

PROYECTO “ GENE FLOW ANALYSIS FOR ASSESSING THE SAFETY OF BIO-ENGINEERED CROPS IN THE TROPICS”

Centro Internacional de Agricultura Tropical,
Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno de la Universidad de Costa Rica
Bundesministerium für Wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (BMZ)

INFORME DE VIAJE

Daniel G. Debouck & Rodolfo Araya Villalobos

Centro Internacional de Agricultura Tropical, y Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno de la Universidad de Costa Rica

Introducción y Objetivos

Se reporta a continuación los resultados de dos trabajos de campo realizados en el Valle Central de Costa Rica, dentro del marco del proyecto colaborativo Universidad de Costa Rica – CIAT de estudio de flujo genético en el modelo frijol apoyado por la BMZ. En este proyecto se trata de precisar la importancia y la dirección de flujo de genes mediante polen entre formas cultivadas y silvestres de la especie *Phaseolus vulgaris* L.. Ya hemos acumulado algunas evidencias de flujo con la presencia de materiales llamados ‘intermedios’, pues morfológicamente no son cultivados ni silvestres típicos por las evidencias acumuladas (Araya et al. 2001). Además se mantienen en vegetaciones ruderales (foto de portada en Quircot, Cartago), las cuales no son estrictamente hablando los campos cultivados tampoco los bosques primarios, si no más bien los barbechos y matorrales que vuelven a colonizar los terrenos después de la roza- tumba- quema (Boucher et al. 1983; Cook 1919). Para poder diferenciar estos materiales ‘intermedios’ de los silvestres, es importante documentar la variación que existe naturalmente en las poblaciones silvestres, tanto del punto de vista morfológico como bioquímico y molecular. Luego de su descubrimiento en 1987 (Debouck et al. 1989), las formas silvestres han sido mejor documentadas (del punto de vista ecológico: Araya et al. 2001; bioquímico: Toro et al. 1990; molecular: Chacón 2001, Tohme et al. 1996). De estos trabajos, se ve que son materiales únicos dentro del reconocido acervo mesoamericano.

Los objetivos de este trabajo y siguiendo el Plan de Trabajo del Proyecto fueron: 1) seguir con el inventario y ubicación de las poblaciones silvestres de frijol común en Costa Rica, 2) identificar en el campo materiales que pueden ser ‘intermedios’ para su verificación posterior en el laboratorio, 3) ubicar estos mismos materiales intermedios con respecto a cultivos comerciales/ tradicionales de frijol común, y 4) reunir información de tipo etnobotánico en cuanto a la identificación de presencia de formas silvestres y/o intermedias y de flujo de genes de parte de comunidades campesinas viviendo en el sitio de estudio (provincia de Cartago, cantón de Cartago, distrito de San Nicolás, barrio de Quircot).

Itinerario y Programa

Parte Diciembre de 2002

Viernes 13: vuelo Cali-San José; observaciones en el sector de Chagüite (# 3106).

Sábado 14: observaciones en la cantera Alfaro Ruíz de Zarcero (# 3132); en Sabana Redonda (# 3133).

Domingo 15: observaciones en la Piedra de Aserrí (# 2111, 2112, 2113, 2114, 2116); en Tarbaca (# 2097); en Tranquerillas (# 3134); en Chirogres (# 3135); en Jérico (# 3131); en San Miguel de Desamparados (# 3136).

Lunes 16: observaciones en Matinilla- Alto Tapezco- Bebedero (# 3137, 3138); en sector sur de Cartago (Tejar, Muñeco, Orosí, Paraíso), y luego norte de Cartago (Llano Grande, Laguna, Rancho Redondo; # 3139); oriente de San José (Vista de Mar, San Isidro de Coronado, Nubes, Cascajal, San Jeronimo).

Martes 17: observaciones en Quircot y visita a las parcelas experimentales (ensayos con variedades de grano blanco introducidas entre silvestres, y con silvestre introducido); en parque Iztarú (# 3140, 3141).

Miercoles 18: conversaciones con agricultores de la cooperativa de Quircot; observaciones en Poroses (# 3142) y en Hacienda Tres Ríos (Cerros de La Carpintera, # 3144).

Jueves 19: visita a los ensayos en la Estación Fabio Baudrit de la Universidad de Costa Rica, Alajuela; vuelo San José- Cali.

Parte Enero de 2003

Lunes 13: vuelo Cali- San José; colecta en el sector de Chagüite (# 3106, 3159), y en Sabana Redonda (# 3133).

Martes 14: colecta en el sector de Zarcero (# 3132), Carbonal, San Miguel Arriba, Getsemani, Montecito, y de San Isidro y Concepción de Heredia.

Miercoles 15: colecta en el sector de Bebedero (# 3137, 3138, 3145), Aserrí (# 2111, 3146), Tranquerillas (# 3134), Chirogres (# 3147), Manzano (# 3148), y de San Miguel de Desamparados (# 3136).

Jueves 16: colecta en el sector central de los Cerros de la Carpintera (# 3143, 3144); colecta y trabajo de campo en Quircot (# 3142; 3149-3153).

Viernes 17: observaciones en el sector occidental de los Cerros de la Carpintera (# 3140); colecta y trabajo de campo en Quircot (# 3154-3158).

Sabado 18: trabajo en la Estación Fabio Baudrit; vuelo San José- Cali.

Resultados y Discusión

Generales

Las dos exploraciones en el campo nos permitieron encontrar 36 poblaciones del género *Phaseolus*; vienen detalladas en la siguiente Tabla, con unos materiales de frijol común encontrados en Quircot que luego de estudios adicionales con marcadores moleculares podrían resultar novedosos y añadirse a esta lista. Los números en negrilla dieron muestras de herbario colectadas en campo (visita de Diciembre de 2002) y depositadas en el herbario CR. En Fig. 1 aparecen algunas de las localidades.

Número	Especie	Fecha d/m/a	Provincia, Distrito	Sitio cercano	Coordenadas
2111	vulg s	15/12/2002	San José, Aserrí	Aserrí	84°07'W 9°52'N 1550 m
3106	vulg s	13/12/2002	Alajuela, Carrizal	Chagüite	84°10'W 10°06'N 1510 m
3132	vulg s	14/12/2002	Alajuela, Zarcero	Zarcero	84°23'W 10°10'N 1610 m
3133	vulg s	14/12/2002	Alajuela, Sabana Red.	Sabana Redonda	84°14'W 10°07'N 1380 m
3134	vulg s	15/12/2002	San José, San Gabriel	Tranquerillas	84°07'W 9°48'N 1500 m
3135	vulg s	15/12/2002	San José, Tarbaca	Chirogres	84°06'W 9°48'N 1480 m
3136	vulg s	15/12/2002	San José, San Miguel	Sn Miguel Desamp.	84°04'W 9°51'N 1370 m
3137	vulg s	16/12/2002	San José, San Antonio	Bebedero	84°10'W 9°54'N 1600 m
3138	costar	16/12/2002	San José, San Antonio	Bebedero	84°10'W 9°54'N 1700 m
3139	costar	16/12/2002	San José, Vista de Mar	Vista de Mar	83°58'W 9°58'N 1790 m
3140	vulg s	17/12/2002	Cartago, San Rafael	Parque Iztarú	83°58'W 9°54'N 1750 m
3141	leptos	17/12/2002	Cartago, San Rafael	Parque Iztarú	83°58'W 9°54'N 1640 m

3142	costar	18/12/2002	Cartago, San Nicolás	Río Taras	83°55'W 9°55'N 2000 m
3143	vulg s	18/12/2002	Cartago, San Rafael	Hda. Tres Ríos	83°59'W 9°54'N 1500 m
3144	costar	16/01/2003	Cartago, San Rafael	Cerros Carpintera	83°59'W 9°54'N 1630 m
3145	xantho	15/01/2003	San José, San Antonio	Bebedero	84°10'W 9°54'N 1650 m
3146	leptos	15/01/2003	San José, Aserrí	Piedra de Aserrí	84°07'W 9°52'N 1550 m
3147	vulg s	15/01/2003	San José, Tarbaca	El Tigre	84°06'W 9°49'N 1450 m
3148	vulg s,w	15/01/2003	San José, San Miguel	El Manzano	84°05'W 9°49'N 1370 m
3149	sp. (X)	16/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 31	83°56'W 9°54'N 1520 m
3150	vulg c	16/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 26	83°56'W 9°54'N 1560 m
3151	vulg w	16/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 29	83°56'W 9°54'N 1510 m
3152	vulg c	16/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 29	83°56'W 9°54'N 1510 m
3153	vulg c	16/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 29	83°56'W 9°54'N 1510 m
3154	vulg w	17/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 26	83°56'W 9°54'N 1560 m
3155	vulg s,w	17/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 26	83°56'W 9°54'N 1560 m
3156	vulg s,w	17/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 30	83°56'W 9°54'N 1530 m
3157	sp. (X)	17/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 30	83°56'W 9°54'N 1530 m
3158	sp. (X)	17/01/2003	Cartago, San Nicolás	Quircot, sitio 30	83°56'W 9°54'N 1530 m
3159	xantho	13/01/2003	Alajuela, Carrizal	Chagüite	84°10'W 10°06'N 1510 m

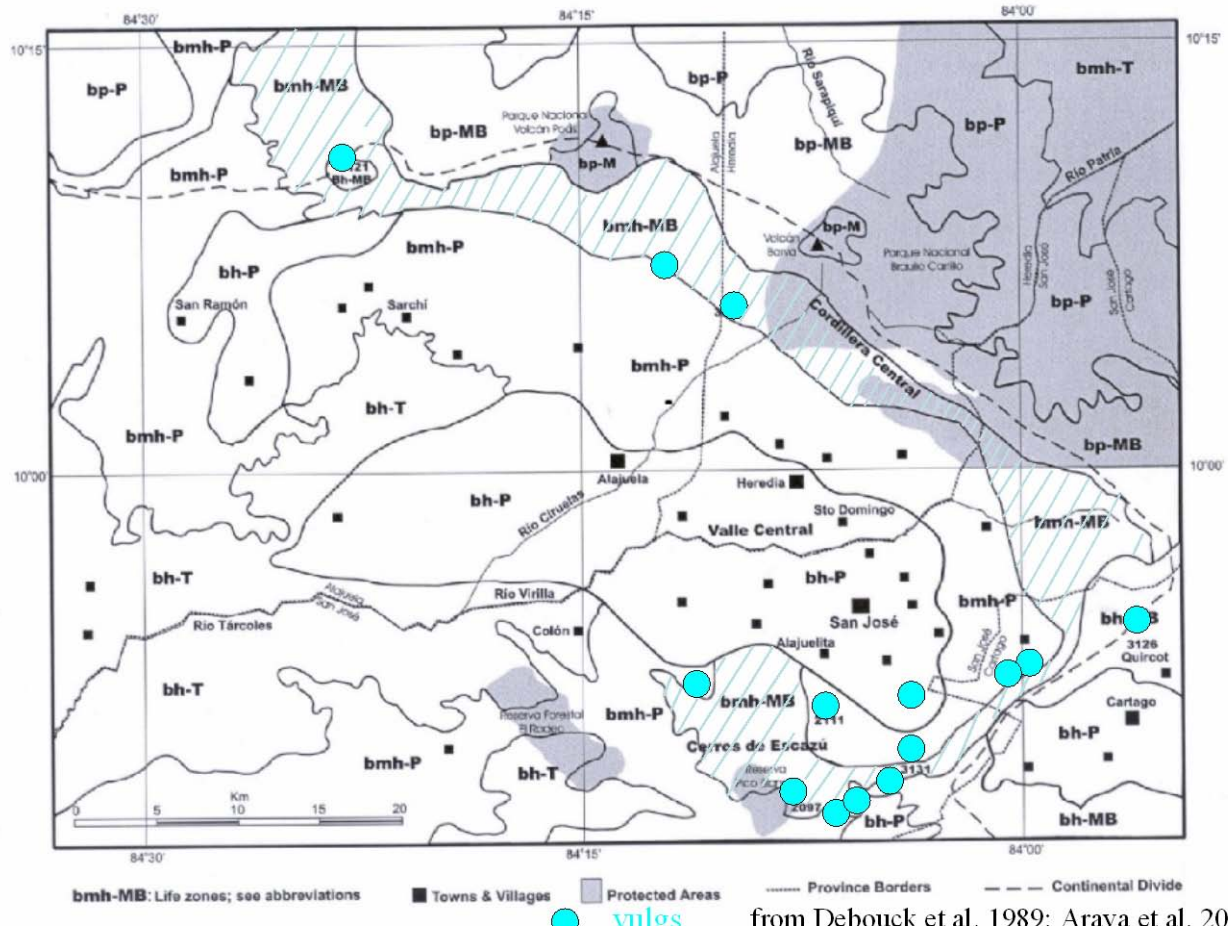


Figura 1 – Mapa del Valle Central con las poblaciones actualmente conocidas de *P. vulgaris* silvestre.

Por especie

Phaseolus costaricensis Freytag & Debouck

Se encontró una interesante variación en colores y tamaños de semilla en Quircot, posiblemente como resultado de cruzamientos con *P. dumosus* (= *P. polyanthus*), lo que justificó la asignación de un número diferente, i.e. # 3149 (Fig. 2), 3157 y 3158, en comparación al número original (# 3127, colectado en 1998). Estos materiales podrían ser híbridos interespecíficos estabilizados, aunque a veces se observan granos con relleno incompleto, dejando suponer algún problema de fertilidad. Muy arriba de Quircot en las orillas del Río Taras se encontró una población densa # 3142 que sobrevive en las quebradas entre campos de papa y hortalizas (cilantro, lechuga, repollo).



Figura 2 – Material intermedio de *P. costaricensis* # 3149 encontrado en Quircot, Cartago.

En los Cerros de Escazú entre Matinilla y Bebedero, entre nuestras dos visitas (16/XII y 15/I), la población # 3138 ha sufrido una severa tala. La gente del lugar lo conoce como ‘frijolillo de caballo’, aunque no lo aprovecha. En la misma zona ecológica la gente ha sembrado ‘cuba’ (*P. dumosus*), pero no *P. vulgaris*, pues aparentemente no produce por antracnosis.

Arriba de la planicie de Coronado, entre Rancho Redondo y Vista de Mar, se encontró una pequeña población # 3139, aún en la formación de vainas verdes en la 2da visita. Debido al crecimiento urbano en esta parte, es posible que desaparezca pronto.

En la Hacienda Tres Ríos en la parte superior donde el bosque montano húmedo ya se ha recuperado se encontró una pequeña población # 3144. Aprovecha una abra natural del bosque, creciendo entre las *Dahlia imperialis*.

En la Piedra de Aserrí se volvió a encontrar la población de *P. costaricensis* # 2116 encontrada en 1985 (Debouck et al. 1989). Igualmente se encontró allí el híbrido natural con *P. dumosus* (# 2114) (Freytag & Debouck 1996), indicando la estabilidad de estas formas en este sitio.

Phaseolus leptostachyus Benth

Se encontraron dos poblaciones, ambas con muy pocas plantas; a nuestro conocimiento (ver Freytag & Debouck 2002) son los primeros registros para estas localidades de Costa Rica, por lo tanto las colectas. La población # 3141 se encontró en la parte baja del Parque Iztarú en un pequeño barranco a borde de camino.

La población # 3146 se encontró en la Piedra de Aserri, en un matorral secundario con dominancia de compuestas, junto con *P. xanthotrichus* (# 2112). Por su ubicación, estas dos poblaciones no están en peligro de pronta desaparición. Es una especie que florece y fructifica más temprano en el Valle Central; así es posible que varios materiales quedan desapercibidos.

Phaseolus vulgaris L., forma cultivada

Para fines de comparar las formas intermedias (Araya et al. 2001), se colectaron algunas formas cultivadas en los campos de Quircot. Dentro de las variedades tradicionales y antiguas según los reportes de los agricultores ancianos (encontrados el 18/XII), están las variedades ‘Vainica amarilla’ (# 3153), ‘Negro’ (# 3151 y 3154) y ‘Higuerilla’ (# 3152). El material # 3150 es de grano negro y hábito arbustivo, mientras que todos los demás son trepadores. Los materiales # 3151, 3152, 3153, 3154 fueron encontrados trepando sobre arbustos en límites de campos de cultivo; posiblemente se trata de semilla de siembra natural de cosechas anteriores.



Figura 3. Materiales de *P. vulgaris* encontrados en Quircot, Cartago en Enero de 2003. Arriba: izq. Forma cultivada 3151; centro forma intermedia; der. forma silvestre 3156. Abajo: izq. Forma cultivada 3152; centro forma intermedia; der. forma silvestre 3126.

Phaseolus vulgaris L., forma silvestre y formas intermedias

Por haber encontrado una forma intermedia (# 2115) en 1987, se volvió a visitar el sitio ‘Piedra de Aserri’. Allí se colectó nuevamente la forma silvestre # 2111 para verificar cambios genéticos sobre el período 1987-2003. No se encontró formas intermedias, y parece que en la parte alta no hubo cultivos de frijol recientemente. Se han abandonado algunos cafetales, y en el matorral crecido se ven de vez en cuando algunos silvestres de *P. vulgaris*.

La población # 3106 de Chagüite ocupa una ladera abrupta donde el ganado no tiene acceso. Parece no haber existido cultivos de frijol en esta parte, y por lo tanto esta población podría servir como referencia de material silvestre sin introgresión. Se volvió a colectar semilla para tener una base de comparación en tiempo 1998-2003.

La población # 3132 de Zarcero podría desaparecer debido a la progresión de la extracción de material lítico de la cantera (= tajo) ‘Alfaro Ruiz’. Efectivamente, el material encontrado allí en 1998 (# 3121; con semillas negras brillantes y con ‘peso 100’ de 14.3; fig. 4) ya no existe. De *P. costaricensis* (# 3122)

encontrado en este sitio, sólo queda una planta, mientras el *P. dumosus* sigue estable y con población algo densa. La población # 3132 (con ‘peso 100’ de 6.6 g; foto siguiente abajo) puede verse como silvestre mientras que la población # 3121



Figura 4 – Variabilidad encontrada en *P. vulgaris* en Zarcero. Arriba forma intermedia # 3121. Abajo forma silvestres # 3132.

sería el producto de introgresión. En el material silvestre del lugar se encontraron algunas semillas muy pequeñas de color negro (peso 100 5.3g).

La población # 3133 de Sabana Redonda muestra muchas plantas, pero ocupa sólo un espacio puntual, en el valle del Río Mastate. Es conocida localmente como “frijolillo”, y no se come. Fue afectada por Mancha Angular. *P. lunatus* crece intermezclado en esta población. Es una adición de conocimiento en la distribución de *P. vulgaris* silvestre en el Valle Central, pues es un registro nuevo entre # 3132 (Zarcero) y # 3106 (Chagüite) en la vertiente sur de la cordillera volcánica.

La población # 3134 de Tranquerillas también representa una adición al conocimiento de la distribución, en este caso en la cuenca del Río Grande de Candelaria (peso 100 4.4 g). Es conocida localmente como “frijolillo chimbolillo”, y se consume a veces.

La población # 3135 de Chirogres sufrió una tala entre los dos viajes; sin embargo pudimos recuperar algo de semillas (peso 100 5.7 g). Por ser de acceso muy fácil, y debido al uso de herbicidas en las plantaciones de café, podría desaparecer dentro de poco. Es precisamente la situación que sufrió la población # 3131 en Jérico donde se pudo comprobar que por el uso de herbicidas en plantaciones de café desapareció casi por completo del sitio muestreado en 1998.

La población # 3140 en el parque Iztarú cuenta con pocos individuos, lo que sorprende un poco, pues está en un área protegida. La explicación podría ser en el cierre de la cobertura boscosa que ya no deja entrar

muchas luz. Por crecer en la sombra en una vertiente abrigada de los vientos alisios, aún estaba en formación de vainas verdes. Podría ser la población ubicada al más extremo occidental del Valle Central.

La población # 3143 fue encontrada en la Finca o Hacienda Tres Ríos, antigua finca cafetera, donde se está abandonando la producción de café para permitir la re-colonización del bosque. Por ser un matorral de compuestas aún bastante abierto y soleado, la población aún cuenta con muchas plantas, aunque su extensión es reducida en el espacio.

La población # 3147 encontrada un poco antes de llegar al Tigre es una variante en comparación al material de Tranquerillas pues cuenta con semillas pequeñas (peso 100 6.4 g) de color bayo claro con rayas negras. También se encontró el mismo morfotipo en la población de Desamparados.

La población de El Manzano # 3148 cuenta con dos tamaños de semilla (peso 100 5.4 y 12.8). Ocupa un barranco muy abrupto al lado de la carretera, intermezclada con *P. dumosus*; es conocida por la gente local pero no se aprovecha. Allí la gente aprecia mucho el ‘cuba’ o *P. dumosus*.

Phaseolus xanthotrichus Piper

Se aumentó el conocimiento de la distribución de esta especie con dos colectas, una en el sector de Bebedero (# 3145) y una en el sector de Chagüite (# 3159). Cabe mencionar que en ambos sitios se encontró junto con *P. vulgaris* silvestre aunque en partes menos soleadas; *P. xanthotrichus* es también un poco más precoz en comparación al pariente silvestre del frijol común. Se pudo ver que las poblaciones (# 2112 en la Piedra de Aserri; # 3125 en Quircot) aún se mantienen.

Discusión y Conclusiones

El hecho de poder encontrar a lo largo de tres períodos (1987, 1998, y 2002-3) ciertas poblaciones muestra claramente que la colecta ha sido cuidadosa en no reducir su tamaño. Pero el hecho de ya no encontrar ciertos materiales en su sitio original (e.g. # 2097, 2098, 3121, 3131) es una indicación clara de rápida modificación de usos de la tierra. Claro está el caso de la cantera de Zarcero donde otro uso del suelo amenaza a varias poblaciones.

Hasta ahora en Costa Rica hemos encontrado frijol silvestre en tres grandes cuencas: Río Grande de Tarcoles, Río Grande de Candelaria, y Río Reventazón. Los dos primeros desembocan hacia el Pacífico, mientras que el último desemboca hacia el Atlántico. Su distribución viene muy ligada a la del bosque [muy] húmedo Montano Bajo (Fig. 1 y Araya et al. 2001). Aunque hemos añadido diez nuevas poblaciones al conocimiento florístico en 2002-2003, podrían aún faltar algunas poblaciones en la vertiente sur de la cordillera volcánica (norte del Valle Central) y al sur de Cartago, aunque los sitios allí visitados han mostrado suelos demasiado ácidos. En sitios favorables y sin pastoreo, *P. vulgaris* alcanza a formar poblaciones densas (e.g. # 3133, 3134, 3143), sobretodo si existe una alteración periódica de la vegetación; cuando el bosque se recupera completamente y el dosel se cierra (e.g. # 2111, 3140), parece que regrese.

Este trabajo de campo permitió traer material para el estudio de flujo genético, seis al nivel infraespecífico (# 3132, 3148, 3151, 3155, 3156, 3158, y cuatro más por estudiar) y dos al nivel interespecífico (# 3149, 3157). Al nivel infraespecífico, podemos también ampliar las observaciones. Cuando co-existen las formas cultivadas y silvestres dentro de un radio de 20 m o menos, formas intermedias (híbridos!?) alcanzan a aparecer. Según nuestras primeras observaciones en Aserri y en Tarbaca, comparando los períodos 1987-1998-2003, estas formas no se mantendrían si desaparece una de las dos formas o si cambian las condiciones ecológicas. Así, en Aserri, el abandono del cultivo de frijol en la parte alta cerca de la Piedra y el regreso del bosque limitan la supervivencia de estas formas. En Tarbaca, el sitio original desapareció

para dar paso a casa de veraneo. El uso de herbicidas para el monocultivo de maíz en Quircot ha fuertemente limitado las formas silvestres (e intermedias que habíamos encontrado muy abundantes allí en 1998). Por el otro lado, los mejores precios del ‘cuba’ han también limitado la extensión de las siembras de frijol común en Quircot sobretodo los volubles con período de floración extendida. Las preferencias de los consumidores para ciertos tipos de grano (color, tamaño) también cierran posibilidades para que los agricultores ‘toleren’ las formas intermedias y seleccionen allí nuevos variantes para integrarlos dentro de su ‘pool’ génico.

Al nivel interespecífico, se encontraron en Quircot algunos materiales (e.g.# 3149) que podrían considerarse introgresados *P. costaricensis*- *dumosus*. Es una situación que ya habíamos encontrado en Aserrí en 1987 (# 2114), y algunas plantas aún estaban allí en 2003. De confirmarse esta situación, se ve reforzada la hipótesis que ambas especies pertenecen al mismo phylum evolutivo (Freytag & Debouck 2002; Schmit et al. 1993) y que pueden cruzarse. Los agricultores venden principalmente el ‘cuba’ de semilla amarilla, y en muy pocos casos de semilla roja; la escasa venta en verde contribuye a restringir la fuente de variabilidad que podría constituir esta introgresión. La tala de bosques muy húmedos realizada con frecuencia disminuye las poblaciones de *P. costaricensis*, pues no alcanza a regenerar (Araya et al. 2001). La quinta especie cultivada otrora menos variable perdería un valioso mecanismo generador de variabilidad, puesta a prueba directamente en los campos de los agricultores.

Literatura Citada

- Araya Villalobos, R., W.G. González Ugalde, F. Camacho Chacón, P. Sánchez Trejos & D.G. Debouck. 2001. Observations on the geographic distribution, ecology and conservation status of several *Phaseolus* bean species in Costa Rica. *Genet. Resources & Crop Evol.* 48: 221--232.
- Boucher, D.H., M. Hansen, S. Risch & J.H. Vandermeer. 1983. Agriculture-Introduction. In “Costa Rican natural history”, D.H. Janzen (ed.), The University of Chicago Press, Chicago, USA. Pp. 66--73.
- Chacón, M.I. 2001. Chloroplast DNA polymorphisms and evolution and domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). PhD thesis, University of Reading, United Kingdom, 223p.
- Cook, O.F. 1919. Milpa agriculture, a primitive tropical system. *Smithson. Inst. Washington Annu. Rept.* Pp. 307--326.
- Debouck, D.G., R. Araya Villalobos, R.A. Ocampo Sánchez & W.G. González Ugalde. 1989. Collecting *Phaseolus* in Costa Rica. *FAO/IBPGR Plant Genet. Resources Newsl.* 78/79: 44--46.
- Freytag, G.F. & D.G. Debouck. 1996. *Phaseolus costaricensis*, a new wild bean species (Phaseolinae, Leguminosae) from Costa Rica and Panama, Central America. *Novon* 6: 157--163.
- Freytag G.F. & D.G. Debouck 2002. Taxonomy, distribution and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae--Papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. *SIDA Botanical Miscellany* 23: 1--300.
- Schmit, V., P. du Jardin, J.P. Baudoin & D.G. Debouck. 1993. Use of chloroplast DNA polymorphisms for the phylogenetic study of seven *Phaseolus* taxa including *P. vulgaris* and *P. coccineus*. *Theor. Appl. Genet.* 87 (4): 506--516.
- Tohme, J., O.D. González, S. Beebe & M.C. Duque. 1996. AFLP analysis of gene pools of a wild bean core collection. *Crop Sci.* 36: 1375--1384.
- Toro O., J. Tohme & D.G. Debouck. 1990. Wild bean (*Phaseolus vulgaris* L.): description and distribution. International Board for Plant Genetic Resources and Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. 106p.