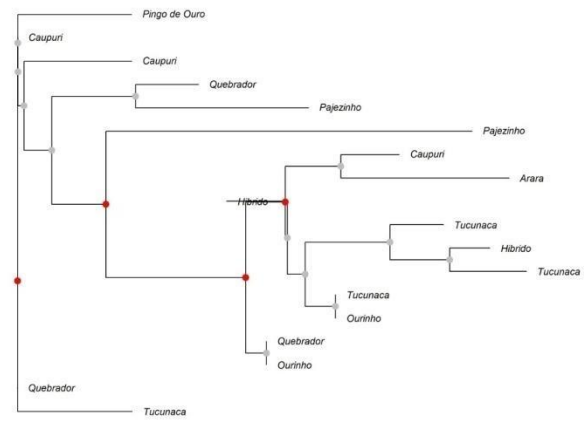
ITS-MATK



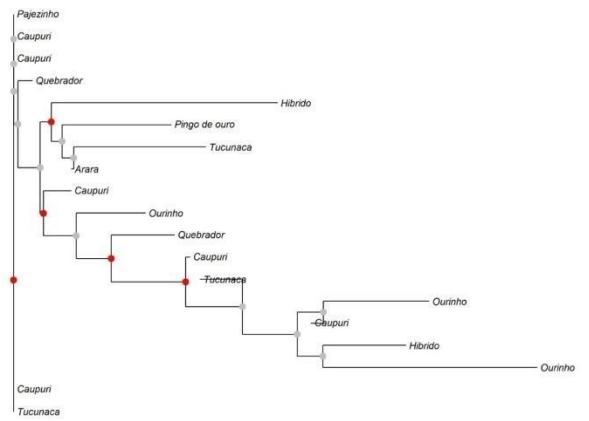
ITS-NDHF



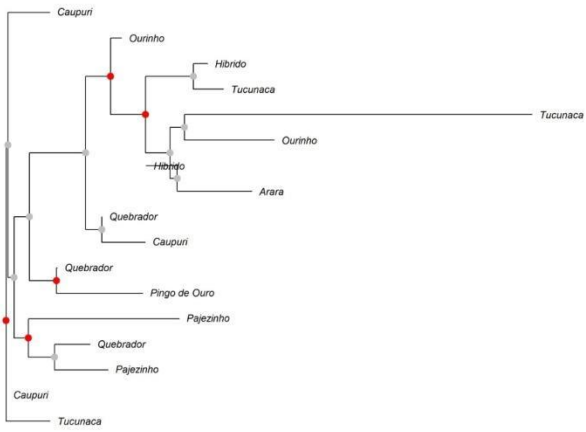
ITS-PSBA



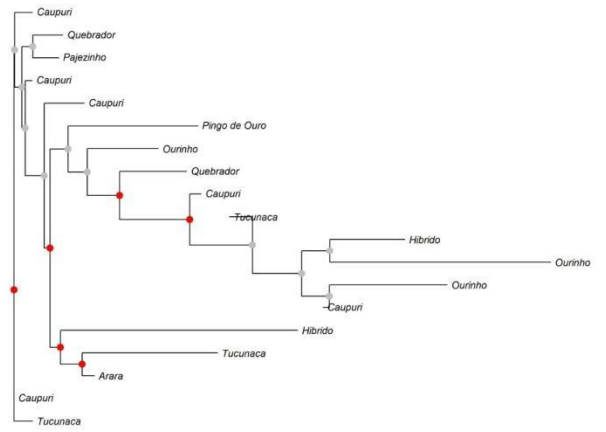
MATK-NDHF



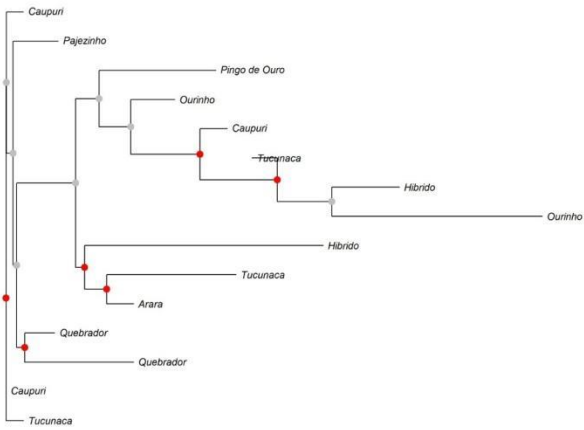
ITS-PSBA-NDHF



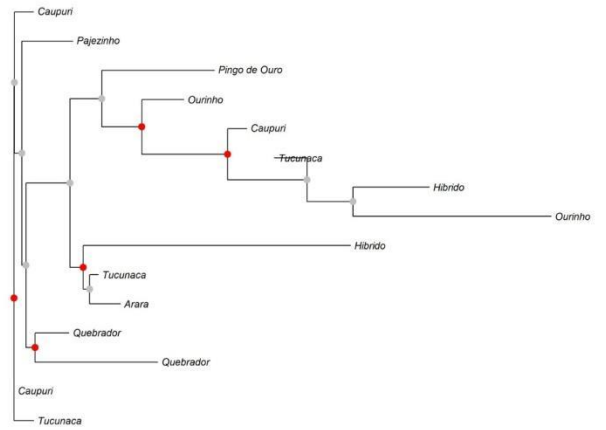
MATK-NDHF-ITS



ITS-MATK-PSBA-NDHF



ITS-MATK-PSBA



## Anexo quatro.

Tabela mostrando a origem das amostras.

Tabela 6. Amostras analisadas: voucher, espécie/ etnotaxa, local de coleta, origem. Coletor: RCO= R.C. Oliveira; ADS= A.D. Silveira; CSB = C. S. Behrens; CWF= C.W. Fagg, TACS = T. A. C. Santos.

Voucher	Espécie/ Etnotaxa	Estado	Município	Local de coleta	Origem	Descrição da planta, hábito, flor, fruto, etc
<b>RCO 3397</b>	<i>B. caapi</i> / Arara	AC	Rio Branco	Rua Irineu Serra	Nativa	Cipó volúvel, dextrógiro, lenhoso, entrecasca avermelhada, cultivado para produção do chá Ayahuasca. Possui nós levemente pronunciados.
<b>TACS 86</b>	<i>B. caapi</i> / Arara	RJ	Petrópolis	Propriedade particular, casa do Alceo, Condomínio Quinta do Lago, Bairro Arara, Itaipava, BR-040	Cultivada	Liana, planta com folhas grossas, alongada, nervura principal bem amarelo; chá amarelo, muito amargo.
<b>TACS 78</b>	<i>B. caapi</i> /Caupuri-Spruce	RJ	Petrópolis	Propriedade particular, casa do Marcelo, Condomínio Quinta do Lago, Bairro	Cultivada	Liana, com nós ovalados, cumpridos, com a idade os nós podem ficar mais redondos.

					Arara, Itaipava, BR- 040		
<b>TACS 85</b>	<i>B. caapi</i> rosário	/Cabi	RJ	Petrópolis	Propriedade particular, casa do Alceo, Condominio Quinta do Lago, Bairro Arara, Itaipava, BR-040	Cultivada	Liana, planta com nós muito próximos um do outro, bem cilíndricos, se distanciando no ápice, folha meio arredondada, com muitas nervuras, folhas grossas, casca grossa, entrecasca alaranjado.
<b>TACS 88</b>	<i>B. caapi</i> /Caupuri sem nó		RJ	Petrópolis	Propriedade particular, casa do Alceo, Condominio Quinta do Lago, Bairro Arara, Itaipava, BR-040	Cultivada	Liana, planta parecida com Cabi rosário com folha meio arredondada, com muitas nervuras, folhas grossas, casca grossa, entrecasca alaranjado, mas sem os nós.
<b>TACS 87</b>	<i>B. caapi</i> /Caupuri comum		RJ	Petrópolis	Propriedade particular, casa do Alceo, Condominio Quinta do Lago, Bairro Arara, Itaipava, BR-040	Cultivada	Liana, com folhas lanceoladas.
<b>TACS 63</b>	<i>B. caapi</i> /Caupuri		GO	Alto Paraíso	Fazenda Terra Booma	Cultivada	Cipó com nós, folhas verdes com nervuras amarelas, com flores rosas quando jovens e brancas quando maduras, com frutos.

<b>CSB 42</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	AM	Manaus	Cultivado em centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produzi o chá do Santo Daime. Nós inflados
<b>CSB 43</b>	<i>B.</i> Caupuri	<i>caapi/</i>	AM	Manaus	Cultivado em centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produzi o chá do Santo Daime. Nós inflados.
<b>CSB 38</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	AM	Manaus	Cultivado em centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produzi o chá do Santo Daime. Nós inflados.
<b>CSB 37</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	AM	Manaus	Cultivado em centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produzi o chá do Santo Daime. Nós inflados.
<b>CSB 35</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	DF	Brasília	Núcleu rural do Lago Lago Norte - Condomínio Aspalha. Casa Ilumina.	Cultivada	
<b>CSB 34</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	DF	Brasília	Núcleu rural do Lago Lago Norte - Condomínio Aspalha. Casa Ilumina.	Cultivada	
<b>CSB 33</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	DF	Brasília	Núcleu rural do Lago Lago Norte - Condomínio Aspalha. Casa Ilumina.	Cultivada	
<b>CSB 29</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	DF	Brasília	Núcleu rural do Lago Lago Norte -	Cultivada	



					Condomínio Aspalha. Casa Ilumina.		
<b>CSB 28</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	GO	Planaltina	Bairro Rajadinha. Centro religioso Jardim de Maria.	Cultivada	
<b>CSB 47</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	AM	Manaus	Cultivado em centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produzi o chá do Santo Daime. Nós inflados.
<b>RCO 3684</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	PA	Santa Izabel	À direita da Rodovia PA 140 à partir de Belém, comunidade de Jacoareaquara.	Nativa	Liana crescendo em população densa, que no jargão do Santo Daime é denominada "Reinado".
<b>RCO 3680</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	PA	Santa Izabel	Cultivada para "venda" para a produção de Daime.	Cultivada	Cabi sem nó. Plantas crescendo em terreno baldio com floresta amazônica antropizada. Segundo informante local, ele retirou a muda daquela planta e a cultiva, sendo o caule "quebrador"
<b>RCO 3682</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	PA	Santa Izabel	À direita da Rodovia PA 140 à partir de Belém, comunidade de Jacoareaquara.	Nativa	Cabi sem nó. Liana gigantesca, com mais de 500 kg e grande enraizamento nos nós que tocam o solo. Solo arenoso, plano. Ocorrendo em Floresta Amazônica secundária

							de Terra Firme, formando uma população com muitos indivíduos, que no jargão da religião do Santo Daime, é denominado um "Reinado".
<b>RCO 3697</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	PA	Colares	Vila do Guajará.	Cultivada	Cabi sem nó. Liana lenhosa, volúvel, com nós inflados. Cultivado em quinta contra "mal-olhado" em região de antigos quilombos.
<b>RCO 3698</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	PA	Colares	Vila do Guajará, terreno baldio atrás da capela.	Cultivada	Cabi sem nó. Liana lenhosa com nós inflados, os quais enraizam quando em contato com o solo. Planta com mais de 500 kg, sendo cultivada localmente contra "mal-olhado" e medicinal.
<b>RCO 3150</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	DF		Santo Antônio do Descoberto	Cultivada	Caupuri. Nós dilatados.
<b>RCO 3449</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	GO	Cavalcante	Casa próxima ao Centro Turístico	Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso, com nós inflados e entrenós tipicamente curtos, isto é, nós globosos e próximos.
<b>RCO 3712</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	PA	Belém	Cultivado em centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa volúvel, cultivada para produzir o chá do Santo Daime. Caule formando "trança", com contracasca amarelada.
<b>RCO</b>	<i>B.</i>	<i>caapi</i>	GO	São Gabriel	Sítio Xamã,	Cultivada	Caupuri X Tucunacá.

<b>3430</b>	/Caupuri				próximo ao Posto Advance.		Trepadeira lenhosa cultivada, cipó provavelmente híbrido (Caupuri xTucunacá), nós inflados pouco evidentes e, muitas vezes, ausentes. Acredita-se que surgiu espontaneamente entre as plantas de caule com nós inflados (caupuri) e não inflados (tucunacá).
<b>RCO 3031</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	GO	São Gabriel	Sítio Xamã, próximo ao Posto Advance.	Cultivada	
<b>RCO 3448</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	GO	Cavalcante	Casa próxima ao Centro Turístico.	Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso, com nós inflados e entrenós longos, isto é, com menor número de nós inflados.
<b>RCO 3554</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	DF	Gama	Centro Livre Céu de São Francisco.	Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso, cultivado em mata de galeria antropizado. Utilizado na produção do chá Ayahuasca.
<b>RCO 3620</b>	<i>B. caapi</i>		DF	Planaltina	Núcleo Rural Santos Dumont, Céu Caminho de Luz.	Cultivada	Ourinho. Cipó volúvel, cultivado para o preparado da Ayahuasca. Caule com nós não inflados.
<b>RCO 3794</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	GO	Alto Paraíso.	Planta cultivada em uma residência próxima ao centro da	Cultivada	Liana lenhosa, gigantesca, volúvel, com nós inflados. Enraiza nos nós quando em contato com o solo. Utilizada na produção

					cidade.		do chá Ayahuasca. A planta está sendo cultivada há 35 anos.
<b>RCO 3786</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	GO	Alto Paraíso	Cultivado em área de campo rupestre, entre Alto Paraíso e Terezina de Goiás.	Cultivada	Liana lenhosa, volúvel, com nós inflados. Utilizada na produção do chá Ayahuasca. É um caupuri "diferente" dos demais.
<b>RCO 3783</b>	<i>B.</i> /Caupuri	<i>caapi</i>	GO	Alto Paraíso	Cultivado em área de campo rupestre, entre Alto Paraíso e Terezina de Goiás	Cultivada	O informante convive periodicamente com os Huni Kuin. Segundo ele, esses indígenas conhecem essa planta como "Tucu Huni". Comenta que nem todos os pajés gostam de usar esse "tipo" de cipó, porque ele faz muita limpeza. É conhecida nos grupos religiosos brasileiros como Caupuri.
<b>RCO 3146</b>	<i>B.</i> /Caupuri1	<i>caapi</i>	DF	Santo Antônio do Descoberto	Templo Rosa da Vida. Encontra-se a 6 km do trevo para Santo Antônio do Descoberto, entrada à direita na área do retorno do templo Rosa da Vida.	Cultivada	
<b>RCO 3521</b>	<i>B.</i> /Caupuri2	<i>caapi</i>	MG	Aurioca		Cultivada	

<b>RCO 3523</b>	Caupuri6	DF				Cultivada	
<b>CSB 34</b>	<i>B. caapi</i> Cupuri8	/ DF	Brasília	Núcleo rural do Lago do Lago Norte - Condomínio Aspalha. Casa Ilumina		Cultivada	
<b>RCO 3449</b>	<i>B. caapi</i> /Caupuri9	GO	Cavalcante	Casa próxima ao Centro Turístico		Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso, com nós inflados e entrenós tipicamente curtos, isto é, nós globosos e próximos.
<b>ADS 03</b>	<i>B. caapi</i> /Caupuri10	DF	Lago Sul	Irmandade Holística Pachamama		Cultivada	Flores jovens róseas e mais velhas alvas.
<b>CSB 28</b>	<i>B. caapi</i> /Caupuri13	GO	Planaltina	Bairro Rajadinha. Centro religioso Jardim de Maria		Cultivada	
<b>RCO 3501</b>	<i>B. caapi</i> /Ourinho1	AC	Capixaba	Em terreno baldio na cidade.			Cipó volúvel utilizado na confecção do chá Ayahuasca. Flores rosa claro e brancas, com glândulas nas sépalas.
<b>RCO 3148</b>	<i>B. caapi</i> /Ourinho 3	DF	Santo Antônio do Descoberto.	Templo Rosa da Vida. Encontra-se a 6 km do trevo para Santo Antônio do Descoberto, entrada à direita na área do retorno do		Cultivada	Cipó mais adocicado; casca se solta.

					templo Rosa da Vida		
<b>RCO 3399</b>	<i>B.</i> /Ourinho4	<i>caapi</i>	AC	Rio Branco	Rua Irineu Serra.	Nativa	Ourinho x Caboquinho. Cipó volúvel, dextrógiro, lenhoso, entrecasca esverdeada, cultivado para produção do chá Ayahuasca.
<b>RCO 3502</b>	<i>B.</i> /Ourinho6	<i>caapi</i>	AC	Capixaba	Próximo à Agropecuária Buriti	Cultivada	Cipó volúvel utilizado na confecção da Ayahuasca. No local há uma grande população de <i>B. caapi</i> . A formação de populações é uma característica da espécie e, no jargão do Santo Daime, essas populações são denominadas "Reinado". Planta supostamente nativa, atingindo 30 cm de diâmetro e 15 m de altura. Caule formando "tranças". Contra cascas verde-amareladas. Flores róseas e alvas.
<b>RCO 3334</b>	<i>B.</i> /Ourinho 7	<i>caapi</i>	DF	Sobradinho	Klãn del Lobo, Condomínio Vila Rica	Cultivada	Cipó cultivado, flores jovens róseas e mais velhas alvas e o fruto imaturo verde.
<b>RCO 3395</b>	<i>B.</i> Ourinho8	<i>caapi/</i>	AC	Rio Branco	Rua Irineu Serra	Nativa	Ourinho/Peixe. Cipó volúvel, dextrógiro, lenhoso, entrecasca amarela, cultivado para produção do chá Ayahuasca.
<b>TACS 83</b>	<i>B.</i>	<i>caapi/</i>	RJ	Petrópolis	Propriedade	Cultivada	Liana, é um cipó que

	Ourinho				particular, casa do Alceo, Condominio Quinta do Lago, Bairro Arara, Itaipava, BR- 040		forma uns sulcos no caule.
<b>RCO 3446</b>	<i>B.</i> Ourinho	<i>caapi/</i>	GO	Cavalcante	Casa próxima ao Centro Turístico.	Cultivada	
<b>RCO 3400</b>	<i>B.</i> Ourinho	<i>caapi/</i>	AC		Bairro Irineu Serra	Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso, com entrecasca amarela. O informante tem dúvidas quanto a identificação.
<b>RCO 3394</b>	<i>B.</i> Pajezinho1	<i>caapi/</i>	AC	Rio Branco	Vila Acre, Vila Jerusalém, Caminho de Luz	Cultivada	Pajezinho - Cipó que quebra. Cipó volúvel, lenhoso, cultivado para produção do chá Ayahuasca.
<b>RCO 3433</b>	<i>B.</i> Pajezinho2	<i>caapi/</i>	GO	São Gabriel	Sítio Xamã, próximo ao Posto Advance.	Cultivada	Cipó flexível, lenhoso, com entrecasca verde, folhas amareladas, caule bem liso, isto é, com nós não inflados. Não se vê diferença com Tucunacá.
<b>RCO 3658</b>	<i>B.</i> Pajezinho	<i>caapi/</i>	DF	Paranoá	Condomínio Euler Paranhos, em lote particular.	Cultivada	Planta muito visitada por mamangavas, provável polinizador. Frutos esverdeados e longos. Difere dos demais "tipos" de <i>B.</i> <i>caapi</i> pelas flores claras, alvas e algumas amareladas. Planta

							utilizada na produção da Ayahuasca.
<b>CSB 41</b>	<i>B. Pajezinho</i>	<i>caapi/</i>	AM	Manaus	Cultivado em casa para doação a centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa, trançada e cultivada para produzir o chá do Santo Daime. Sem a presença de nós inflados.
<b>CSB 26</b>	<i>B. de ouro</i>	<i>caapi/</i>	Pingo GO	Planaltina	Bairro Rajadinha. Centro religioso Jardim de Maria.	Cultivado	
<b>CSB 27</b>	<i>B. Quebrador1</i>	<i>caapi/</i>	DF	Planaltina	Bairro Rajadinha. Centro religioso Jardim de Maria.	Cultivado	
<b>CSB 25</b>	<i>B. Quebrador2</i>	<i>caapi/</i>	DF	Planaltina	Bairro Rajadinha. Centro religioso Jardim de Maria.	Cultivado	
<b>RCO 3514</b>	<i>B. Quebrador 3</i>	<i>caapi/</i>	DF	Brasília	Condomínio Solar da Serra.	Cultivado	Quebrador (= Cabi-roxo no Pará). Liana lenhosa, volúvel, cultivada para a produção do chá Ayahuasca. O caule não possui nós inflados e se quebra facilmente, como um isopor.
<b>RCO 3428</b>	<i>B. Quebrador5</i>	<i>caapi/</i>	DF	Abadiânia.	Centro Eclítico Fluente Luz	Cultivado	Quebrador = Ararinha ou Caboquim no Pará. Cipó cultivado,



					Universal km 55/56, AC. 4km antes de Abadiânia.		trepadeira de aproximadamente 7 metros.
<b>RCO 3622</b>	<i>B. caapi/</i> Quebrador	DF	Planaltina		Rajadinha, próximo ao encontro dos córregos do Rela e São Bartolomeu, chácara Jardim de Maria.	Cultivada	Cipó utilizado no preparo da Ayahuasca. Caule "fácil" de bater para a produção da bebida. Folhas com ápice "pontudo".
<b>CSB 24</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá 1	DF	Planaltina		Bairro Rajadinha. Centro religioso Jardim de Maria.	Cultivado	
<b>ADS 02</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá 2	DF	Brasília		Irmandade Holística Pachamama St. de Mansões Dom Bosco - Lago Sul, Brasília - DF, 70297-400	Cultivado	
<b>RCO 3504</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá3	AC	Rio Branco		Mata próxima a um núcleo da União do Vegetal, próximo à cidade.	Nativa	Tucunacá com nós. Liana lenhosa, utilizada na produção do chá Ayahuasca. O caule apresenta nós com protuberâncias como se fossem "verrugas", ou seja, a conformação do caule é diferente do

							"caupuri". Botões alvacentos. Caule na xiloteca sob o número Sonsin 389.
<b>RCO 3517</b>	<i>B. Tucunacá4</i>	<i>caapi/</i>	MG	Aiuruoca	Cultivado na localidade denominada Matutu, que foi originalmente criada como comunidade do Santo Daime (CEFLURIS).	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para a produção do chá Ayahuasca (Daime). Planta proveniente do Mapiá, Amazonas. Cultivado sem "tutor".
<b>RCO 3520</b>	<i>B. Tucunacá 8</i>	<i>caapi/</i>	MG	Aiuruoca	Cultivado na localidade denominada Matutu, que foi originalmente criada como comunidade do Santo Daime (CEFLURIS).	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produção do chá Ayahuasca (Daime). Caule sem nós inflados, "liso". Sem dado de procedência da muda.
<b>RCO 3323</b>	<i>B. Tucunacá10</i>	<i>caapi/</i>	-	-	-	-	-
<b>RCO 3509</b>	<i>B. Tucunacá11</i>	<i>caapi/</i>	Rio Branco		Mata próxima a um núcleo da União do Vegetal, próximo à cidade.	Nativa	Liana lenhosa, utilizada na produção do chá Ayahuasca. Caule sem nós protuberantes.
<b>RCO 3416</b>	<i>B. Tucunacá12</i>	<i>caapi/</i>	AC		Proveniente da Fazenda São Sebastião	Cultivada	

<b>RCO 3507</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá13	AC	Rio Branco	Mata próxima a um núcleo da União do Vegetal, próximo à cidade.	Nativa	Liana lenhosa, utilizada na produção do chá Ayahuasca. Caule com protuberâncias semelhantes a "verrugas" na região dos nós. Amostras de caule estão disponíveis na xiloteca (Sonsin 386).
<b>RCO 3370</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá17	GO	Luziânia	Jardim Ingá.	Cultivada	Cipó volúvel cultivado para produção da Ayahuasca em mata de galeria. Frutos castanhos, a maioria já no chão e com grande poder de germinação.
<b>CSB 30</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá18	DF	Brasília	SHIN Trecho 3A - Brasília, DF.	Cultivada	
<b>RCO 3434</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá20	GO	São Gabriel	Sítio Xamã, próximo ao Posto Advance.	Cultivada	Cipó flexível, lenhoso, com entrecasca verde, caule liso, sem nós inflados.
<b>RCO 3216</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá	DF			Cultivada	
<b>RCO 3326</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá	DF	Sobradinho	Centro Enteogênico La Flor (CELF).	Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso. Flores róseas, a pétala anterior com a região proximal amarela. Flores mais jovens alvas. Botões alvos.
<b>RCO 3490</b>	<i>B. caapi/</i> Tucunacá	GO	Alto Paraíso	Cultivado no Centro de Cultura Cósmica, no Centro da Cidade.	Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso, com caules não inflados, utilizada no preparado do chá Ayahuasca. Flores com pétalas lavas e róseas.

<b>RCO 3508</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	AC	Rio Branco	Mata próxima a um núcleo da União do Vegetal, próximo à cidade.	Nativa	Liana lenhosa, utilizada na produção do chá Ayahuasca. Caule sem nós protuberantes.
<b>RCO 3503</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	AC	Rio Branco	Mata próxima a um núcleo da União do Vegetal, próximo à cidade.	Nativa	Liana lenhosa, com caule sem nós inflados, utilizada na produção do chá Ayahuasca. Em floresta amazônica secundária, com presença de taquaras e bananeiras "bravas". Flores róseas e alvas. Caule na xiloteca sob o número Sonsin 388.
<b>RCO 3518</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	MG	Aiuruoca	Cultivado na localidade denominada Matutu, que foi originalmente criada como comunidade do Santo Daime (CEFLURIS).	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produção do chá Ayahuasca (Daime). Caule sem nós inflados, "liso". Sem dado de procedência da muda.
<b>RCO 3550</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	DF	Gama	Centro Livre Céu de São Francisco.	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produção do chá Ayahuasca (Daime). Caule sem nós inflados, "liso". Sem dado de procedência da muda. Plantas aparentemente espontâneas, à partir de sementes dispersas por

							matrizes cultivadas no local.
<b>RCO 3551</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	DF	Gama	Centro Livre Céu de São Francisco.	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para produção do chá Ayahuasca (Daime). Caule sem nós inflados, "liso". Sem dado de procedência da muda. Plantas aparentemente espontâneas, à partir de sementes dispersas por matrizes cultivadas no local.
<b>RCO 3598</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	DF		-	Cultivada	
<b>RCO 3702</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	PA	Concórdia do Pará	Marataná	Nativa	Cabi. Liana lenhosa com nós inflados. Cultivado contra "mal-olhado" e medicinal.
<b>RCO 3643</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	DF	Brasília	Cultivado no Céu do Planalto, Centro Religioso do Santo Daime (CEFLURIS).	Cultivada	Liana lenhosa, cultivada para a confecção do chá Ayahuasca (Daime). A muda é proveniente do Juruá (Acre). Possui uma "seiva" amarelo ouro quando o caule é cortado. O efeito do chá resultante é mais forte que o usual, segundo o informante.
<b>RCO 3674</b>	<i>B.</i> Tucunacá	<i>caapi/</i>	PA	Santa Izabel	Cultivada para "venda" para a produção de Daime.	Cultivada	Cabi. O senhor que cultiva não tem conhecimento sobre a planta, mas observou que o caule é "quebrador". A planta tem contracasca amarela

							que torna-se escura pela oxidação. Nós não inflados.
<b>RCO 3709</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	PA		Próximo à rodovia PA 140, após o km 22.	Cultivada	Cabi sem nó. Liana lenhosa volúvel, cultivado contra "mal-olhado" e medicinal. Caule com nós não inflados.
<b>RCO 3710</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	PA	Balém	Cultivado em centro religioso do Santo Daime.	Cultivada	Liana lenhosa volúvel, cultivada para produzir o chá do Santo Daime. Nós não inflados.
<b>RCO 3687</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	PA	Colares	Comunidade de Ovos.	Cultivada	Cavi com caule liso. Liana lenhosa, volúvel, com caule sem nós aparentes. Coletado apenas ramos de rebrota porque a folhagem permanece no dossel. Formando uma população com, pelo menos, 6 indivíduos. A contracasca tem coloração esverdeada. A planta foi cultivada no passado por quilombolas com fins medicinais e contra mal-olhado.
<b>RCO 3689</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	PA	Colares	Comunidade de Ovos.	Cultivada	Cabi com caule liso. Liana lenhosa, volúvel, com caule sem nós aparentes. Coletado apenas ramos de rebrota porque a folhagem permanece no dossel. Formando uma

							população com, pelo menos, 6 indivíduos, tratando da mesma população de Oliveira & Xavier 3687. A contracasca tem coloração esverdeada. A planta foi cultivada no passado por quilombolas com fins medicinais e contra mal-olhado.
<b>RCO 3797</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	GO	Alto Paraíso	Moinho.	Cultivada	Liana lenhosa, volúvel, sem nós inflados. Utilizada na produção do chá Ayahuasca.
<b>RCO 3798</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	GO	Alto Paraíso	Moinho.	Cultivada	Liana lenhosa, volúvel, sem nós inflados. Utilizada na produção do chá Ayahuasca.
<b>RCO 3677</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	PA	Santa Izabel	Cultivada para "venda" para a produção de Daime.	Cultivada	Cabi com caule quebrado. Plantas crescendo em terreno baldio com floresta amazônica antropizada. Segundo informante local, ele retirou a muda daquela planta e a cultiva, sendo o caule "quebrador".
<b>CSB 36</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	DF		Núcleo rural do Lago Lago Norte - Condomínio Aspalha. Casa Ilumina.	Cultivada	
<b>TACS 60</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	GO	Alto Paraíso	Casa da Madrinha	Cultivada	

					Darshan, Alto Paraíso		
<b>TACS 64</b>	<i>B. Tucunacá</i>	<i>caapi/</i>	GO	Alto Paraíso	Fazenda Terra Booma	Cultivada	Cipó sem nó, com botões florais.
<b>RCO 3555</b>	<i>B. Híbrido 3</i>	<i>caapi/</i>	DF	Gama	Centro Livre Céu de São Francisco.	Cultivada	Cipó volúvel, lenhoso, cultivado em mata de galeria antropizado. Utilizado na produção do chá Ayahuasca. Híbrido espontâneo.
<b>RCO 3137</b>	<i>B. Híbrido4</i>	<i>caapi/</i>	-		-		
<b>RCO 3494</b>	<i>B. de ovo</i>	<i>caapi/</i>	Gema AC	Senador Guiomard	Ramal da Lua, 2km da rodovia que liga Rio Branco - Boca do Acre, no km 34	Nativa	Cipó volúvel utilizado na confecção do chá Ayahuasca, atingindo 5m de altura, nós não inflados. Flores róseas quando mais jovens, alvas quando mais velhas. Frutos imaturos verdes.
<b>CSB 6</b>	<i>*Banisteriopsis sp.2 (Mistério – B. caapi)</i>		GO	Cavalcante		-	



## Anexo cinco.

Etnotaxas confirmados nas análises morfo-anatômicas:

1. Arara – (Figura 1) Morfologia externa: Liana, sem nós nos caules, entrecasca vermelha; folhas com pecíolo 1.8 – 4 cm, lâmina foliar com 13 – 18.1 cm comp. X 6 – 8 cm larg., folhas elípticas, base cuneada, ápice longo acuminado, grossas, nervura principal bem amarelo; flores de cor rosa, glândulas ausente no cálice; lóculo da noz piloso. Morfologia interna: Parênquima axial com bandas largas ausente; Sem as fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial e Drusas na região axial do floema presente.

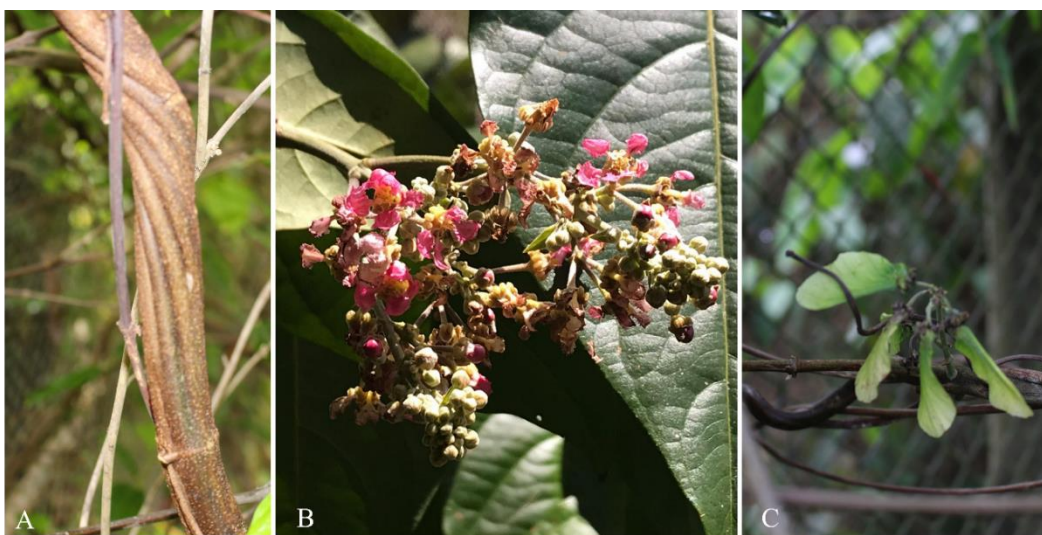


Figura 1. Etnotaxa Arara. A - Caule; B - Inflorescência e folha; C - Frutos. Fotos: A-C: Santos, TAC e B: Alceo.

2. Caupuri – (Figura 2) Morfologia externa: Liana, com “nós inflados” nos caule, casca grossa; folhas com pecíolo 0.7 – 2.8 cm, lâmina foliar com 9.7 – 19.3 cm comp. X 4 – 10.7 cm larg., folhas gossas, elípticas, base obtusa, ápice acuminado, com muitas nervuras; flores de cor rosa, glândulas ausente no cálice; lóculo da noz piloso. Morfologia interna: Parênquima axial com as bandas grandes e Raio com mais de 6 células.



Figura 2. Etnotaxa Caupuri. A – Caule com “nós inflados”; B - Inflorescência; C – Folha face abaxial; D – Folha face adaxial. Fotos: A: Behrens, CSB e B-D: Santos, TAC.

3. Ourinho – (Figura 3) Morfologia externa: Liana, sem nós, casca fina, forma uns sulcos no caule; folhas com pecíolo 1.1 – 2.6 cm, lâmina foliar com 10.5 – 15.8 cm comp. X 5.3 – 8.3 cm larg., forma ovada, base cuneada, ápice acuminado; flores de cor rosa, glândulas na parte livre do cálice. Morfologia interna: Com muitos tilos nos vasos e Drusa no raio do parênquima presente.



Figura 3. Etnotaxa Ourinho. A - Caule; B - Folha. Fotos: Alceo.

4. Pajezinho - (Figura 4) Morfologia externa: Liana, casca macia, seiva alaranjada; folhas com pecíolo 0.8 – 2 cm, lâmina foliar com 10 – 13 cm comp. X 5.3 – 7 cm larg., forma ovada, base cuneada, ápice acuminado, grossas; flores de cor rosa, glândulas na parte livre do cálice, lóculo da noz piloso. Morfologia interna: Parênquima axial

com bandas largas: Presente, tilos nos vasos - pouco, fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: sim, parênquima axial: bandas curtas, raio: 1-3 células.

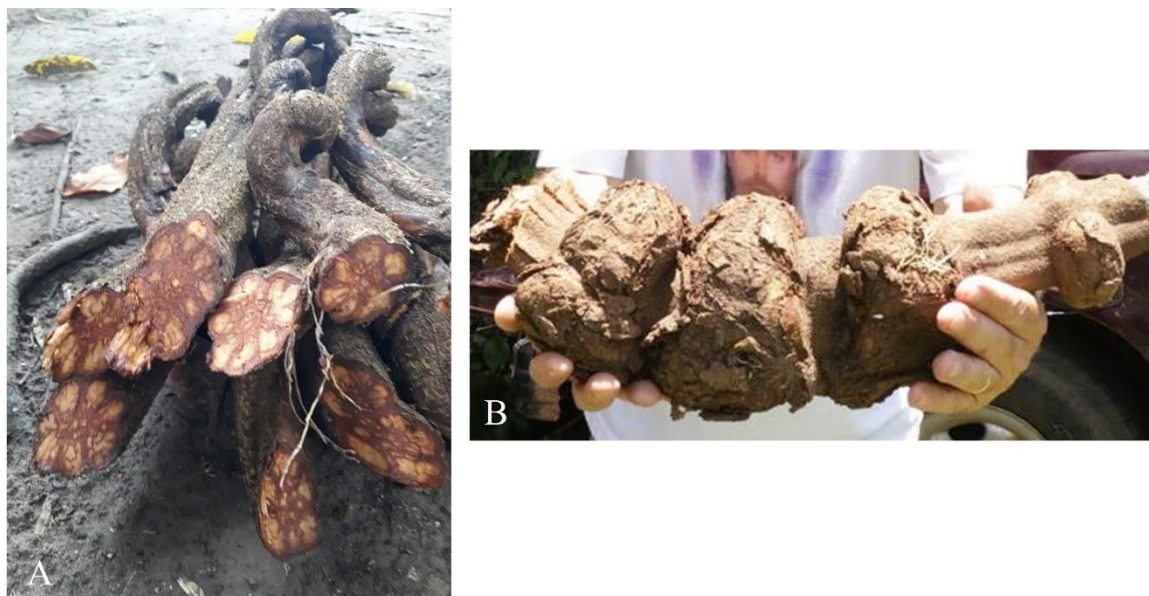


Figura 4. Etnotaxa Pajezinho. A - B – Caule. Fotos:A: Alceo e B: Behrens, CSB.

5. Quebrador - (Figura 5) Morfologia externa: Liana, caule flexível, consistência de “esponja”, “quebra que nem isopor”, liso, sem torção, “roliço”, casca clara; folhas com pecíolo 0.8 – 1.2 cm, lâmina foliar com 8.5 – 16.2 cm comp. X 4.5 – 7.4 cm larg., forma elíptica, base cuneada, ápice curta acuminado, espessas, brilhantes; flores de cor rosa, glândulas na parte livre do cálice, ovário glabro. Morfologia interna: Parênquima axial com bandas largas: Presente, tilos nos vasos - pouco, fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: sim, parênquima axial: bandas curtas, raio: 1-3 células.



Figura 5. Enotaxa Quebrador. A - Caule; B – Flor e folha. Fotos: Behrens, CSB.

6. Tucunacá - (Figura 6) Morfologia externa: Liana, caule fissurado, casca mais grossas; folhas com pecíolo 1 – 2.8 cm, lâmina foliar com 9.5 – 18.2 cm comp. X 4 – 9.24 cm larg., forma elíptica, base cuneada, ápice acuminado; flores de cor rosa, glândulas na parte livre do cálice, ovário piloso; lóculo da noz piloso. Morfologia interna: Parênquima axial com bandas largas: presente, tilos nos vasos - pouco, fibras gelatinosas alternando com o parênquima axial: sim, parênquima axial: bandas curtas, raio: 1-3 células.



Figura 6. Enotaxa Tucunacá. A - Caule; B – Flor; C – Ramos foliar. Fotos: A - B: Behrens, CSB e C: Santos, TAC.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O chá Ayahuasca é um importante Enteógeno usado por comunidades indígenas e por igrejas Ayahuasqueiras, que devido a seus benefícios físicos e espirituais tem sido amplamente disseminado pelo mundo. O uso da Ayahuasca no Brasil é regularizado pelo Resolução Nº5 do CONAD, de 04 de novembro de 2004, onde está explicitamente citado que o chá é feito a partir da decocção do cipó *B. caapi* e da folha da *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. Diante de sua grande importância para sociedade, é de extrema relevância estudos com as plantas usadas em seu preparo, haja visto que o mal uso pode causar transtornos.

Com isso, devido o amplo cultivo de *B. caapi* pelas comunidades tradicionais que a usam, registra-se a ocorrência de linhagens com morfologias e chás com características distintas, que são tratados como “etnotaxa”. Assim como na ciência formal também existem registros por parte de botânicos, que consideraram alguns etnotaxa como espécies.

O fato de haver uma passiva concordância de que apenas *B. caapi* pode ser fonte de betacarbolinas no preparo do chá entre os grupos urbanos que utilizam a Ayahuasca., nos levou as seguintes perguntas: 1. “Os etnotaxa reconhecidos pelas comunidades Ayahuasqueiras urbanas brasileiras são *B. caapi* ou pertencem a outra espécie já descrita? 2. Os etnotaxa podem ser considerados como taxa, seguindo os parâmetros da ciência formal, ou seja, a circunscrição mais aceita de *B. caapi* é satisfatória? 4. *Banisteriopsis caapi* poderia ser uma espécie domesticada e recente?

Para responder a estas questões, esta é a primeira tese que traz uma ampla abordagem botânica e metodológica da espécie *B. caapi*. Visto que a maioria dos estudos são de cunho do uso tradicional e químico, com importantes contribuições para ciência. Desse modo, foram coletadas amostras de etnotaxa de *B. caapi* em vários locais do Brasil e em várias comunidades Ayahuasqueiras, uma vez que esta tese é fruto de amplo projeto desenvolvido no período desde 2016, 2017, 2018, 2019 até 2020. Este projeto trouxe a coleta de 159 amostras de etnotaxa de *B. caapi* e 17 de outras espécies de *Banisteriopsis* e *Diplopterys*.

Em todas as análises filogenéticas, os etnotaxa posicionaram-se em uma grande politomia, sem diferenciação genética para separar os etnotaxa, bem como não se posicionaram próximos a outros clados de *Banisteriopsis*. Assim, os etnotaxa analisados aqui, provenientes de cultivos de centros religiosos Ayahuasqueiros brasileiros, não

pertencem a outra espécie, em especial de *Banisteriopsis*.

O estudo biogeográfico mostrou que o gênero surgiu no Cerrado e foi disseminado para a Amazônia, com pico de dispersão por volta dos 18 milhões de anos. A datação mostrou que *B. caapi* surgiu a 3.2 milhões de anos, ou seja, sua origem é anterior à chegada do homem na América. Assim, *B. caapi* teve sua origem corroborada pela biogeografia, comprovando a sugestão de outros autores sobre sua origem nessa região.

Além disso, os grupos confirmados nas análises morfo-anatômicas, Arara, Ourinho, Quebrador, Pajezinho, Caupuri e Tucunacá, são alguns dos grupos reconhecidos pelos que cultivam o cipó *B. caapi*. Assim, embora a etnoclassificação considera vários outros aspectos não considerados pela ciência formal como por exemplo os efeitos do chá, foi possível por meio das análises morfo-anatômicas encontrar uma correlação entre a etnoclassificação e a ciência formal.

A atual circunscrição de *B. caapi* não abrange uma parte dos etnotaxa reconhecidos na etnoclassificação, aqueles com caule diferente do espécime tipo. O fato da diferenciação morfológica traz a inferência de que os etnotaxa podem estar domesticando, porém, a falta de diferença no genótipo significa que é necessário uma análise mais atenta para confirmar essa possível domesticação.

Finalmente, embora este trabalho tenha tido um grande esforço relacionado a estratégias metodológicas, com o intuito de verificar as relações entre os etnotaxa com *B. caapi*. Faz-se necessários outros estudos para ampliar o conhecimento dessa importante espécie. A ampliação da amostragem, com indivíduos de outras regiões não coletadas neste trabalho, bem como a coleta de indivíduos com flor e/ou fruto. E análises específicas para identificar domesticação, hibridação, enfim estudos que expliquem por que essa diferenciação e o reconhecimento de linhagens morfológicas sem diferenciação genética.