

Introducción

El flujo de genes es el movimiento natural de genes entre poblaciones o individuos mediante actos simples pero de gran importancia para agricultores y ecosistemas (Figura 1), además, es una de las principales fuerzas evolutivas en la generación de diversidad genética, que puede variar en magnitud y dirección.



Figura 1. Colibrí polinizando una flor de frijol común. Fuente: Mazariegos, 1998.

El frijol común, nuestra planta modelo, es principalmente autógama, sin embargo, altos porcentajes de alogamia han sido reportados. Este estudio pretende cuantificar el flujo de genes por polinización cruzada entre formas silvestres, intermedias y cultivadas con el objetivo de fortalecer el conocimiento básico de la especie y entender un evento espontáneo con consecuencias en bioseguridad alimentaria.

Materiales y Métodos

Las semillas se colectaron en poblaciones naturales durante 1987, 1998, 2003 y 2004 en el Valle Central de Costa Rica (González-Torres et al., 2003). Una evaluación morfológica preliminar (peso de 100 semillas en gramos) permitió seleccionar 217 semillas como posible resultado de flujo de genes (Figura 2).

Utilizamos marcadores bioquímicos: faseolinas y dos *loci* de isoenzimas (Peroxidasa y Diaforasa). Además, marcadores moleculares: nueve *loci* microsatélites para evaluar la contribución del genoma nuclear en el flujo de genes. La participación del genoma citoplasmático fue evaluada en siete regiones de ADN de cloroplasto (ADNcp) mediante RFLP-PCR, secuenciación y la determinación de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), para determinar la dirección del flujo de genes.

Figura 2. Formas biológicas evaluadas:

a) Silvestre: tamaño de semilla < 8g, faseolina simple, testa *agouti*, dehiscencia de vainas.

b-c-d) Intermedio: 8g < tamaño de semilla < 22g. Puede tener testa híbrida 'coloreada' o *agouti*, faseolina 'silvestre' o 'cultivada'.

e-f-g) Cultivado: tamaño de semilla >22g, testa 'coloreada'.



Peso (g)
100 semillas

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos en la caracterización de las poblaciones mediante marcadores morfológicos, bioquímicos y moleculares se encuentran resumidos en la siguiente tabla. Las letras de color rojo, azul y verde indican las características propias de las formas silvestres, intermedias y cultivadas, respectivamente.

Forma Biológica	Peso de 100 semillas (g)	Patrón de faseolina	Isoenzimas		Microsatélites		Haplotipo de Cloroplasto
			Patrón ¹	Alelo ²	Primer	Alelo	
Silvestre	6 (2.5-7) N=443	"S-4" "S" "M1" "S-3" N=392	DIA-1 N=229	PRX 100 N=197	BM140	160	G, H N=210
					BM172	80	
					BM175	164	
					BM183	110	
					BM187	165	
					BM188	147	
					BM205	138	
GATS91	224						
Intermedio	13 (8-21.3) N=226	"C" "CH" "H" "S" "X-7" "S-4" N=196	DIA-1 DIA-2 DIA-4 N=157	PRX 100 PRX 98 N=182	BM140	160, 177	G, H J, K, L N=170
					BM172	80	
					BM175	164, 185	
					BM183	110	
					BM187	165, 189	
					BM188	147, 150	
					BM189	138, 148	
BM205	122, 136						
GATS91	224, 243						
Cultivado	23 (22-46) N=198	"S" "X-7" "CH" N=198	DIA-2 DIA-4 N=64	PRX 98 N=29	BM140	180	J, K, L N=53
					BM172	80	
					BM175	183	
					BM183	110	
					BM187	189	
					BM188	150	
					BM189	148	
BM205	136						
GATS91	243						

Chacón (2001) determinó, mediante RFLP-PCR, la distribución de haplotipos de cloroplasto en el rango de América para las formas silvestres y cultivadas. Las formas silvestres en Costa Rica presentaron únicamente el haplotipo 'H' y las formas cultivadas mesoamericanas los haplotipos G, J, K y L. En nuestro trabajo, la discriminación entre algunos haplotipos requirió la secuenciación del fragmento *rps14-psaB* y el posterior análisis de SNP utilizando un método de señales fluorescentes. La figura 3 muestra la presencia del nucleótido A (columnas en rojo) o el T (en gris) en el fragmento *NdhA* intron del cloroplasto, indicando la identificación del haplotipo 'H' silvestre o del haplotipo 'G' cultivado respectivamente.

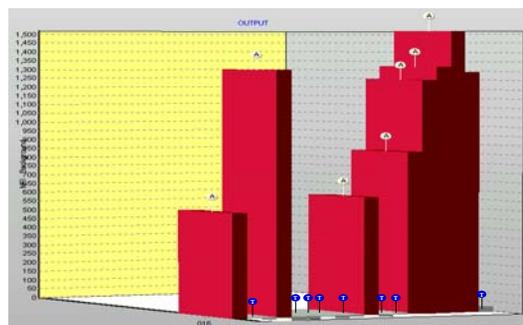


Figura 3. Análisis de haplotipos de cloroplasto utilizando SNP de una selección de individuos. La determinación del haplotipo 'G' en los individuos evaluados, sugiere la introducción de material cultivado desde México y Guatemala a Costa Rica y el cruce entre estos materiales con silvestres locales.

El análisis de los datos mostró, en los individuos seleccionados, que el 98% de los materiales intermedios fueron realmente producto de eventos de flujo de genes y el 2% restante los efectos fenotípicos fueron debidos a condiciones ambientales favorables.

La principal dirección del flujo de genes fue de polen de formas silvestres hacia materiales cultivados en el 82% de los casos evaluados; sin embargo, la dirección contraria de transferencia de genes de polen de formas cultivadas hacia materiales silvestres se observó, aunque en un porcentaje menor pero significativo. (González-Torres et al., 2004).

Los eventos de flujo de genes fueron observados principalmente entre materiales pertenecientes al mismo acervo genético (Mesoamericano); sin embargo, en el 8% de los materiales intermedios se evidenciaron cruces con el acervo Andino.

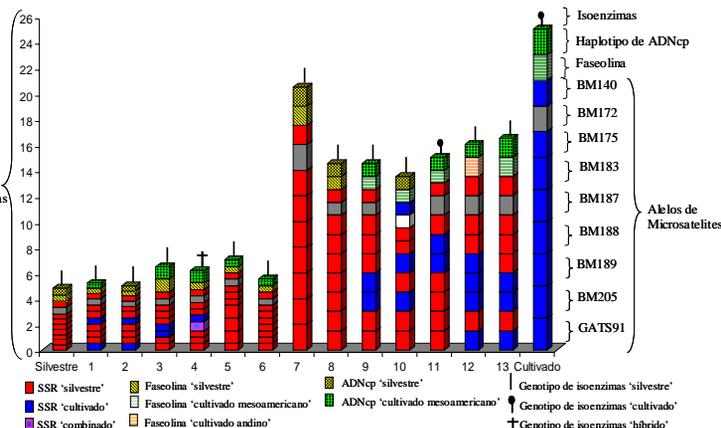


Figura 4. Representación gráfica de los diferentes marcadores utilizados en una selección de individuos resultantes de eventos de flujo de genes. Los bloques grises representan un *loci* de SSR común entre formas biológicas.

En la Figura 4 sobresalen tres resultados: a) *Eventos repetidos de flujo de genes de polen de formas silvestres hacia formas cultivadas*: el individuo 1 presenta la mayoría de sus características 'silvestres', sin embargo posee haplotipo de cloroplasto y dos *loci* de SSR tipo 'cultivado'. En el individuo 4 se observan isoenzimas híbridas y un *loci* de SSR híbrido. b) *Captura de cloroplasto* (resulta de repetidos cruces en los que se obtienen individuos con genoma nuclear de una forma biológica y genoma citoplasmático de otra): los individuos 5 y 6 presentan todos sus parámetros 'silvestres' pero su haplotipo de cloroplasto es 'cultivado'. El individuo 10 posee haplotipo 'silvestre' en contraste con algunas características 'cultivadas' y un alelo SSR (en blanco) con una frecuencia baja en la población. c) *Cruce entre acervo los mesoamericano y andino*: el individuo 12 presentó haplotipo de cloroplasto 'cultivado' mesoamericano y faseolina andina. En cuanto a los *loci* de SSR el presentó 'silvestres' y 'cultivados'. Esto refleja la introducción de materiales andinos a Costa Rica con el fin de contrarrestar la acción de patógenos y tener una semilla más atractiva visualmente (color y tamaño) para el mercado.

Agradecimientos

Esta investigación fue realizada con la colaboración de la BMZ de Alemania. Los autores agradecen especialmente a Antonio Hernández y a Nidia Reyes del CIAT.

Referencias

- Chacón Sánchez, M.I. 2001. Ph.D. Thesis. Dep. of Agricultural Botany. Univ. of Reading, UK.
González-Torres RI, E Gaitán, MC Duque, O Toro, C Ocampo, J Tohme & DG Debouck. 2003. BIC 46:1-2.
González-Torres, RI, E Gaitán, R Araya, O Toro, J Tohme & DG Debouck. 2004. BIC 47:167-168.
Mazariegos, LA. 2000. Hummingbirds of Colombia. Imprentibros. Cali, Colombia.