

M.A. Guevara^{1,2*}, C. Díaz-Sala³, M.T. Cervera^{1,2}

¹ Genómica y Ecofisiología Forestal, Departamento de Ecología y Genética Forestal, Centro de Investigación Forestal (INIA-CIFOR), Crta. de la Coruña, km 7,5, 28040 Madrid

² Unidad Mixta de Genómica y Ecofisiología Forestal, INIA/UPM, Madrid

³ Grupo de Biotecnología Agroforestal, Departamento de Ciencias de la Vida, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid

* Correo electrónico: aguevara@inia.es

30

Regulación epigenética de la respuesta adaptativa al cambio climático de las especies vegetales

Resultados clave

- Estudios recientes han mostrado que además del componente genético, la variación epigenética contribuye a la plasticidad fenotípica y al potencial adaptativo de los individuos y poblaciones.
- Los mecanismos epigenéticos, potencialmente heredables y reversibles, permiten una rápida adaptación de la planta a nuevas condiciones ambientales sin necesidad de cambiar su secuencia de DNA.

Contexto

El término epigenética aparece por primera vez en el año 1942 para definir la rama de la biología que estudia las interacciones entre el genotipo y el fenotipo y como la variabilidad de uno y otro no siempre están relacionadas (Waddington 1942). Actualmente la definición más extendida hace referencia al estudio de cambios heredables en la función génica que se producen sin un cambio en la secuencia del DNA y que son potencialmente reversibles (Bonasio et al. 2010, Nicotra et al. 2010).

Los mecanismos epigenéticos implicados en la regulación génica incluyen: metilación del DNA, modificación química de histonas y RNAs no codificantes (ncRNAs). La metilación del DNA consiste en la unión covalente de grupos metilo a nucleótidos de citosina; estas metilaciones pueden ser simétricas (CG y CHG) o asimétricas (CHH, donde H= A, T o C), siendo las primeras las más comunes en plantas. La modificación química de las histonas incluye metilaciones (Krauss 2008), acetilaciones, fosforilaciones (Demidov et al. 2009) y ubiquitaciones (Kouzarides 2007) que influyen

en las interacciones entre nucleosomas y, por tanto, en el grado de condensación de la cromatina. Estos procesos no son independientes y a menudo regulan la expresión génica de forma coordinada. Los cambios en la estructura de la cromatina provocados por estos mecanismos alteran la accesibilidad del DNA a los factores de transcripción y, por lo tanto, van a influir en que genes se pueden expresar.

La regulación epigenética juega un papel importante en el desarrollo de las plantas. Varios estudios han demostrado un incremento de la metilación desde las primeras etapas del desarrollo de la planta incluso a nivel de los propios órganos vegetativos y reproductivos, siendo algunos patrones de metilación específicos de tejido (Ruiz-García et al. 2005, Zhang et al. 2011, Fraga et al. 2002a,b). Los patrones epigenéticos son generalmente borrados en la nueva generación para prevenir el establecimiento de nuevos epialelos pero se han descrito ejemplos de epialelos heredables que afectan al desarrollo de la planta. En *Linaria vulgaris*, planta cuyas flores tienen simetría bilateral y son polinizadas por abejas, se ha descrito una epimutación que suprime la expresión del gen *CYCLOIDEA (Lcyc)* durante la floración generando una simetría radial que dificulta la polinización por las abejas (Cubas et al. 1999). La ausencia de maduración del fruto causada por la hipermetilación del gen *COLORLESS NON-RIPENING (CNR)* en tomate es otro ejemplo de cómo los mecanismos epigenéticos pueden afectar al desarrollo jugando un papel clave en la dispersión de las semillas (Manning et al. 2006, Ecker 2013).

Determinadas señales ambientales pueden afectar al desarrollo de la planta a través de mecanismos epigenéticos. Algunos ejemplos son: la regulación de la expresión del gen *FLOWERING LOCUS C (FLC)* durante la vernalización en *Arabidopsis thaliana*, siendo

necesario que la planta soporte un largo periodo de frío para que se produzcan cambios en la cromatina que supriman la expresión de FLC y permitan la floración (Bastow et al. 2004), o el descenso de los niveles de metilación de DNA total e incremento de la acetilación de la histona 4 observados durante la brotación de castaño (*Castanea sativa*) cuando las condiciones son favorables (Santamaría et al. 2009)

En un escenario de cambio climático los cultivos anuales como las especies frutales y forestales deberán emplear su potencial adaptativo para tratar de sobrevivir y ser competitivos en las nuevas condiciones ambientales. Los cambios epigenéticos pueden ser críticos frente a cambios drásticos del ambiente al conferir a la planta capacidad de respuesta rápida y reversible, permitiéndole adaptarse tanto a corto como a largo plazo mediante lo que se conoce como “memoria epigenética”. En dientes de león (*Taraxacum officinale*), con reproducción apomítica, se han observado cambios en los patrones de metilación del DNA en respuesta a

diferentes tratamientos de estrés abiótico y biótico (por ejemplo, respuesta a patógenos, herbívoros, alta concentración de sal y baja concentración de nutrientes). Estos patrones de metilación alterados se transmitieron a la siguiente generación en condiciones control, lo que refleja una plasticidad epigenética transgeneracional de un único genotipo en respuesta a un estrés ambiental (Verhoeven et al. 2010). Esta memoria al estrés que se transmite a la progenie puede permitir a la descendencia mejorar su respuesta al mismo tipo de estrés (Bossdorf et al. 2008).

Los organismos con periodos de vida y tiempos de generación largos, como gran parte de las especies leñosas, deben adecuar su desarrollo y crecimiento a las condiciones ambientales prevalecientes. Los mecanismos epigenéticos pueden contribuir mediante marcadores reversibles, algunos heredables, a establecer una “memoria temporal” (Kvaalen & Johnsen 2008, Yakovlev et al. 2010).

Definiciones:

Caracteres funcionales: caracteres cuantitativos relacionados con el *fitness* y éxito del individuo en un determinado ambiente.

Epigenética: estudio de cambios heredables en la función génica que se producen sin un cambio en la secuencia del ADN y que son potencialmente reversibles.

Epialelos: alelos de un gen idénticos a nivel de la secuencia de DNA pero que difieren en sus modificaciones epigenéticas. Estas diferencias epigenéticas suelen estar asociadas a diferencias en la expresión de los epialelos.

Fitness: medida del éxito reproductivo de un individuo.

Plasticidad fenotípica: rango de fenotipos que un genotipo puede expresar como consecuencia de su interacción con el ambiente.

Resultados y Discusión

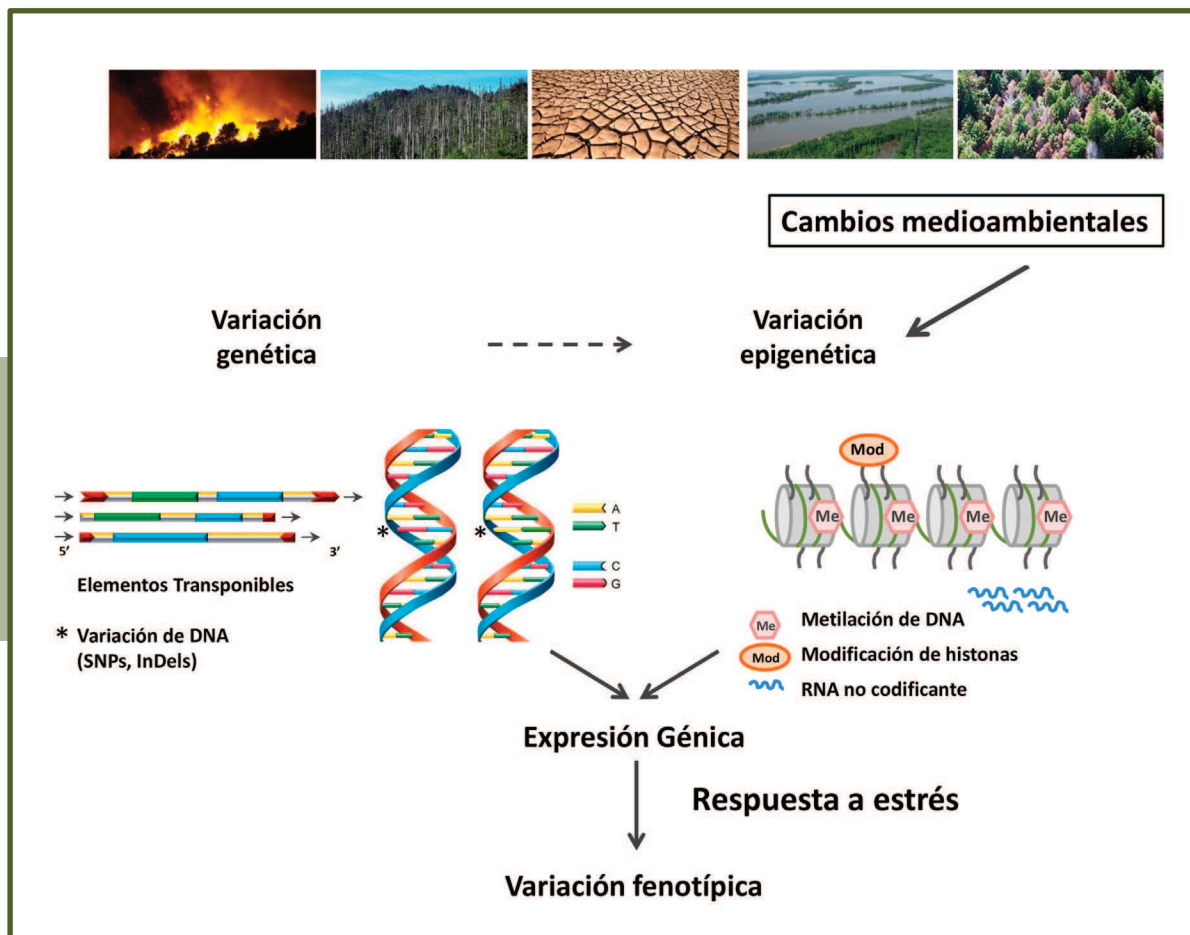
Variabilidad epigenética en poblaciones naturales. Plasticidad fenotípica

Los avances recientes en el ámbito de la epigenética vegetal han aportado datos sobre la regulación mediante mecanismos epigenéticos de la variación fenotípica en poblaciones naturales. De todos los mecanismos involucrados en la maquinaria epigenética (Bräutigam et al. 2013), la metilación de DNA es el más estudiado en la regulación de la variabilidad fenotípica en poblaciones naturales (Robertson & Wolf 2012, Zang et al. 2013).

La relación entre variación genética, epigenética, variación fenotípica y adaptación a factores ambientales ha sido estudiada en violeta y orquídea (Herrera & Bazaga 2010, Paun et al. 2010). Estos estudios han demostrado una variación fenotípica adaptativa mediada por una coordinación de mecanismos genéticos y epigenéticos que regulan procesos adaptativos y evolutivos, y que resultan en una diversidad fenotípica natural que afecta a numerosos procesos de desarrollo y de respuesta a condiciones naturales cambiantes (Figura 1).

La relación entre variación epigenética natural y la variación fenotípica que afecta a la morfología floral y al tiempo de floración se ha descrito en genes que controlan la expresión de estos caracteres en especies como *Linaria vulgaris*, *Arabidopsis thaliana* o *Solanum ruiz-lealii* a nivel individual y a nivel de ecotipos (Cubas et al. 1999, Cervera et al. 2002, Bastow et al. 2004, Johannes et al. 2009, Marfil et al. 2009). En *Arabidopsis*, uno de los estudios más avanzados en este campo es la regulación por mecanismos epigenéticos de la expresión del gen *FLOWERING LOCUS C (FLC)* que controla el tiempo de floración, tal y como se señaló en el apartado anterior. Además se han descrito asociaciones entre la variación de estos genes y la latitud, temperatura y precipitaciones que sugieren que la influencia de estos factores sobre el control epigenético de los genes involucrados podría ser importante en la adaptación de individuos o ecotipos concretos a variaciones estacionales y situaciones ambientales cambiantes a nivel local (Mendez-Vigo et al. 2011). En todos estos casos, se ha demostrado una correlación entre cambios en el modelo de la metilación del DNA y los cambios en la expresión de los caracteres sin existir variación en la secuencia nucleotídica, lo que puede indicar que el control de la expresión de estos caracteres pudiera tener un componente epigenético independiente de la variación genética. Este componente epigenético estaría mediado por la presencia de epialelos

■ **Figura 1**



▲ **Figura 1.** Esquema simplificado de cómo la variabilidad genética y epigenética de las especies vegetales contribuyen a su variabilidad fenotípica frente a cambios medioambientales.

Fuente: elaboración propia.

en el genoma, es decir, alelos idénticos de un gen a nivel de secuencia nucleotídica del DNA pero que difieren en sus modificaciones epigenéticas. La presencia de epialelos suele estar asociada a diferencias en la expresión de los alelos. Por tanto, el control epigenético podría resultar en una variación fenotípica de potencial importancia ecológica.

Otra fuente de variación epigenética natural surge de los procesos de poliploidización. Se han descrito cambios epigenéticos a nivel genómico que se inducen por duplicación génica (Doyle et al. 2008). Además, las nuevas variantes epigenéticas originadas por duplicación genómica aportan un potencial de divergencia fenotípica y ecológica entre poliploides y sus taxones parentales (Doyle et al. 2008). Así, comparaciones del nivel de metilación de DNA entre tres especies aloploides de orquídeas procedentes del mismo taxón parental mostraron una gran divergencia en los perfiles de metilación que fueron correlacionados con el ambiente de crecimiento (Paun et al. 2010).

Los cambios en las condiciones ambientales también pueden inducir cambios significativos en las marcas y maquinaria epigenéticas que pueden desempeñar un papel importante en las respuestas plásticas al ambiente (Mirouze & Paszkowski 2011, Richards et al. 2011), y

que han sido particularmente estudiadas en la respuesta de las plantas al estrés ambiental (Bruce et al. 2007). Cambios persistentes en las modificaciones epigenéticas pueden incluso crear una “memoria de estrés” que en algunos casos es heredada por la progenie no sometida a condiciones de estrés pero que presumiblemente prepara a la nueva generación para responder a esas nuevas condiciones (Bruce et al. 2007, Scoville et al. 2011). En este sentido, tanto el fenotipo estresado como los cambios en la metilación de DNA asociados a ese estrés se heredaron durante tres generaciones en *Taraxacum officinale* (Verhoeven et al. 2010). El análisis de líneas recombinantes consanguíneas epigenéticas (epiRILs) de *Arabidopsis* crecidas en distintas condiciones ambientales demostró que la variación del estado de metilación del DNA puede causar una importante variación heredable en caracteres de interés desde un punto de vista ecológico, como por ejemplo tolerancia a la sequía o a limitación de nutrientes, así como en su plasticidad (Zang et al. 2013).

Los árboles son organismos con largos y complejos ciclos vitales que tienen que enfrentarse con ambientes variables durante periodos largos de vida. Por tanto, los árboles tienen una alta capacidad de adaptación y, en general, manifiestan una alta plasticidad fenotípica. Además del componente genético, la variación epigenética también contribuye a la plasticidad fenotípica y al

potencial de adaptación de los árboles. Los datos sobre variación natural de marcas epigenéticas y su relación con la variabilidad fenotípica en árboles son más escasos. Así, en *Laguncularia racemosa*, se detectó una mayor variación en la metilación de DNA en comparación con la variación genética dentro y entre poblaciones de árboles en ambientes cambiantes, lo que también sugiere que la variación epigenética juega un papel importante en la adaptación a largo plazo de árboles a distintos ambientes (Lira-Medeiros et al. 2010). Debido a los largos ciclos vitales de los árboles, son necesarios ajustes de desarrollo que permitan mantener la flexibilidad para coordinar y sincronizar crecimiento y desarrollo con condiciones ambientales cambiantes a corto, medio y largo plazo. En este sentido, variaciones en metilación de DNA y en la modificación de histonas se han correlacionado con cambios morfológicos y fisiológicos en una variedad de procesos relacionados con ajustes a condiciones ambientales como cambios de fase, madurez de órganos, dormición de yemas o fenología, en general (Díaz-Sala et al. 1995, Fraga et al. 2002a,b, Rhode 2009, Santamaría et al. 2009). Se han descrito cambios significativos en la expresión génica y en las modificaciones epigenéticas durante la dormición de yemas, proceso vital de adaptación a cambios estacionales. Bajos niveles de metilación de DNA y altos niveles de acetilación de determinadas histonas se asociaron a crecimiento de yemas, mientras que altos niveles de metilación y bajos de acetilación de histonas específicas se asociaron a dormición (Santamaría et al. 2009). La plasticidad en las modificaciones epigenéticas también ha sido observada en la respuesta fenológica de plántulas desarrolladas en años con temperaturas cambiantes. En abeto se ha descrito una memoria epigenética dependiente de la temperatura existente durante el desarrollo del embrión y que influye el tiempo de apertura de yemas en primavera, cese de crecimiento de tallos en verano, dormición de yemas y aclimatación al frío en otoño, así como cambios significativos de expresión génica en cada etapa (Yakovlev et al. 2010). En *Pinus pinea*, una especie con escasa variabilidad genética, se han detectado altos porcentajes de variación en los niveles de metilación de ADN al analizar individuos de varias poblaciones costeras y de interior (Sáez-Laguna et al. 2014).

El control de la variación epigenética puede ser ambiental, genético o independiente de ambos. Por consiguiente, los caracteres epigenéticos pueden verse sometidos a procesos selectivos a través de genes que controlan la variación epigenética del carácter o a través de epialelos que se heredan (Robertson & Wolf 2012). Asimismo, las epimutaciones al azar y la estabilidad de los epialelos son factores a tener en cuenta durante la evolución (Richards et al. 2012). La tasa de epimutación puede afectar a la diversidad epigenética y a las frecuencias de equilibrio de epialelos, por tanto, en general, la variación epigenética puede contribuir significativamente a la adaptación. Estudios en *Arabidopsis* han demostrado que la tasa de epimutaciones es mayor que la de mutaciones, al menos en sitios específicos del genoma, en plantas mantenidas en un mismo ambiente de crecimiento. Las tasas de epimutaciones al azar en poblaciones naturales podrían estar influenciadas por el ambiente y correlacionarse con cambios fenotípicos específicos. Por otra parte, la reversibilidad de las epimutaciones, que afectan fundamentalmente a dos estados alélicos (citosina metilada y citosina no metilada), es más frecuente que la de las mutaciones en la

secuencia de nucleótidos. Por tanto, la tasa de reversión puede ser importante a nivel poblacional, ya que puede facilitar reversión en cambios fenotípicos que pueden ser beneficiosos ante fluctuaciones ambientales temporales o espaciales (Becker et al. 2011). De igual modo, la ventaja de la plasticidad transgeneracional, es decir, de las epimutaciones heredables que se correlaciona con la adaptación a cambios ambientales de los parentales, podría ser la expresión de una mezcla de fenotipos en la progenie que pueda enfrentar ambientes cambiantes impredecibles (Jablonka et al. 1995).

■ Recomendaciones para la adaptación

En un contexto de cambio climático, la plasticidad fenotípica puede ser un factor que module la respuesta adaptativa de la planta, permitiendo que ésta responda rápidamente a cambios bruscos del entorno acaecidos a corto plazo y que, a la vez, ajuste su respuesta adaptativa frente a cambios a largo plazo, e incluso que la transmita a su descendencia.

La variación epigenética puede contribuir en gran medida a la plasticidad fenotípica o variación fenotípica asociada a cambios medioambientales, y puede ser de especial relevancia en poblaciones con escasa variabilidad genética o que se encuentren en hábitats expuestos a cambios medioambientales bruscos (Figura 1). Los mecanismos epigenéticos contribuyen a la divergencia adaptativa entre poblaciones.

Por consiguiente, ambos tipos de variación, genética y epigenética, son una fuente importante de varianza en caracteres funcionales, que determinan no sólo la supervivencia sino el éxito del individuo como, por ejemplo, caracteres relacionados con la tolerancia a estreses y caracteres reproductivos.

Ante un escenario de cambio climático es importante poder determinar el nivel de variación fenotípica heredable (plasticidad transgeneracional mediada por epialelos), determinada por el componente epigenético y el nivel de variación fenotípica no heredable, para aplicarlas en el manejo de los recursos genéticos según la naturaleza de los mismos. El significado de los epialelos en las poblaciones naturales dependerá de su frecuencia y estabilidad (Rohde & Junttila 2008). Asimismo, en un escenario en el que los cambios medioambientales son frecuentes a lo largo de una generación, la plasticidad transgeneracional no aporta grandes beneficios, aunque, si el ambiente permanece estable durante unas pocas generaciones, el ambiente en el que habitan los progenitores puede predecir el de su descendencia, siendo beneficioso para la misma heredar el fenotipo de sus progenitores a través de la llamada “memoria transgeneracional”.

■ Material suplementario

Es importante tener en cuenta que no existen métodos cuantitativos que permitan distinguir entre los componentes genéticos y epigenéticos que afectan a un carácter. En un análisis clásico, el componente epigenético contribuirá a la variabilidad genética y/o a la fenotípica (Kalisz & Purugganan 2004), incrementando la variabilidad del carácter. En consecuencia, y como ejemplo, las clinas genéticas observadas al estudiar caracteres fenológicos podrían reflejar adaptaciones locales más que diferencias genéticas. El empleo de estructuras genéticas apropiadas ha mostrado que caracteres como la eficiencia energética y la homeostasis de la energía, que son parte integrante del rendimiento, tienen un componente epigenético que puede ser dirigido y estabilizado por selección artificial (De Block & Van Lijsebettens 2011).

Asimismo, la introducción del componente epigenético en un contexto ecológico (epigenética ecológica) permite complementar el componente genético proporcionando una visión más holística de la dinámica del genoma (Bossdorf et al. 2008). Para incorporar de forma eficaz el componente epigenético debemos mejorar nuestro conocimiento sobre el alcance y la estructura de la variación epigenética en y entre las poblaciones naturales. Asimismo, es importante determinar en qué medida pueden los factores ambientales bióticos y abióticos inducir cambios epigenéticos heredables y determinar la importancia relativa de la variación epigenética para determinar el resultado de las interacciones ecológicas. Esta información nos permitirá mejorar nuestra comprensión de los mecanismos que subyacen a la variación fenotípica natural y de las respuestas de los organismos a los cambios ambientales.

Desde un punto de vista básico, el estudio epigenético ha permitido cuestionar algunos de los dogmas de la genética y biología. Por ejemplo, la movilidad de los elementos transponibles (TE) cuestiona el dogma de que todas las células de un individuo comparten el mismo genoma. Se ha observado que el estrés ambiental, principalmente en combinación con una regulación epigenética alterada, conduce a la movilización de los elementos transponibles endógenos (Ito et al. 2011). Aunque se desconoce hasta qué punto esa movilización de TE participa en la evolución y adaptación de las plantas (Mirouze & Paszkowski 2011), cada vez contamos con un mayor número de evidencias que muestran el potencial de los TEs para crear redes que modifican la regulación transcripcional de los genes y por consiguiente participan en el control de la regulación génica (Mattick et al. 2009).

Por otro lado, el dogma que asociaba el estado de compactación de la cromatina con la actividad transcripcional, es decir, cromatina no compactada, transcripcionalmente activa (eucromatina) frente a la cromatina compactada, silenciada (heterocromatina), parece ser una simplificación que no se ajusta a la realidad (Roudier et al. 2011, Van Steensel 2011). La estructura de la cromatina de especies modelo como *Drosophila* y *Arabidopsis* parece ser más compleja y estar constituida por varios tipos atendiendo a las marcas epigenéticas, a su localización nuclear y a las proteínas que se unen. Estos tipos de cromatina favorecerían o prevendrían la asociación de los factores de transcripción, definiendo los patrones de expresión génica.

El conocimiento de la secuencia del genoma de numerosas especies vegetales (incluyendo cultivos y especies leñosas frutales y forestales), junto con el desarrollo de las nuevas técnicas de análisis masivo, ha permitido abordar estudios epigenéticos tanto a nivel de genes y regiones específicas del genoma e incluso examinar las modificaciones epigenéticas en estudios masivos abordados por la epigenómica. Los estudios epigenéticos abarcan un gran número de técnicas complementarias dirigidas al análisis de diferentes componentes epigenéticos. A continuación se proporciona una breve descripción para indicar los análisis más habituales asociados a cada tipo de modificación:

- Análisis de modificaciones de cromatina y de RNAs no codificantes (ncRNAs): en la actualidad, los distintos tipos de modificaciones de histonas pueden analizarse utilizando técnicas de inmunoprecipitación de cromatina, empleando anticuerpos específicos, identificándolos mediante hibridaciones de microordenamientos (ChIP) o secuenciación masiva (ChIP-seq). La secuenciación masiva ha permitido identificar y cuantificar los siRNAs permitiendo identificar las dianas de la metilación del DNA dirigida por RNA (*RdDM*, mediada por RNAs de 24nt de longitud), y del silenciamiento génico post-transcripcional (*PTGS*, mediado por RNAs de 21 nt de longitud) y su dinámica.
- Análisis de metiloma de DNA. Dos técnicas se emplean principalmente en el estudio de los metilomas vegetales: inmunoprecipitación con anticuerpos que reconocen las citosinas metiladas (MeDIP) o empleo de enzimas sensibles a metilación que permiten la identificación de DNA metilado, en ambos casos se identifica mediante hibridación de un microordenamiento o mediante secuenciación masiva. El último grupo de técnicas se basa en la transformación de las citosinas metiladas en uracilos mediante tratamiento de DNA con bisulfito, introduciendo cambios en la molécula original de DNA que pueden detectarse mediante secuenciación masiva (BS-Seq).
- Análisis de elementos transponibles (TEs): El análisis de la expresión de los TEs puede monitorizarse empleando CAGE (*cap analysis of gene expression*, Faulkner & Carninci 2009, Faulkner et al. 2009). Asimismo, las técnicas de hibridación genómica comparativa (CGH) se han empleado para determinar la variabilidad en el número de copias de los TEs.

Referencias bibliográficas

- Bastow R, Mylne JS, Lister C, Lippman Z, Martienssen RA, Dean C (2004) Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature* 427:164-167
- Becker CI, Hagmann J, Müller J, Koenig D, Stegle O, Borgwardt K, Weigel D (2011) Spontaneous epigenetic variation in the *Arabidopsis thaliana* methylome. *Nature* 480:245-249
- Bonasio R, Tu S, Reinberg D (2010) Molecular Signals of Epigenetic States. *Science* 330:612-616
- Bossdorf O, Richards CL, Pigliucci M (2008) Epigenetics for ecologists. *Ecology Letters* 11:106-115
- Bräutigam K, Vinning KJ, Lafon-Placette C, Fossdal CG, Mirouze M, Gutiérrez-Marcos J, Fluch S, Fernández-Fraga M, Guevara MA, Abarca D, Johnsen Ø, Maury S, Strauss SH, Campbell MM, Rohde A, Díaz-Sala C, Cervera MT (2013) Epigenetic regulation of adaptive responses of forest tree species to the environment. *Ecology and Evolution* 3:399-415
- Bruce TJA, Matthes MC, Napier JA, Pickett JA (2007) Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Science* 173:603-608
- Cervera MT, Ruiz-García L, Martínez-Zapater JM (2002) Analysis of DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* based on methylation-sensitive AFLP markers. *Molecular Genetics and Genomics* 268:543-552
- Cubas P, Vincent C, Coen E (1999) An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. *Nature* 401:157-161
- De Block M, Van Lijsebettens M (2011) Energy efficiency and energy homeostasis as genetic and epigenetic components of plant performance and crop productivity. *Current Opinion in Plant Biology* 14: 275-282
- Demidov D, Hesse S, Tewes A, Rutten T, Fuchs J, Ashtiyani RK, Lein S, Fischer A, Reuter G, Houben A (2009) Aurora1 phosphorylation activity on histone H3 and its cross-talk with other post-translational histone modifications in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 59:221-230
- Díaz-Sala C, Rey M, Boronat A, Besford R, Rodríguez R (1995) Variations in the DNA methylation and polypeptide patterns of adult hazel (*Corylus avellana* L.) associated with sequential in vitro subcultures. *Plant Cell Reports* 15:218-221
- Doyle JJ, Flagel LE, Paterson AH, Rapp RA, Soltis DE, Soltis PS, Wendel JF (2008) Evolutionary Genetics of Genome Merger and Doubling in Plants. *Annual Review of Genetics* 42:443-461
- Ecker JR (2013) Epigenetic trigger for tomato ripening. *Nature Biotechnology* 31:119-120
- Faulkner GJ, Carninci P (2009) Altruistic functions for selfish DNA. *Cell Cycle* 8:2895-2900
- Faulkner GJ, Kimura Y, Daub CO, Wani S, Plessy C, Irvine KM, Schroder K, Cloonan N, Steptoe AL, Lassmann T, Waki K, Hornig N, Arakawa T, Takahashi H, Kawai J, Forrest AR, Suzuki H, Hayashizaki Y, Hume DA, Orlando V, Grimmond SM, Carninci P (2009) The regulated retrotransposon transcriptome of mammalian cells. *Nature Genetics* 41:563-571
- Fraga MF, Canal MJ, Rodríguez R (2002a) Phase-change related epigenetic and physiological changes in *Pinus radiata* D. Don. *Planta* 215:672-678
- Fraga MF, Rodríguez R, Canal MJ (2002b) Genomic DNA methylation-demethylation during aging and reinvigoration of *Pinus radiata*. *Tree Physiology* 22:813-816
- Herrera CM, Bazaga P (2010) Epigenetic differentiation and relationship to adaptive genetic divergence in discrete populations of the violet *Viola cazorlensis*. *New Phytologist* 187:867-876
- Ito H, Gaubert H, Bucher E, Mirouze M, Vaillant I, Paszkowski J (2011) An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress. *Nature* 472:115-119
- Jablunka E, Obomy B, Molnar I, Kisdi E, Hofbauer J, Czarán T (1995) The adaptive advantage of phenotypic memory in changing environments. *Philosophical transactions Of the Royal Society of London Series B* 350:133-141
- Johannes F, Porcher E, Teixeira FK, Saliba-Colombani V, Simon M, Agier N, Bulski A, Albuissou J, Heredia F, Audigier P, Bouchez D, Dillmann C, Guerche P, Hospital F, Colot V (2009) Assessing the impact of transgenerational epigenetic variation on complex traits. *PLoS Genetics* 5:e1000530
- Kalisz S, Purugganan MD (2004) Epialleles via DNA methylation: consequences for plant evolution. *Trends in Ecology Evolution* 19:309-314
- Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. *Cell* 128:693-705
- Krauss V (2008) Glimpses of evolution: heterochromatic histone H3K9 methyltransferases left its marks behind. *Genetica* 133:93-106
- Kvaalen H, Johnsen Ø (2008) Timing of bud set in *Picea abies* is regulated by a memory of temperature during zygotic and somatic embryogenesis. *New Phytologist* 177:49-59
- Lira-Medeiros CF, Parisod C, Fernandes RA, Mata CS, Cardoso MA, Ferreira PC (2010) Epigenetic variation in mangrove plants occurring in contrasting natural environment. *PLoS ONE* 5:e10326
- Manning K, Tör M, Poole M, Hong Y, Thompson AJ, King GJ, Giovannoni JJ, Seymour GB (2006) A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening. *Nature Genetics* 38:948-952
- Marfil CF, Camadro EL, Masuelli RW (2009) Phenotypic

- instability and epigenetic variability in a diploid potato of hybrid origin, *Solanum ruiz-lealii*. *BMC Plant Biol* 9:21
- Mattick JS, Taft RJ, Faulkner GJ (2009) A global view of genomic information - moving beyond the gene and the master regulator. *Trends in Genetics* 26:21-28
- Méndez-Vigo B, Picó FX, Ramiro M, Martínez-Zapater JM, Alonso-Blanco C (2011) Altitudinal and climatic adaptation is mediated by flowering traits and *FRI*, *FLC* and *PHYC* Genes in Arabidopsis. *Plant Physiology* 157:1942-1955
- Mirouze M, Paszkowski J (2011) Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 14:267-274
- Nicotra AB, Atkin OK, Bonser SP, Davidson AM, Finnegan EJ, Mathesius U, Poot P, Purugganan MD, Richards CL, Valladares F, van Kleunen M (2010) Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science* 15:684-692
- Paun O, Bateman RM, Fay MF, Hedren M, Civeyrel L, Chase MW (2010) Stable epigenetic effects impact adaptation in allopolyploid orchids (*Dactylorhiza*: Orchidaceae). *Molecular Biology and Evolution* 27:2465-2473
- Richards CL, Vehoeven KJF, Bossdorf O (2012) Evolutionary Significance of Epigenetic Variation. En: Wendel JF, Greilhuber J, Dolezel J, Leitch IJ, editores. *Plant Genome Diversity Vol 1*. Springer-Verlag, Wien. pp 257-274
- Richards RJ (2011) Natural epigenetic variation in plant species: a view from the field. *Current Opinion in Plant Biology* 14:204-209
- Robertson AL, Wolf DE (2012) The role of epigenetics in plant adaptation. *Trends in Evolutionary Biology* 4:e4
- Rohde A (2009) Bud set - a landmark of the seasonal growth cycle in poplar. En: Gusta LV, Wisniewski ME, Tanino KK, editores. *Plant Cold Hardiness*. MA: CABI, Cambridge. pp. 91-98
- Rohde A, Junttila O (2008) Remembrances of an embryo: long-term effects on phenology traits in spruce. *New Phytologist* 177:2-5
- Roudier F, Ahmed I, Bérard C, Sarazin A, Mary-Huard T, Cortijo S, Bouyer D, Caillieux E, Duvernois-Berthet E, Al-Shikhley L, Giraut L, Després B, Drevensek S, Barneche F, Dèrozier S, Brunaud V, Aubourg S, Schnittger A, Bowler C, Martin-Magniette ML, Robin S, Caboche M, Colot V (2011) Integrative epigenomic mapping defines four main chromatin states in Arabidopsis. *The EMBO Journal* 30:1928-1938
- Ruiz-García L, Cervera MT, Martínez-Zapater JM (2005) DNA methylation increases throughout Arabidopsis development. *Planta* 222:301-306
- Sáez-Laguna E, Guevara MA, Díaz LM, Sánchez-Gómez D, Collada C, Aranda I, Cervera MT (2014) Epigenetic variability in the genetically uniform forest tree species *Pinus pinea* L. *PLoS ONE* 9 (8): e103145. doi:10.1371/journal.pone.0103145
- Santamaría ME, Hasbún R, Valera MJ (2009) Acetylated H4 histone and genomic DNA methylation patterns during bud set and bud burst in *Castanea sativa*. *Journal of Plant Physiology* 166:1360-1369
- Scoville AG, Barnett LL, Bodbyl-Roels S, Kelly JK, Hileman LC (2011) Differential regulation of a MYB transcription factor is correlated with transgenerational epigenetic inheritance of trichome density in *Mimulus guttatus*. *New Phytologist* 191:251-263
- Van Steensel B (2011) Chromatin: constructing the big picture. *The EMBO Journal* 30:1885-1895
- Verhoeven KJ, Jansen JJ, van Dijk PJ, Biere A (2010) Stress-induced DNA methylation changes and their heritability in asexual dandelions. *New Phytologist* 185:1108-1118
- Waddington CH (1942) The epigenotype. *Endeavour* 1:18-20
- Yakovlev IA, Fossdal CG, Johnsen Ø (2010) MicroRNAs, the epigenetic memory and climatic adaptation in Norway spruce. *New Phytologist* 187:1154-1169
- Zhang M, Xu C, Wettstein D, Liu B (2011) Tissue-specific differences in cytosine methylation and their association with differential gene expression in Sorghum. *Plant Physiology* 156:1955-1966
- Zhang YY, Fischer M, Colot V, Bossdorf O (2013) Epigenetic variation creates potential for evolution of plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 197:314-322