

# Avances en la caracterización de dos genes candidatos que confieren rasgos de maleza al arroz maleza colombiano

Verónica Hoyos<sup>1✉</sup>, Guido Plaza<sup>1</sup>, Ana L. Caicedo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 No. 45-03, Edificio 500, Bogotá D.C., Colombia

<sup>2</sup> University of Massachusetts, Morrill Science Center, 611 North Pleasant Street, Amherst, MA 01003-9297, USA

✉ vhojos@gmail.com

**Resumen:** El arroz maleza (AM) es una problemática importante en cultivos del arroz presentando rasgos adaptativos como desgrane, coloración del pericarpio y latencia. El objetivo del estudio fue determinar la variabilidad molecular en los genes *sh4* (desgrane) y *Rc* (coloración del pericarpio), analizando secuencias de ADN de 96 accesiones, incluidas variedades cultivadas (15), malezas (71) y silvestres (10). Para todas las accesiones de AM, el gen *sh4* mostró la mutación G/T responsable del no desgrane en el arroz domesticado; sin embargo, presentan fenotipo desgranador. Para el gen *Rc*, todas las accesiones con pericarpio blanco presentaron la delección de 14-bp responsable de la pérdida de color en cultivos. El 80% de las accesiones (AM y silvestres) con pericarpio rojo presentan genotipo silvestre y 20% ostentan la mutación causal de la pérdida de color.

**Palabras clave:** *Oryza sativa*, desgrane, coloración del pericarpio.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las especies de plantas malezas presentan un conjunto de características genéticas, fisiológicas, morfológicas y rasgos de historia de vida, algunos importantes para su éxito adaptativo (Radosevich et al., 2007). El éxito evolutivo de estas malezas está relacionado con la adquisición de características asociadas a plantas silvestres (mayor altura, desgrane y latencia de semillas) así como características de especies domesticadas (autofecundación, rápido crecimiento), siendo por lo tanto muy competitivas y con alta capacidad invasiva en los agroecosistemas actuales (Reagon et al., 2010). El arroz maleza pertenece al mismo género, y a veces a la misma especie que el arroz cultivado. Presenta morfología y fisiología similares a los cultivos, dificultando el manejo de estas especies, y dando como resultado mayores daños debido a la similitud en requerimientos del medio y provocando reinfestaciones mayores en los lotes de producción de arroz.

El arroz maleza posee características que permiten que sea altamente exitoso, tales como: excelente adaptación a prácticas agronómicas y condiciones ecológicas favorables al cultivo; ciclo biológico estrechamente sincronizado con el cultivo; alta producción de semillas ampliamente dispersables por desgrane fácil y precoz; rápida emergencia y crecimiento vegetativo vigoroso y competitivo; prolongada e intensa latencia de semillas (Delouche et al., 2007). En estado vegetativo, el arroz maleza es un mimico del cultivo (Valverde, 2005), la mayoría de tipos de arroz maleza son fenológica y morfológicamente muy similares al arroz cultivado desde el estado de plántula hasta la etapa reproductiva siendo difíciles diferenciarlos en campo (Delouche et al., 2007). En fase reproductiva presentan tres características indeseables: pericarpio de color rojizo y marrón, desgrane temprano de las panículas y latencia de semillas.

Para la comprensión de las bases moleculares de dos características indeseables del arroz maleza, se determinó la variabilidad molecular en los genes *sh4*, que regula la formación y función de la zona de abscisión responsable del desgrane, y *Rc*, responsable de la coloración del pericarpio.



promedio de 25,5 ( $\pm 10,9$ ) g, y finalmente las variedades locales con 30,3 ( $\pm 16,7$ ) g, resultados que coinciden con lo reportado en estudios anteriores (Thurber et al., 2010, Nunes et al., 2014).

Para todas las accesiones de arroz maleza, los resultados de la secuenciación del gen *sh4* mostraron presencia de la mutación G/T asociada al debilitamiento de la función del gen, responsable del no desgrane en el arroz domesticado (Fig. 2); sin embargo, las malezas colombianas presentan fenotipo desgranador (Fig. 1). Estos resultados coinciden con lo reportado por Thurber et al. (2010), donde todas las malezas de Estados Unidos y arroces cultivados comparten la mutación de no desgrane.

Secuencia	Tipo
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACAGGAGCGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG	Silvestre
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACAGGAGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG---GG	Arroz maleza
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACAGGAGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG---GG	Variedades locales
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACAGGAGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG---GG	Variedades comerciales

Figura 2. Alineación de la secuencia parcial de la región reguladora del gen *sh4* para *Oryzas* silvestres, arroz maleza, variedades comerciales y locales de Colombia.

Sin embargo, existen cuatro genes asociados a esta característica, *qSH1* (Konishi et al., 2006), *sh4* (Li et al., 2006), *OsCPL1* (Ji et al., 2010) y *SHAT1* (Zhou et al., 2012), de los cuales en el presente estudio solo se estudió el gen *sh4*, el cual regula la formación y función de la zona de abscisión, explicando aproximadamente el 69% de la variación fenotípica entre una variedad índica tradicional y el progenitor silvestre *Oryza nivara* (Li et al., 2006).

**3.2. Coloración del pericarpio.** Se registró la coloración del pericarpio para 96 accesiones (Fig. 3), donde se puede observar que el arroz domesticado (variedades comerciales y locales) presenta todas las accesiones con color blanco; por el contrario, los *Oryza* silvestre presentan color rojo en el pericarpio. El 77% de las accesiones de arroz maleza colombiano presenta coloraciones rojizas. Estos resultados coinciden con los reportes del arroz maleza en Malasia, en el cual el 83% de las accesiones presentan pericarpio rojo y el 17% blanco (Cui et al., 2016).

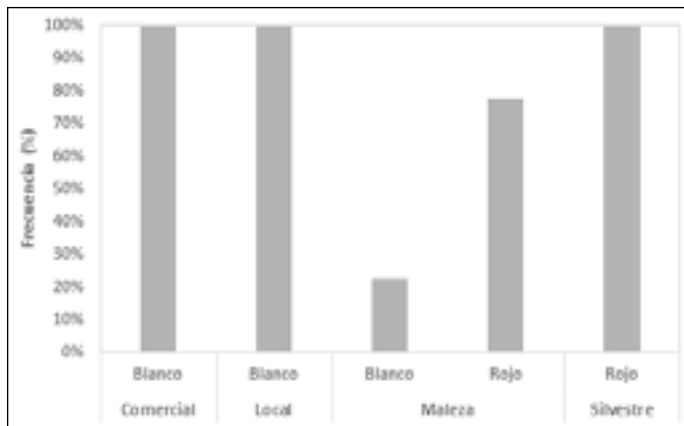


Figura 3. Fenotipo de coloración del pericarpio de semillas de arroz maleza, variedades comerciales y locales de Colombia y silvestres.

En cuanto al gen *Rc*, en todas las accesiones con pericarpio blanco (malezas y cultivos) se encontró la delección de 14-bp presente en el exón 7, responsable de la pérdida de color. En cuanto a accesiones con pericarpio rojo, el 80%, correspondiente a malezas y a *O. glumaepatula*, presentan el genotipo silvestre (no delección) y el 20% restante (malezas y silvestres tetraploides) ostentan la mutación causal de la pérdida de color.

Secuencia	Pericarpio	Tipo
AAAGTGGG-----TGGCATCCA	Blanco	Arroz maleza
AAAGTGGG-----TGGCATCCA	Blanco	Variedades locales
AAAGTGGG-----TGGCATCCA	Blanco	Variedades comerciales
AAAGTGGG-----TGGCATCCA	Rojo	Arroz maleza
AAAGTGGG-----TGGCATCCA	Rojo	Silvestres tetraploides
AAAGTGGGACGCGIAAAAGTCTGTGGCATCCA	Rojo	Arroz maleza
AAAGTGGGACGGCGIAAAAGTCTGTGGCATCCA	Rojo	Silvestre diploide

Figura 4. Alineación de la secuencia parcial de la región reguladora del gen *Rc* para *Oryzas* silvestres tetraploides (*O. grandiglumis*, *O. alta* y *O. latifolia*), silvestres diploide (*O. glumaepatula*), arroz maleza, variedades comerciales y locales de Colombia.

Los presentes resultados están de acuerdo con estudios anteriores los cuales muestran que las coloraciones blancas en el grano están asociadas con la delección de 14 bp (Furukawa et al., 2007; Sweeney et al., 2007). Igualmente, los resultados de arroz maleza con pericarpio rojo y presencia de la delección coinciden con estudios realizados en Tailandia (Prathepha, 2009), Estados Unidos (Gross et al., 2010), China (Li et al., 2014) y Malasia (Cui et al., 2016). Así mismo, concuerdan con estudios previos sobre el genotipo de *O. glumaepatula* (Gross et al., 2010; Li et al., 2014; Cui et al., 2016).

Para las accesiones de arroz maleza y silvestres tetraploides, que presentan el alelo *Rc* y fenotipo rojo, no se encontraron las demás mutaciones conocidas para el gen asociadas a la reversión en coloración del pericarpio, tales como *Rc<sup>r</sup>* (Lee et al., 2009) y *Rc-g* (Brooks et al., 2008).

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Instituciones de apoyo: National Science Foundation (NSF), Estados Unidos y Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación Colciencias, Colombia.

#### 5. REFERENCIAS

- Brooks SA, Yan W, Jackson AK and Deren CW (2008). A natural mutation in *rc* reverts white-rice-pericarp to red and results in a new, dominant, wild-type allele; *Rc-g*. *Theoretical Applied Genetics*, 117, 575-580.
- Cui Y, Song BK, Li L-F, Li Y-L, Huang Z, Caicedo AL, Jia Y and Olsen KM (2016). Little White Lies: Pericarp Color Provides Insights into the Origins and Evolution of Southeast Asian Weedy Rice. *G3: Genes[Genomes]Genetics*, 6, 4105-4114.
- Delouche JC, Burgos NR, Gealy DR, Zorrilla de San Martín G and Labrada R (2007). *Arroces maleza – origen, biología, ecología y control*. Estudio FAO producción y protección vegetal 188. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 173 p.
- Furukawa T, Maekawa M, Oki T, Suda I, Iida S, Shimada H, Takamura I and Kadowaki K (2007). The *Rc* and *Rd* genes are involved in proanthocyanidin synthesis in rice pericarp. *The Plant Journal*, 49, 91-102.

- Gross BL, Reagon M, Hsu S-C, Caicedo AL, Jia Y and Olsen K (2010). Seeing Red: The Origin of Grain Pigmentation in US Weedy Rice. *Molecular Ecology*, 19, 3380-3393.
- Ji H, Kim SR, Kim YH, Kim H, Eun MY, Jin ID, Cha YS, Yun DW, Ahn BO, Lee MC, Lee GS, Yoon UH, Lee JS, Lee YH, Suh SC, Jiang W, Yang JI, Jin P, McCouch SR, An G and Koh HJ (2010). Inactivation of the CTD phosphatase-like gene OsCPL1 enhances the development of the abscission layer and seed shattering in rice. *The Plant Journal*, 61, 96-106.
- Konishi S, Izawa T, Lin SY, Ebana K, Fukuta Y, Sasaki T and Yano M (2006). An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication. *Science*, 312, 1392-1396.
- Lee D, Lupotto E and Powell W (2009). G-string slippage turns white rice red. *Genome*, 52, 490-493.
- Li C, Zhou A and Sang T (2006). Rice Domestication by Reducing Shattering. *Science*, 311, 1936-1939.
- Li X-y, Qiang S, Song X-l, Cai K, Sun Y-n, Shi Z-h and Dai W-m (2014). Allele Types of Rc Gene of Weedy Rice from Jiangsu Province, China. *Rice Science*, 21, 252-261.
- Nunes AL, Delatorre CA and Merotto Jr A (2014). Gene expression related to seed shattering and the cell wall in cultivated and weedy rice. *Plant Biology*, 16, 888-896.
- Prathepha P (2009). Pericarp Color and Haplotype Diversity in Weedy Rice (*O. sativa* f. *spontanea*) from Thailand. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12, 1075-1079.
- Radosevich SR, Holt JS and Ghersa CM (2007). *Ecology of Weeds and Invasive Plants: relationship to agriculture and natural resource management*. 3ra. edición. John Wiley & Sons, USA. 472 p.
- Reagon M, Thurber CS, Gross BL, Olsen KM, Jia Y and Caicedo AL (2010). Genomics patterns of nucleotide diversity in divergent populations of U.S. weedy rice. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 180.
- Sweeney MT, Thomson MJ, Cho YG, Park YJ, Williamson SH, Bustamante CD and McCouch SR (2007). Global dissemination of a single mutation conferring white pericarp in rice. *PLoS Genet*, 3, e133.
- Thurber CS, Reagon M, Olsen J, Jia Y and Caicedo AL (2010) Molecular evolution of shattering loci in U.S. weedy rice. *Molecular Ecology*, 19, 3271-3284.
- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M and Rozen SG (2012). Primer3 - new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40, e115.
- Valverde BE (2005). The damage by weedy rice – can feral rice remain undetected?. *Crop Fertility and Volunteerism*. Ed. by Gressel J. pp. 279-294. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Zhou Y, Lu D, Li C, Luo J, Zhu BF, Zhu J, Shangguan Y, Wang Z, Sang T, Zhou B and Han B (2012). Genetic control of seed shattering in rice by the APETALA2 transcription factor Shattering Abortion1. *Plant Cell*, 24, 1034-1048.

---

### Advances in the characterization of two candidate genes underlying weed-adaptive traits in Colombian weedy rice

**Summary:** Weed rice (WR) is an important problem in rice crops and has adaptive traits such as shattering, pericarp coloration and dormancy. The objective of the study was to determine the molecular variability in the sh4 (shattering) and Rc (pericarp color) genes, by analyzing DNA sequences from 96 accessions including cultivated varieties (15), weed (71) and wild (10). For all WR accessions, the sh4 gene showed the G/T mutation responsible for non-shattering in domesticated rice; however, they present a shattering phenotype. For the Rc gene, all the accessions with white pericarp presented the deletion of 14-bp, responsible for the loss of color in crops, 80% of the accessions (WR and wild) with red pericarp present wild genotype and 20% show the causal mutation of the color loss.

**Keywords:** *Oryza sativa*, shattering, pericarp color.