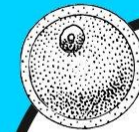


SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY PRESENTS:

**IMPACT OF CHROMATIN DOMAINS  
ON PLANT PHENOTYPES**  
CELL AND PLANT SECTION SYMPOSIUM  
9-11 DECEMBER 2019  
REAL CENTRO UNIVERSITARIO ESCORIAL-MARIA  
CRISTINA, EL ESCORIAL, MADRID, SPAIN  
SEBIOLOGY.ORG  
#ICDPP19



**NUCLEUS  
IMPACT**



# Η δυναμική της επιγενετικής στη βελτίωση φυτών: εφαρμογές και προκλήσεις

# Επιγενετική

Η επιγενετική σημαίνει κυριολεκτικά «πάνω» ή «πάνω από» τη γενετική.

Παραπέμπει σε εξωτερικές τροποποιήσεις στο DNA που ρυθμίζουν τα γονίδια "on" ή "off".

Αυτές οι τροποποιήσεις δεν αλλάζουν την αλληλουχία DNA, αλλά επηρεάζουν το πώς τα κύτταρα διαβάζουν τα γονίδια.

# EPIGENETICS

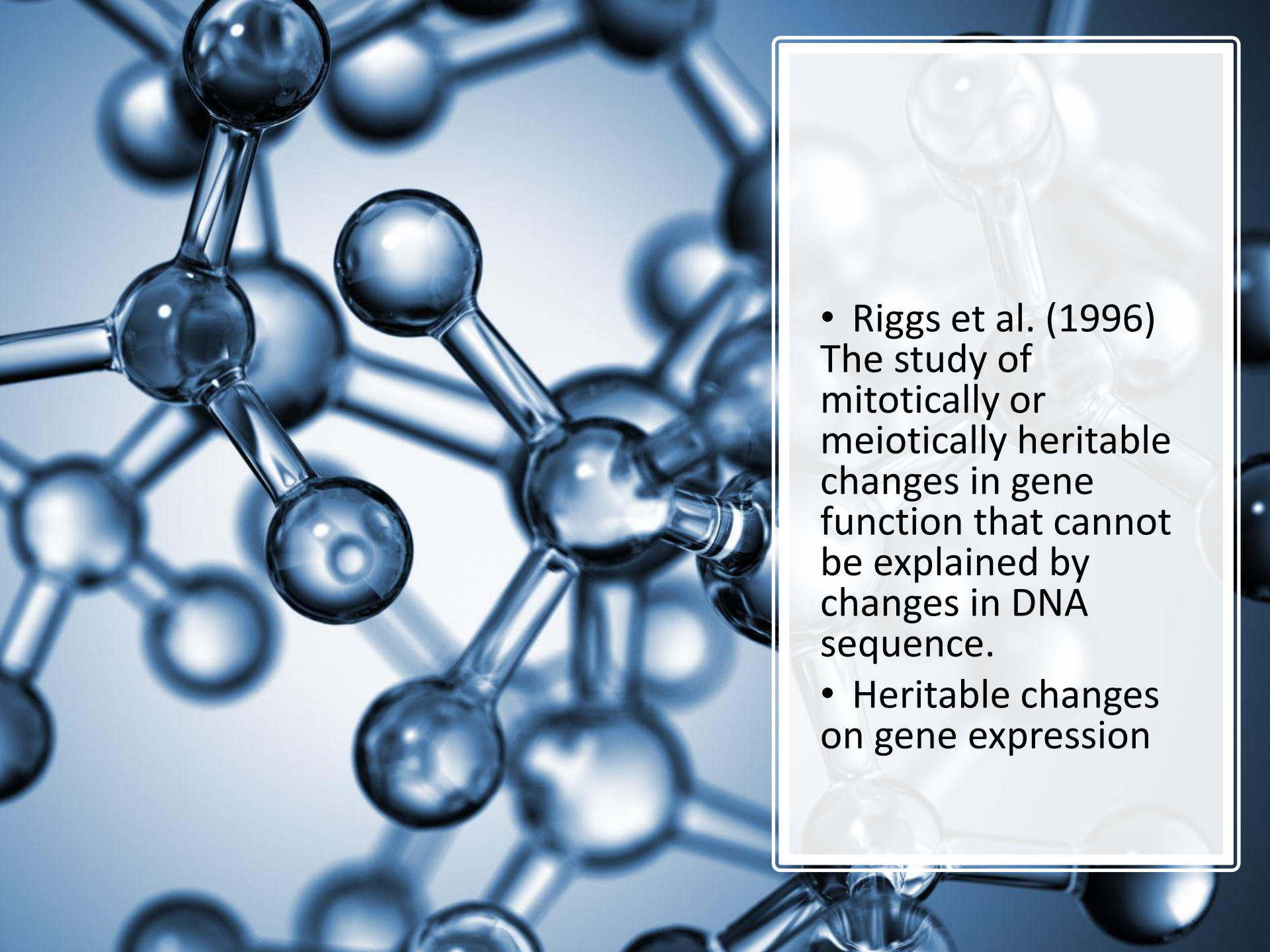
- Epigenetics literally means "above" or "on top of" genetics. It refers to external modifications to DNA that turn genes "on" or "off." These modifications do not change the DNA sequence, but instead, *they affect how cells "read" genes.*
- The term epigenetics refers to heritable changes in gene expression that does not involve changes to the underlying DNA sequence; *a change in phenotype without a change in genotype.*

# Επιγενετική

Ο όρος επιγενετική αναφέρεται σε κληρονομησιμες αλλαγές στην έκφραση γονιδίων

Αυτό δεν συνεπάγεται αλλαγές στην υποκείμενη αλληλουχία DNA. Μια αλλαγή φαινοτύπου χωρίς αλλαγή γονότυπου Riggs et al. (1996).

Η μελέτη των μιτωτικών ή μειωτικών κληρονομισιμων αλλαγών στη λειτουργία των γονιδίων που δεν μπορούν να εξηγηθούν από τις αλλαγές στην αλληλουχία DNA

- 
- Riggs et al. (1996)  
The study of mitotically or meiotically heritable changes in gene function that cannot be explained by changes in DNA sequence.
  - Heritable changes on gene expression

# Ιστορία

## Λαμαρκ (1744-1829)

- Ο μηχανισμός του Lamarck για την εξέλιξη είναι η κληρονομηση των αποκτηθέντων χαρακτηριστικών.
- Πιστεύει ότι τα γνωρίσματα που άλλαξαν ή αποκτήθηκαν κατά τη διάρκεια της ζωής ενός ατόμου θα μπορούσαν να μεταφερθούν στους απογόνους του.

## Conrad Waddington

- Το (1942) δημιούργησε τον
- όρο "επιγενετικό". Είναι γνωστός ως πατέρας της επιγενετικής

# History

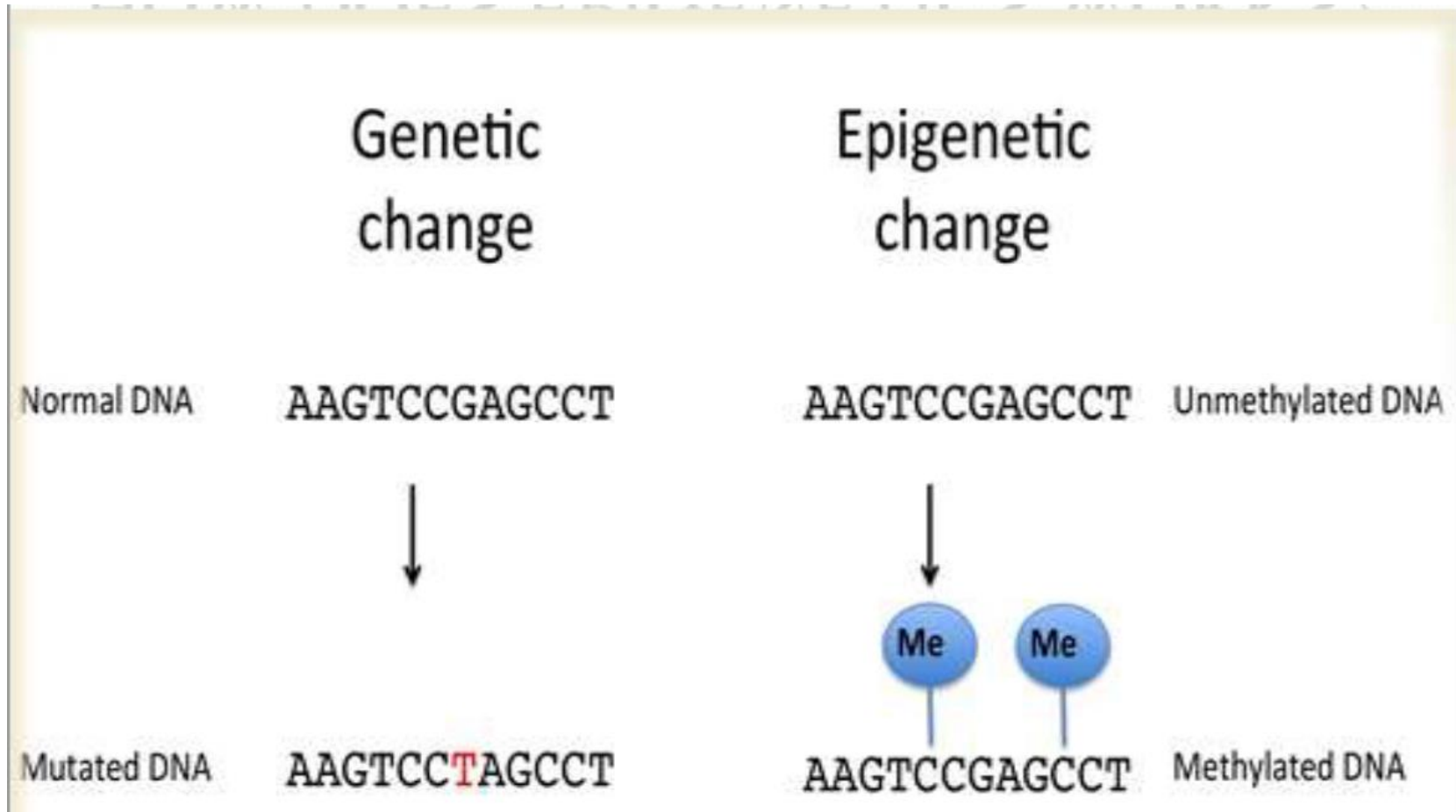
## Lamarck

- Lamarck's mechanism for evolution is **The inheritance of acquired traits**.
- He believed that traits altered or acquired over an individual's lifetime could be transferred down to its offspring.

## Conrad Waddington

- Conrad Waddington (1942) coined the term, “epigenetic”. He is known as father of epigenetics.
- Pioneering work by Waddington also demonstrated compelling evidence for inheritance of a acquired characteristic
- in drosophila fruit flies.

# Πως λειτουργεί η επιγενετική

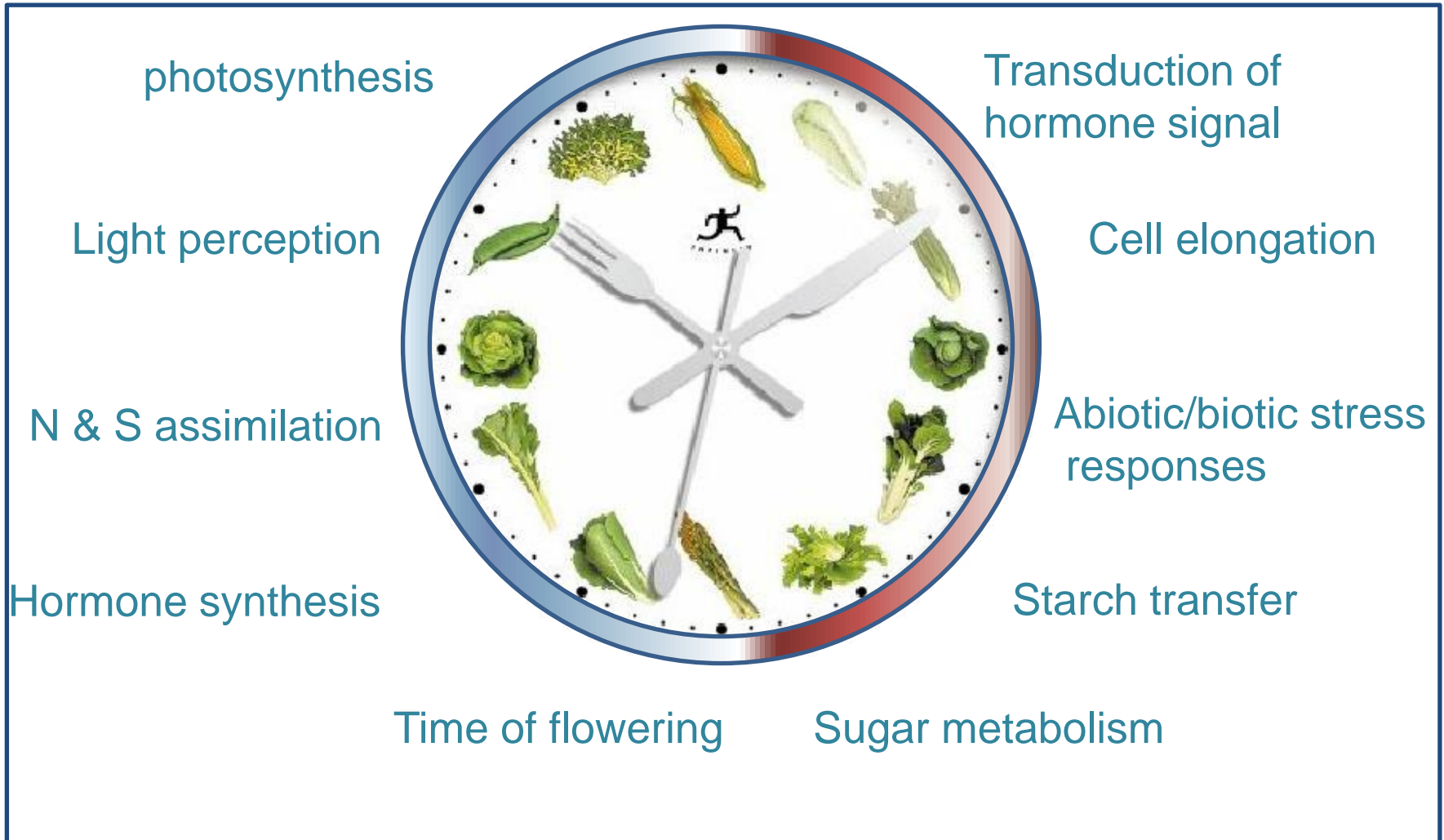




# Epigenetic gene regulation: Involved in many different biological process in plants



# Epigenetic gene regulation: Involved in many different biological process in plants

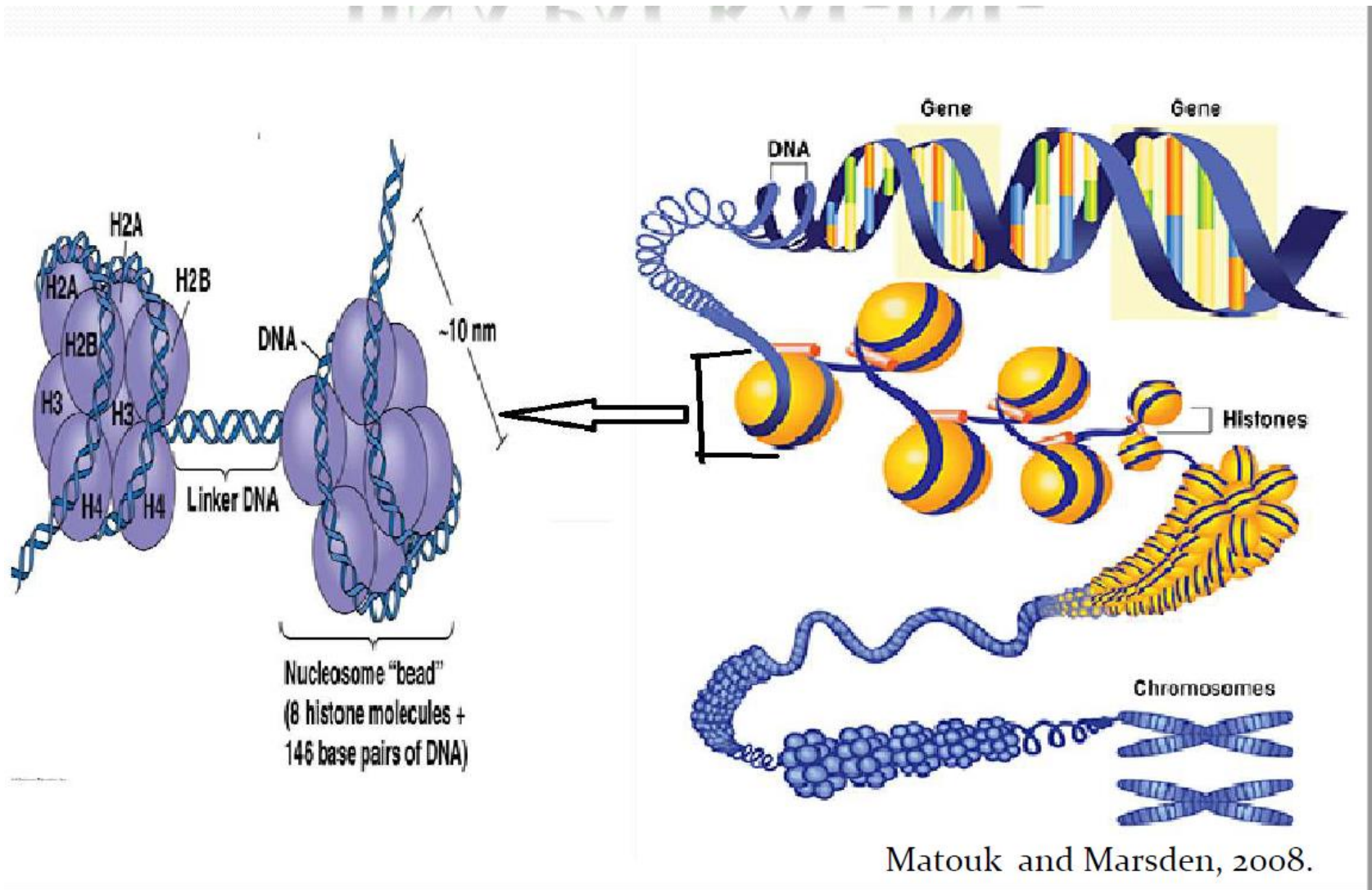




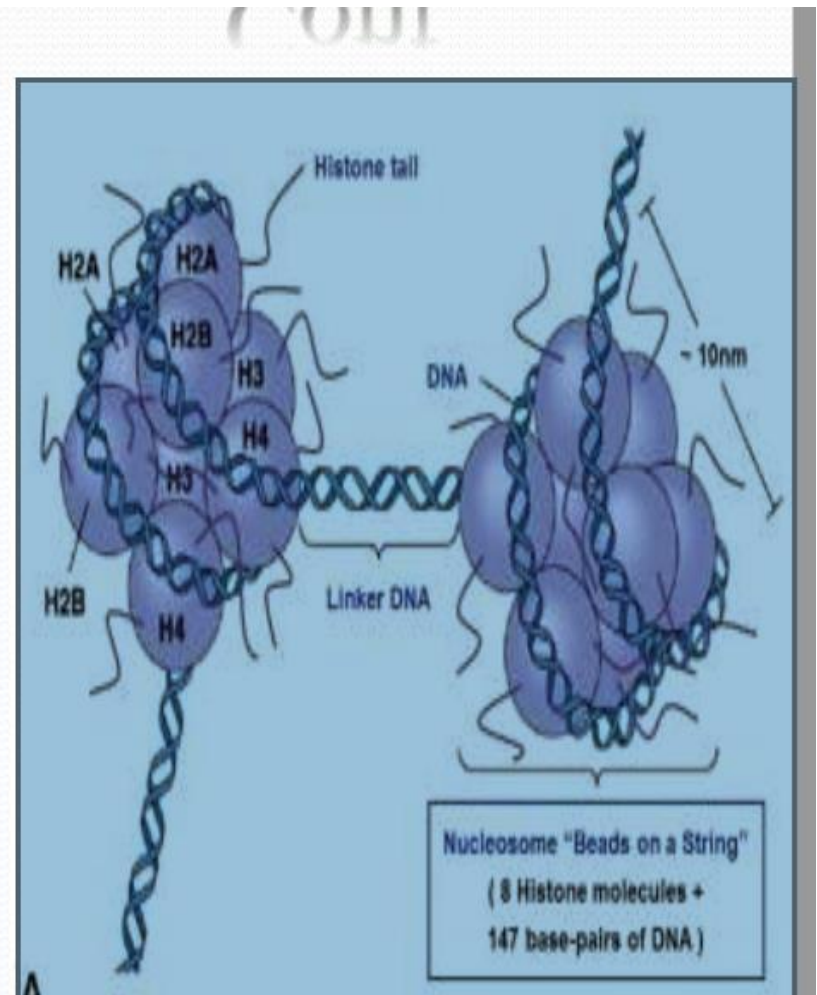
# Μοριακοί επιγενετικοί μηχανισμοί

Molecular epigenetic  
mechanisms

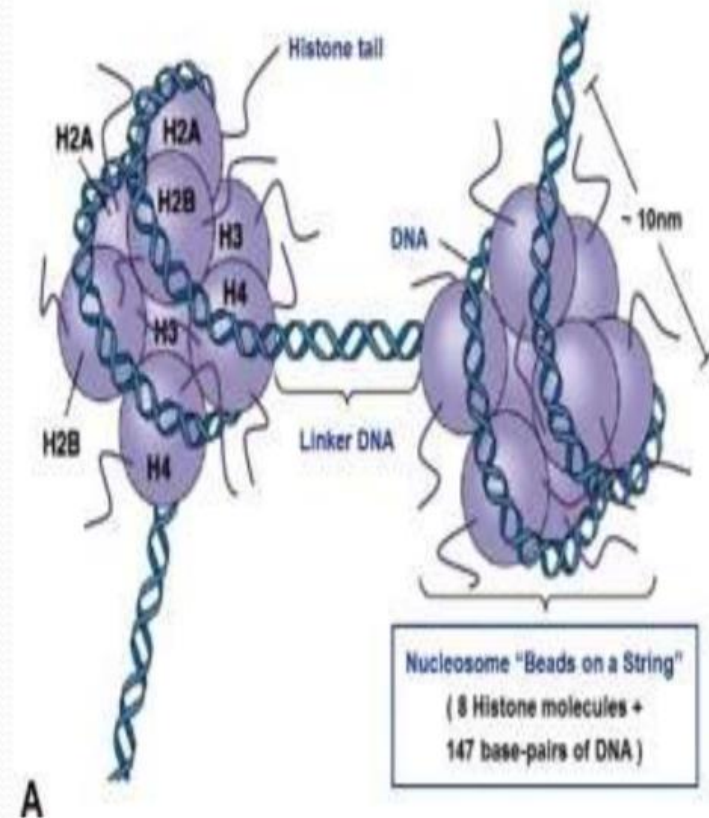
# DNA packaging (συσκευασία DNA)



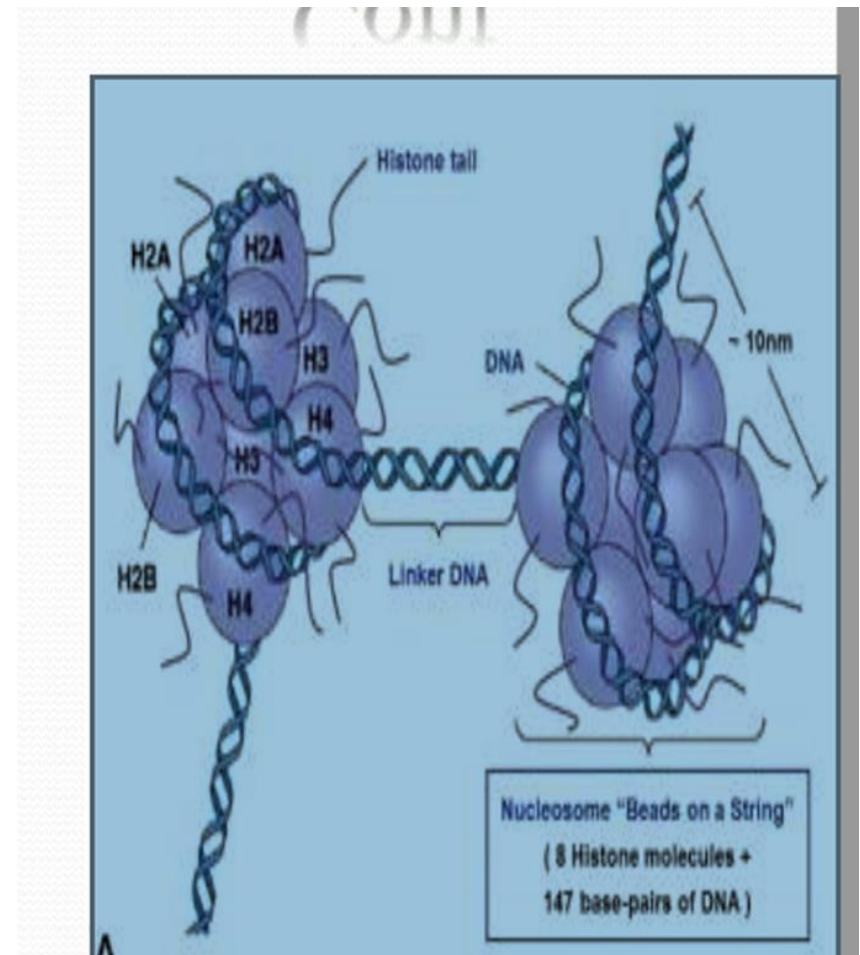
- Το DNA στη χρωματίνη είναι συσκευασμένο γύρω από πρωτεΐνες ιστόνης, σε μονάδες που αναφέρονται ως **νουκλεοσώματα**.
- Ένα νουκλεοσώμα αποτελείται από 147 bp DNA που σχετίζεται με έναν οκταμερικό πυρήνα πρωτεϊνών ιστόνης, αποτελούμενο από δύο H3-H4 διμερή ιστόνης και περιβάλλονται από δύο H2A-H2B διμερή.



- DNA in chromatin is packaged around histone proteins, in units referred to as nucleosomes.
- A nucleosome has 147 bp of DNA associated with an octameric core of histone proteins, consisting of two H3-H4 histone dimers surrounded by two H2A-H2B dimers.
- N-terminal histone tails protrude from nucleosomes into the nuclear lumen.
- Nucleosome spacing determines chromatin structure which can be broadly divided into heterochromatin and euchromatin.

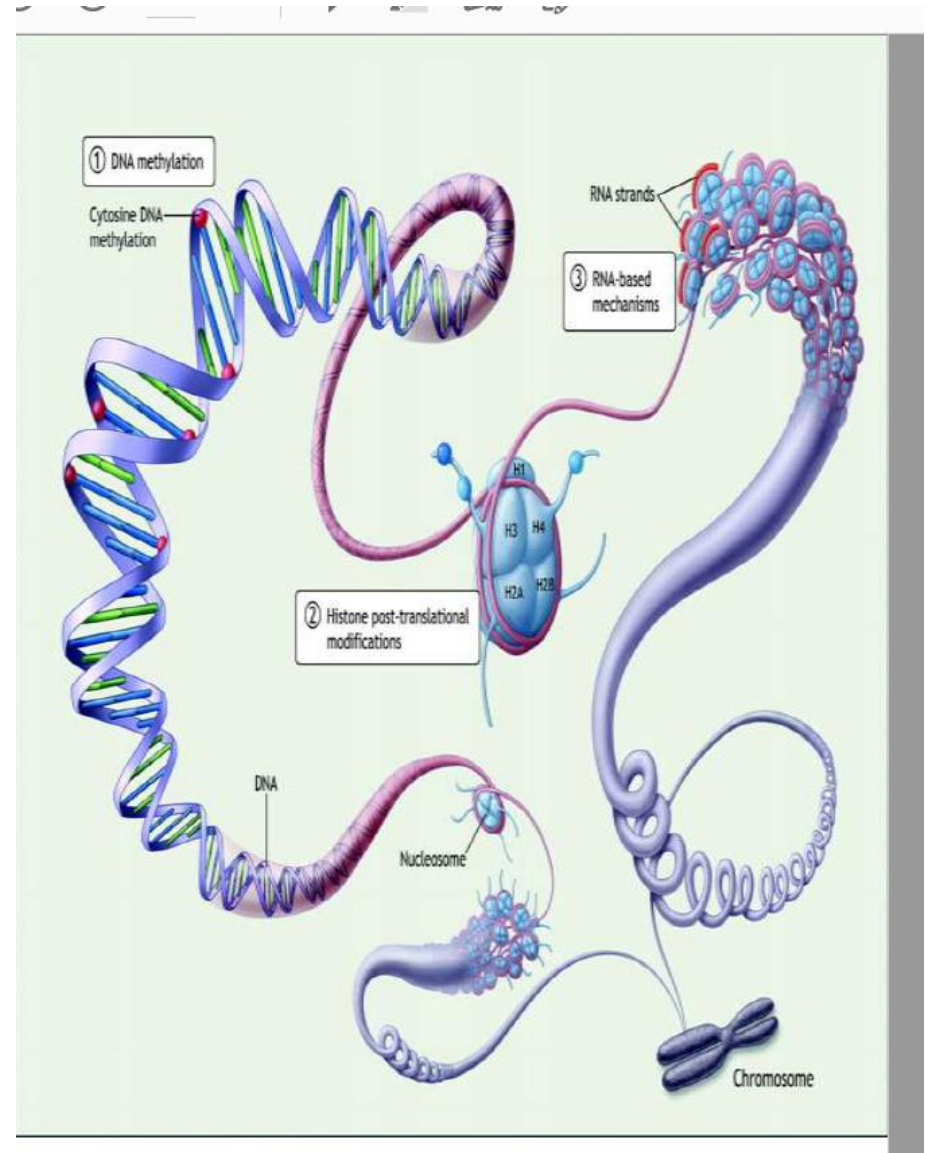


- N-τελικές ουρές ιστόνης προεξέχουν από τα νουκλεοσώματα στον πυρήνα.
- Η απόσταση των νουκλεοσωμάτων προσδιορίζει τη δομή της χρωματίνης που μπορεί να είναι ευρέως διαιρούμενη σε ετεροχρωματίνη και ευχρωματίνη.



# Επιγενετικοί Μηχανισμοί

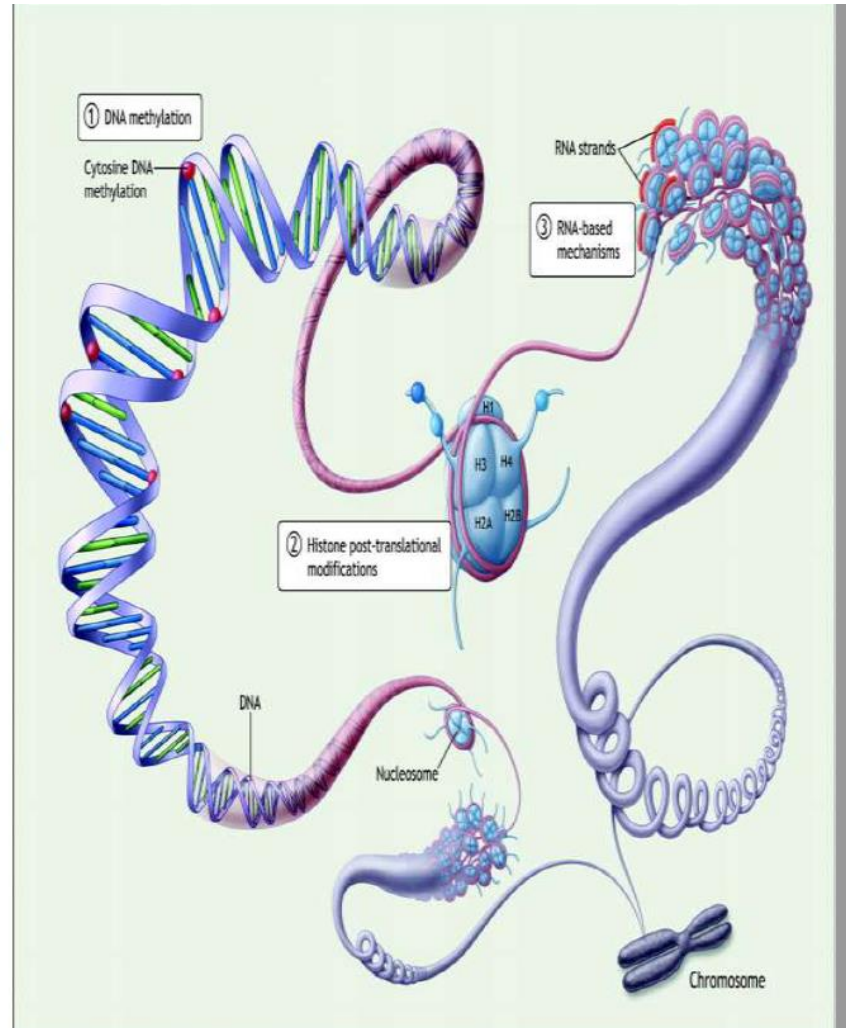
- Μεθυλίωση DNA
- 2. Τροποποιήσεις ιστόνης
  - • Ακετυλίωση
  - • Μεθυλίωση
  - • Φωσφορυλίωση,
- 3. Παρέμβαση μεσω διαμεσολαβησης από το RNA (RNA-mediated interference)





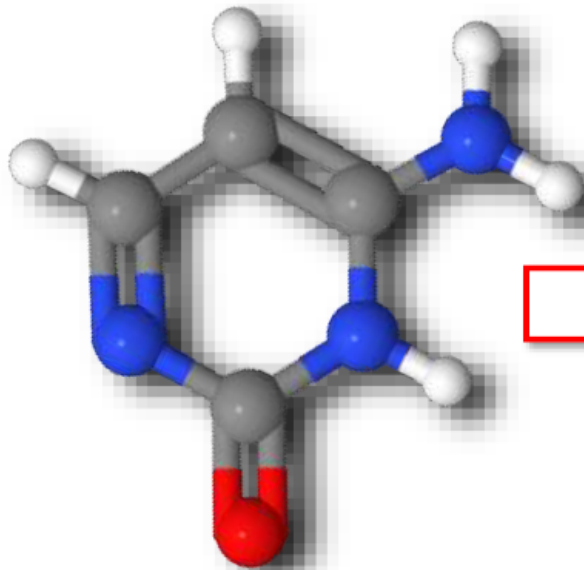
# MECHANISMS

1. DNA methylation
2. Histone modifications
  - Acetylation
  - Methylation
  - Phosphorylation,
3. RNA mediated interference



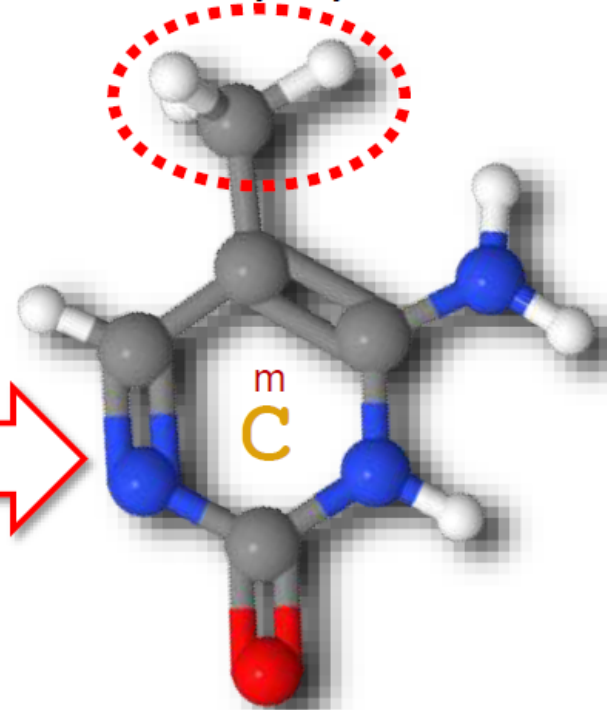
# EUKARYOTIC METHYLATION

cytosine



Cytosine methyltransferase

5-methylcytosine



“CpG Island”

5' CAGGCAATCTGC GCGCTGAGCGCTCACCATG  
3' GTCCGTTAGACGCGCGACTCGCGAGTGGGTAC

Promoter Region

Gene

# DNA methylation

Η κατασταλτική φύση των 5mC θεωρείται ότι παρεμποδίζει τη δέσμευση του DNA με παράγοντες μεταγραφής ή την πρόσληψη επιπρόσθετων πρωτεϊνών χρωματίνης για το σχηματισμό ετεροχρωμικών καταστάσεων που είναι απρόσιτες για μεταγραφή

Στα φυτά η κυτοσίνη μπορεί να μεθυλιωθεί σε θέσεις CpG, CpHpG, και CpHpH όπου το H αντιπροσωπεύει οποιοδήποτε νουκλεοτίδιο.

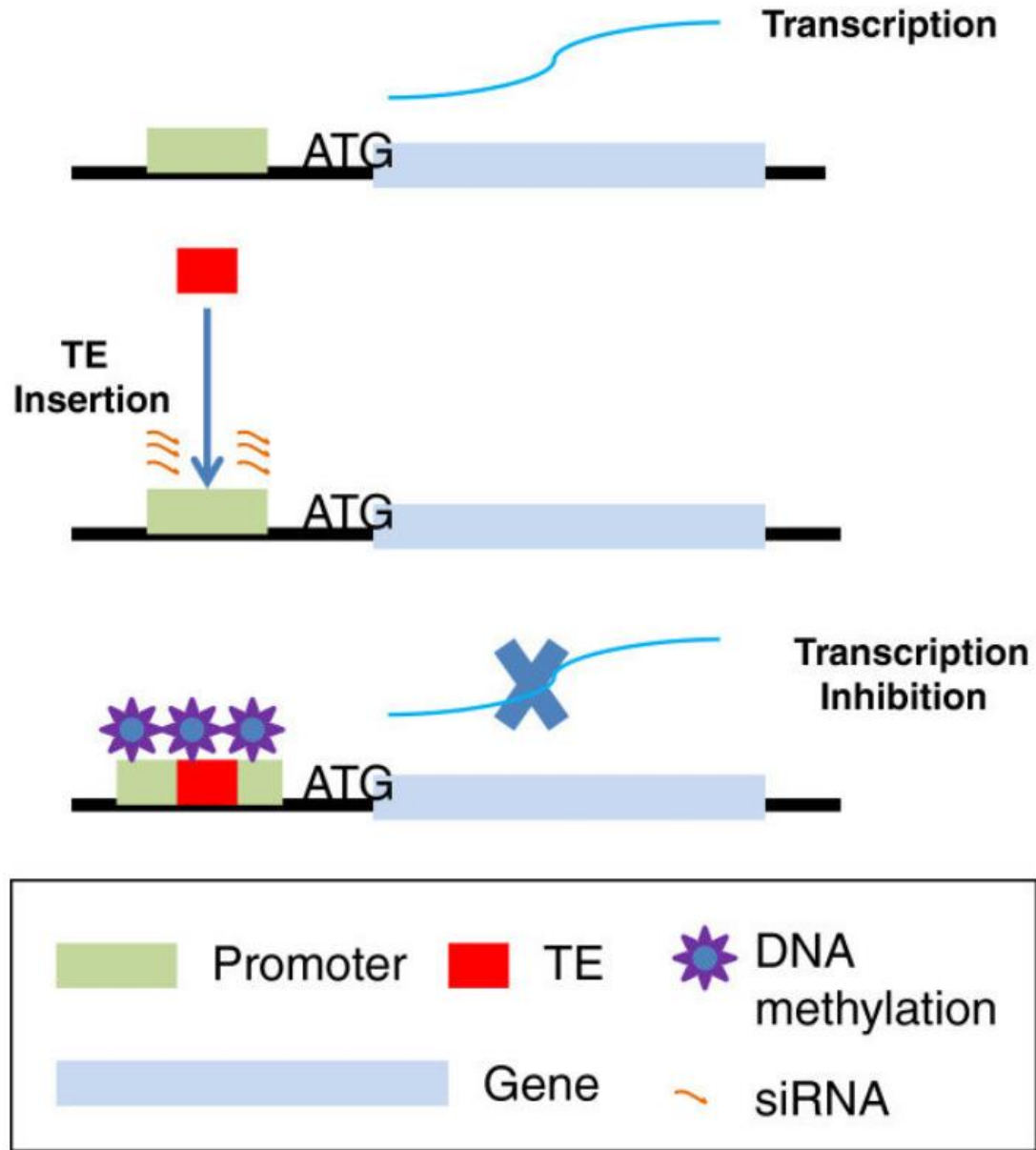
Το 24 έως 30% των βάσεων κυτοσίνης στο γονιδίωμα των φυτών βρίσκεται σε μεθυλιωμένη κατάσταση.

- The repressive nature of 5mC is thought to inhibit the binding of DNA by transcription factors or to recruit additional chromatin proteins to form heterochromatic state that is inaccessible for transcription
- DNA methylation in mammals mainly occurs on the cytosine nucleotide in a CpG site.
- In plants the cytosine can be methylated at CpG, CpHpG, and CpHpH sites, where H represents any nucleotide.
- 24 to 30% of cytosine base in plants genome is found to be methylated.

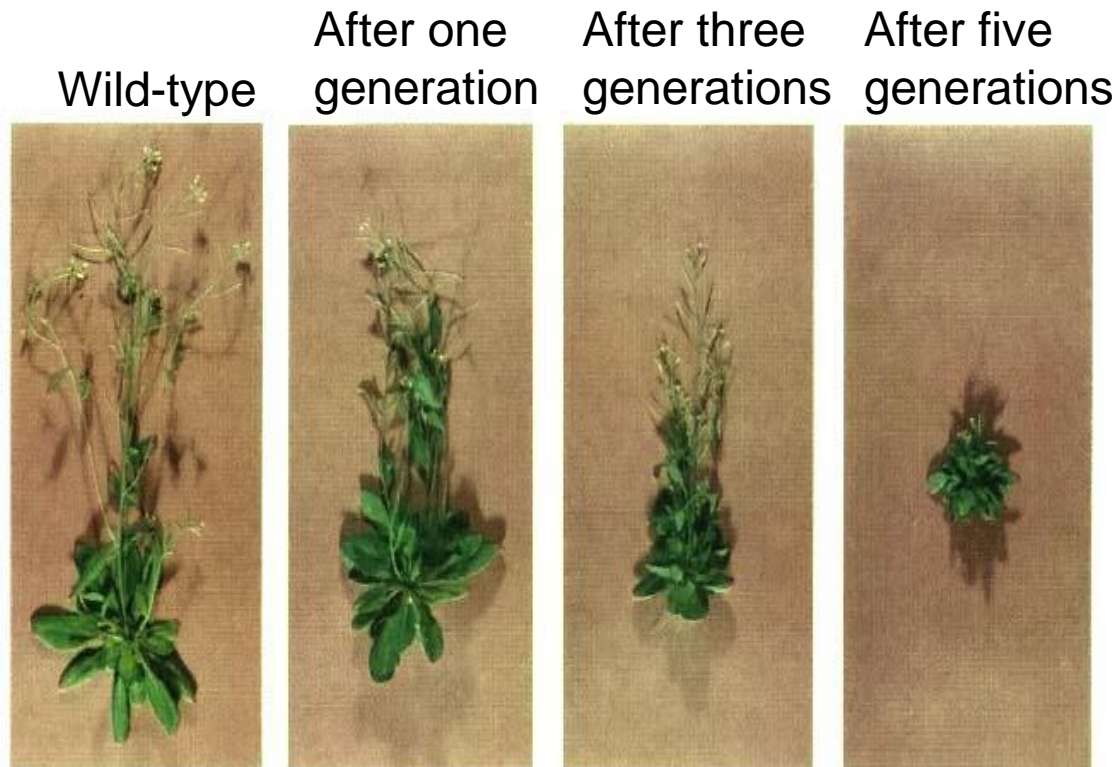
Μεθυλίωση  
των  
μεταθετών  
στοιχείων  
(TE-  
transposable  
elements)

Η αλληλούχιση σε επίπεδο γονιδιώματος αποκάλυψε ότι τα TE και άλλα επαναλαμβανόμενα στοιχεία αποτελούν μεγάλο ποσοστό των περισσότερων ευκαρυωτικών γονιδιωμάτων.

Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για να σιωπήσουν και ακινητοποιούντα TE, όπως παρεμβολή RNA και επιγενετική μεθυλίωση DNA.



# Αποσιώπηση μεταθετών στοιχείων



Μεταλλάγματα μεθυλοτρανσφεράσης συσσωρεύουν τις μεταλλάξεις που προκαλούνται από την λειτουργία των μεταθετών στοιχείων από γενιά σε γενιά

---

> PLoS One. 2019 Oct 9;14(10):e0223581. doi: 10.1371/journal.pone.0223581. eCollection 2019.

# Identification of DNA methyltransferases and demethylases in *Solanum melongena* L., and their transcription dynamics during fruit development and after salt and drought stresses

Andrea Moglia <sup>1</sup>, Silvia Gianoglio <sup>1</sup>, Alberto Acquadro <sup>1</sup>, Danila Valentino <sup>1</sup>, Anna Maria Milani <sup>1</sup>, Sergio Lanteri <sup>1</sup>, Cinzia Comino <sup>1</sup>



# Conclusions

- We report on the identification of six C5-MTases and five DNA demethylases in eggplant, whose genomic structure and genomic localization have also been achieved. Differential transcript abundance of C5-MTase and DNA demethylase genes highlights their involvement in regulating fruit ripening and salt and drought stress response, providing a starting framework for supporting future epigenetic studies in the species.
- Thanks to the ongoing development of the CRISPR/Cas9 system in eggplant, our future goal will be to perform
- the functional characterization of key isolated C5-MTases and DNA demethylases.

# SCIENTIFIC REPORTS



**OPEN**

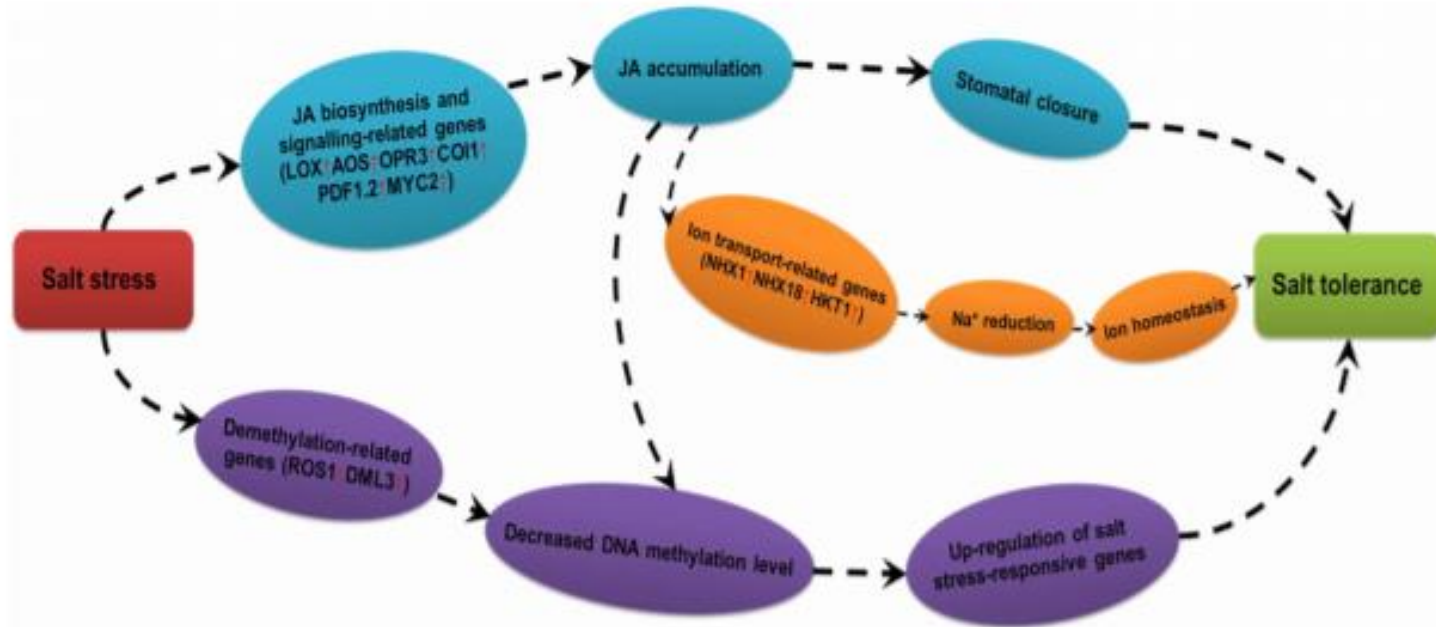
## Transcript profile analysis reveals important roles of jasmonic acid signalling pathway in the response of sweet potato to salt stress

Received: 19 August 2016

Accepted: 09 December 2016

Published: 13 January 2017

Huan Zhang, Qian Zhang, Hong Zhai, Yan Li, Xiangfeng Wang, Qingchang Liu & Shaozhen He



**Figure 8. Model of the regulatory networks activated in response to salt stress in ND98.**

Both key demethylation-related genes, namely DNA demethylases demeter-like protein (1bDML3) and DNA repressor of silencing 1 (1bROS1), exhibited higher expression levels in ND98



RESEARCH PAPER

# Cold acclimation alters DNA methylation patterns and confers tolerance to heat and increases growth rate in *Brassica rapa*

Tongkun Liu, Ying Li, Weike Duan, Feiyi Huang and Xilin Hou\*

Department of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing, China

\* Correspondence: [hxl@njau.edu.cn](mailto:hxl@njau.edu.cn)



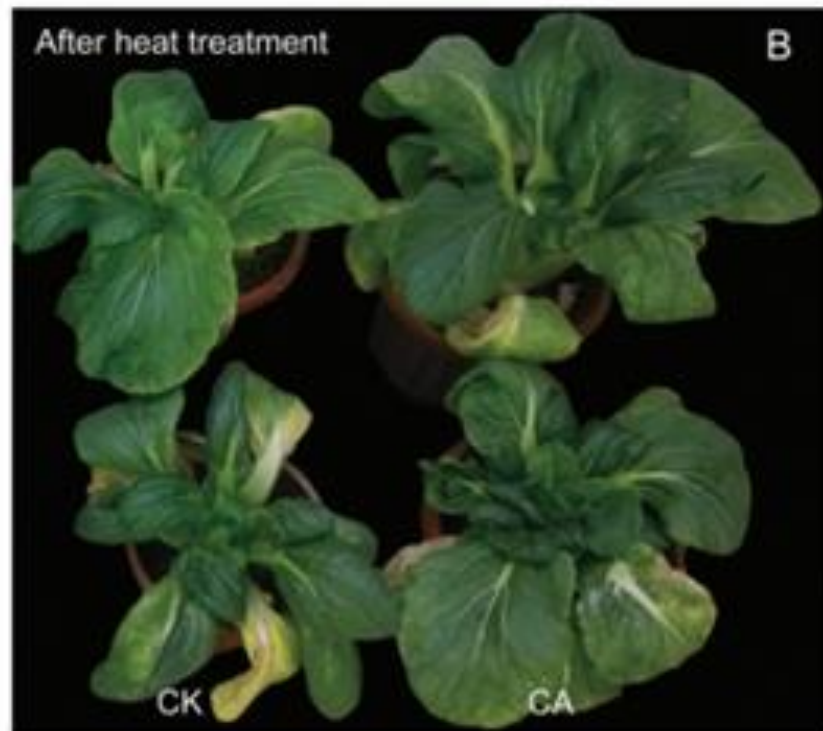
# Report

- BramMDH1, BraKAT2, BraSHM4, and Bra4CL2, were identified in CA plants. Genetic validation and treatment of *B. rapa* with 5-aza-2-deoxycytidine (Aza) suggested that promoter demethylation of four candidate genes increased their transcriptional activities.
- Physiological analysis suggested that elevated heat-tolerance and high growth rate were closely related to increases in organic acids and photosynthesis, respectively.
- Functional analyses demonstrated that the candidate gene BramMDH1 (mMDH: mitochondrial malate dehydrogenase) directly enhances organic acids and photosynthesis to increase heat tolerance and growth rate in *Arabidopsis*

# Αποτελέσματα

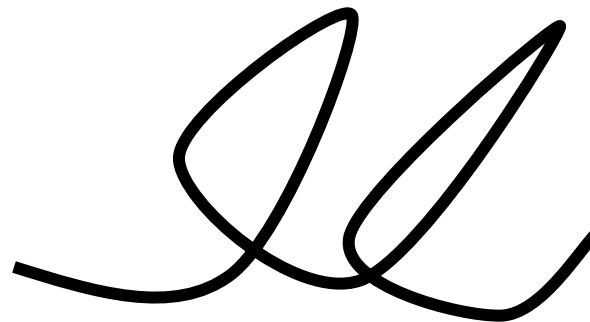
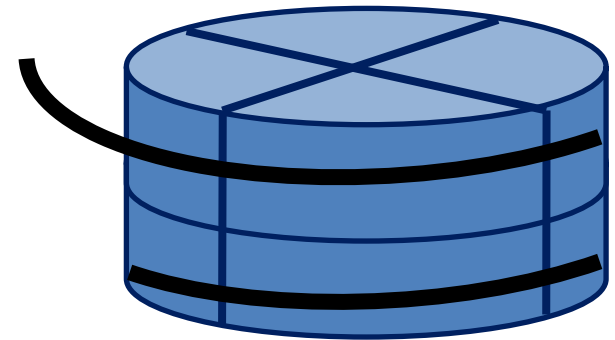
- Η ανάλυση φυσιολογικών παραμέτρων έδειξε ότι η αυξημένη αντοχή στις υψηλές θερμοκρασίες και ο υψηλός ρυθμός ανάπτυξης σχετίζονται στενά με τις αυξήσεις στις συγκεντρώσεις οργανικών οξέων και τη φωτοσύνθεση, αντίστοιχα, λειτουργίες που ελέγχονται στενά από τα γονίδια της οικογένειας BramMDH (mMDH: mitochondrial malate dehydrogenase)(απομεθυλίωση του υποκινητή μέσω (aza)-αύξηση μεταγραφήματος) .

Cold acclimation and heat tolerance



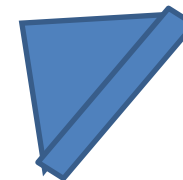
# Τροποποιήσεις ιστονών

- Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, το DNA περιελίσσεται γύρω από τις πρωτεϊνες και δημιουργεί νουκλεοσώματα.
- Το νουκλεόσωμα αποτελεί τη βασική μονάδα της χρωματίνης.



~ 147 bp DNA

+



8 histones:  
2 each H2A  
H2B  
H3  
H4



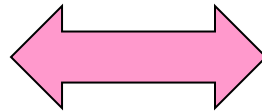
# Τροποποιήσεις ιστονών

- Η χρωματίνη μπορεί να είναι πολύ σφιχτά συσκευασμένη ή χαλαρά συσκευασμένη και αυτό συσχετίζεται με τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου.
- Οι τροποποιήσεις στις πρωτεΐνες της ιστόνης επηρεάζουν τη δομή της χρωματίνης



Ετεροχρωματίνη  
= Highly packed form

Χαμηλή γονιδιακή έκφραση

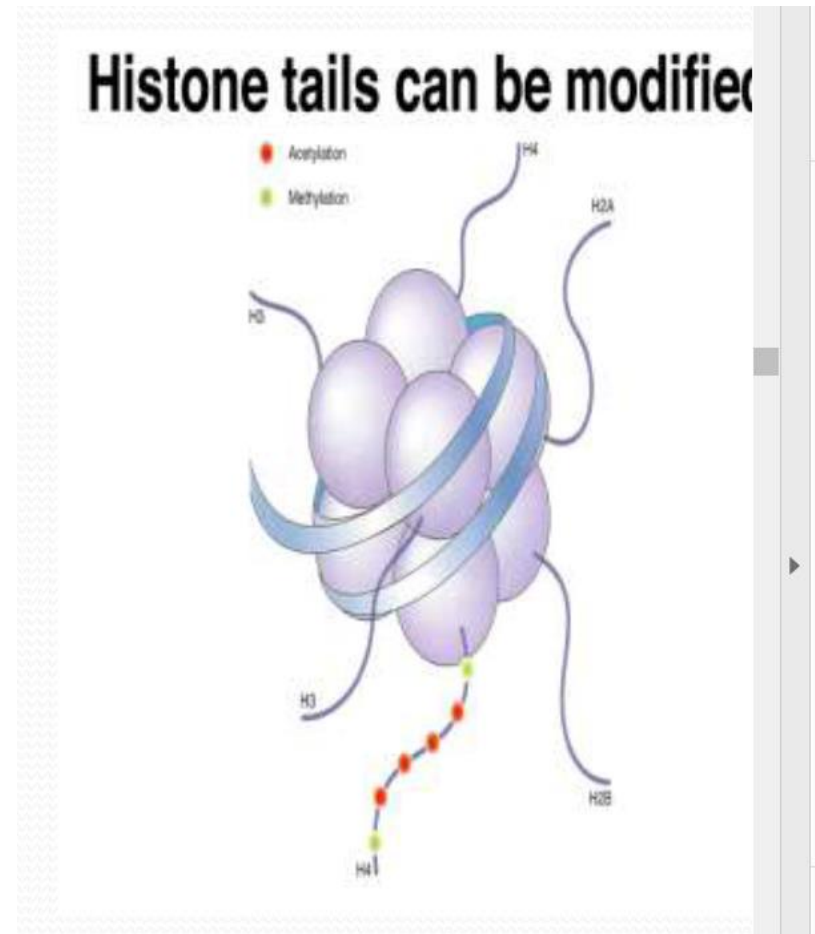


Ευχρωματίνη  
= Loosely packed form

Υψηλή γονιδιακή έκφραση

# Τροποποίηση ιστονών

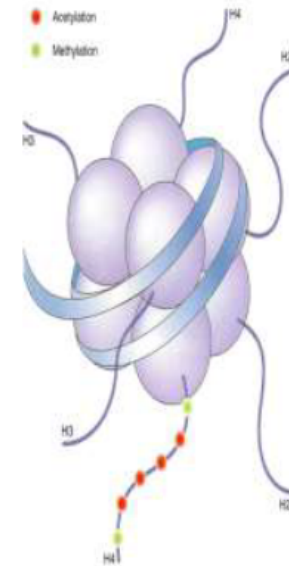
- Οι ιστόνες λοιπόν είναι τα κύρια πρωτεϊνικά συστατικά της χρωματίνης, που λειτουργούν ως καρούλια γύρω από τα οποία τυλίγεται το DNA και παίζουν ρόλο στη γονιδιακή ρύθμιση.
- Οι τροποποιήσεις εμφανίζονται κυρίως στις ουρές της ιστόνης με τρεις μορφές:
- Μεθυλίωση
- Ακετυλίωση
- Φωσφορυλίωση



## 2. Histone modification

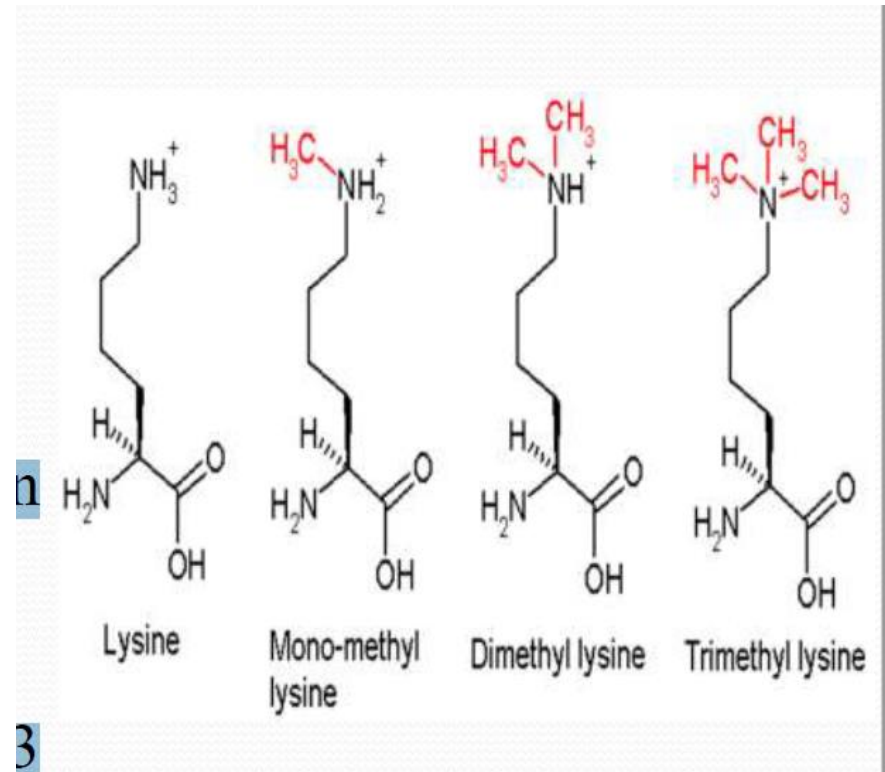
- They are the chief protein components of chromatin, acting as spools around which DNA winds, and playing a role in gene regulation.
- Histone modifications occur primarily on histone tails by three methods-
  - Methylation
  - Acetylation
  - Phosphorylation

### Histone tails can be modified



# Μεθυλίωση ιστονών

- Τα ενζυμα που απαιτούνται:
- KMT- Lysine methyl transferase, Histone methyltransferases
- Η μεθυλίωση μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση ή την καταστολή των γονιδίων.
- Συνήθως, H3K9me2 και H3K9me3 μείωση της γονιδιακής έκφρασης, ενώ H3K4me1, H3K36me3 υπερ-έκφραση γονιδίου στόχου.



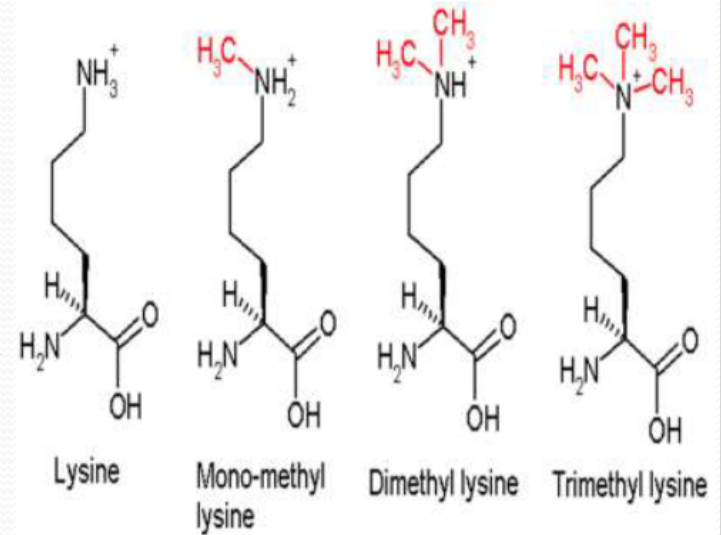
# a. Histone Methylation

## ➤ Enzyme required

- Histone methyltransferases (HMTs)  
KMT- Lysine methyl transferase

➤ Methylation can result in activation or repression of genes.

➤ Typically, H3K9me2 and H3K9me3 downregulate gene expression, while H3K4me1, H3K36me3 upregulate target gene expression.



Lysine methylation

# Ακετυλίωση και Από-ακετυλίωση της Ιστονής

- **Ακετυλίωση ιστονής**
- – Histone acetyl transferases (HATs)
- Προσθέτουν ακετυλομάδες στις ουρές των ιστονών
- Μειώνουν το θετικό φορτίο κι εξασθενούν την αλληλεπίδραση των ιστονών με το DNA
- Διευκολύνουν τη μεταγραφή κάνοντας το DNA περισσότερο προσιτό στην
- RNA polymerase II
- **Απακετυλίωση ιστονών**
- – Histone deacetylases (HDACs)
- Απομακρύνουν ακετυλο ομάδες από τις ουρές των ιστονών
- Αυξάνουν την αλληλεπίδραση DNA και ιστονών
- Καταστέλλουν τη μεταγραφή

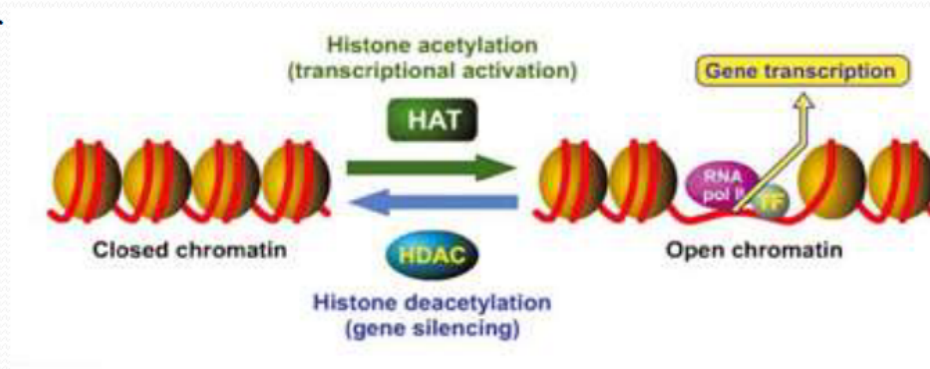
## b. Histone Acetylation & Deacetylation

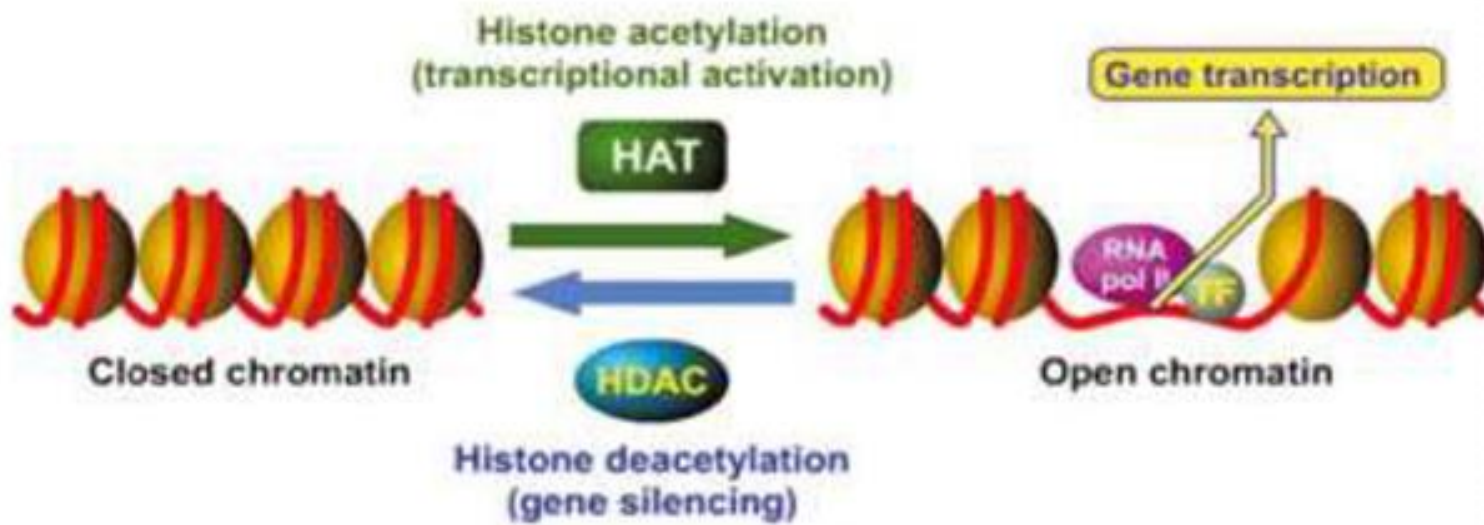
### ❑ Histone acetylation

- Histone acetyl transferases (HATs)
- Adds acetyl groups to histone tails.
- Reduces positive charge and weakens interaction of histones with DNA
- Facilitates transcription by making DNA more accessible to RNA polymerase II

### ❑ Histone deacetylation

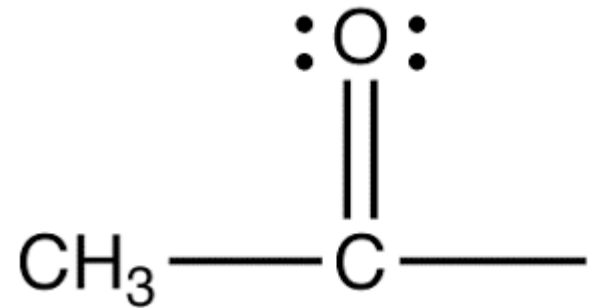
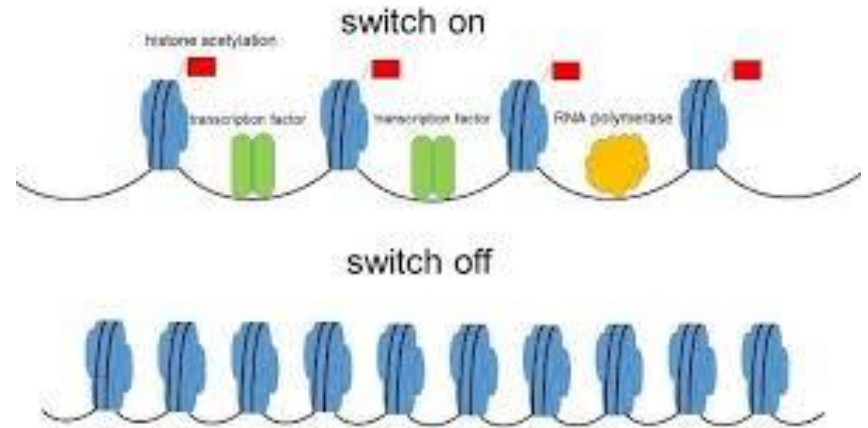
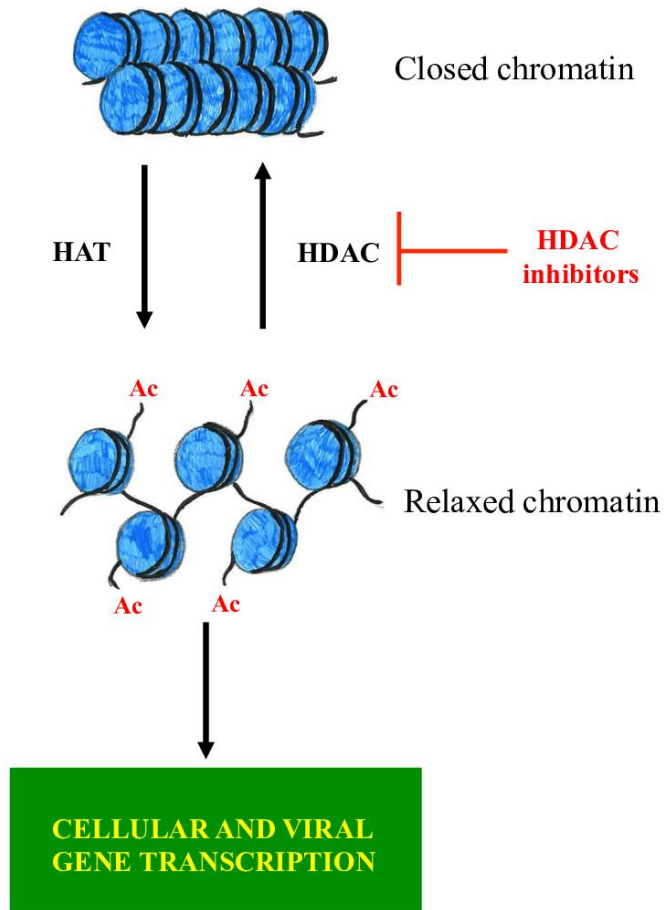
- Histone deacetylases (HDACs)
- Removes acetyl groups from histone tails
- Increases interaction of DNA and histones
- Represses transcription







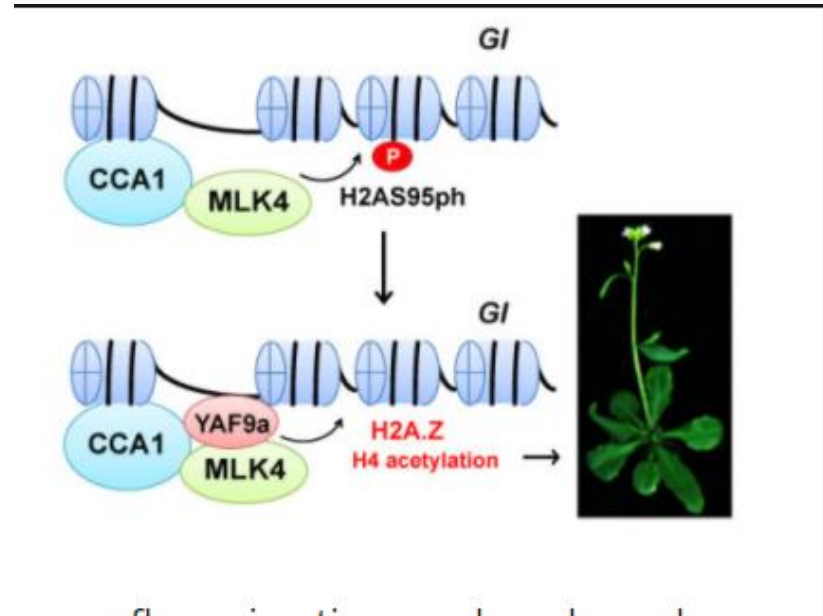
HDACs catalyse the reverse reaction (Berger et al., 200



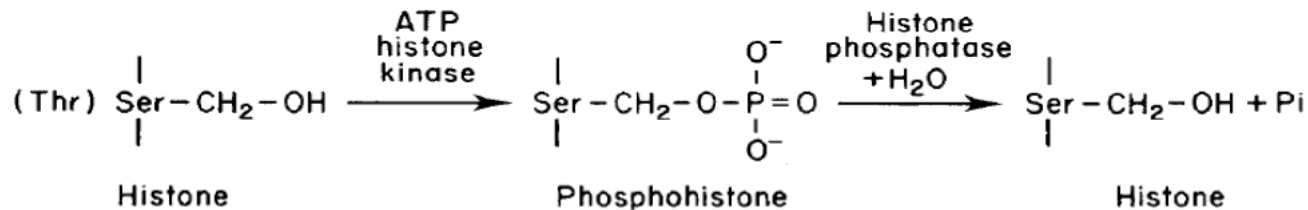
# Φωσφορυλίωση/αποφωσφορυλίωση

Η φωσφορυλίωση αυξάνει το αρνητικό φορτίο της ιστόνης- μικρότερη αλληλεπίδραση ιστόνης/DNA-χαλάρωση

Αποφωσφορυλίωση- μείωση αρνητικού φορτίου- “πάκτωμα”



# C. Histone Phosphorylation



## ☐ Phosphorylation

- Enzyme required – Protein kinase
- Phosphorylation increase the negative charge on Heston as a result less interaction between DNA and histones that leads to chromatin de-condensation.

## ☐ Dephosphorylation

- Enzyme required - phosphatase
- increase positive charge followed by chromatin condensation.



---

› [Planta](#). 2007 Dec;227(1):245-54. doi: 10.1007/s00425-007-0612-1. Epub 2007 Aug 25.

# Up-regulation of stress-inducible genes in tobacco and Arabidopsis cells in response to abiotic stresses and ABA treatment correlates with dynamic changes in histone H3 and H4 modifications

[Agnieszka Sokol](#)<sup>1</sup>, [Aleksandra Kwiatkowska](#), [Andrzej Jerzmanowski](#), [Marta Prymakowska-Bosak](#)

Affiliations [+](#) expand

PMID: 17721787 DOI: 10.1007/s00425-007-0612-1

---

Both tobacco and Arabidopsis cells show the typical nucleosomal response to high salinity and cold stress, manifested by rapid transient up-regulation of histone H3 Ser-10 **phosphorylation**, immediately followed by transient up-regulation of H3 phosphoacetylation and histone H4 **acetylation**. For each of the studied stresses the observed nucleosomal response was strictly correlated with the induction of stress-type specific genes.

# Chickpea WRKY70 Regulates the Expression of a Homeodomain-Leucine Zipper (HD-Zip) I Transcription Factor *CaHDZ12*, which Confers Abiotic Stress Tolerance in Transgenic Tobacco and Chickpea

Senjuti Sen<sup>1</sup>, Joydeep Chakraborty<sup>1</sup>, Prithwi Ghosh<sup>1,2</sup>, Debabrata Basu<sup>1</sup> and Sampa Das<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Plant Biology, Bose Institute, Centenary Campus, P1/12, CIT Scheme, VIlM, Kankurgachi, Kolkata-700054, West Bengal, India

<sup>2</sup>Present address: Department of Microbiology and Molecular Biology, Brigham Young University, Provo, UT 84602, USA.

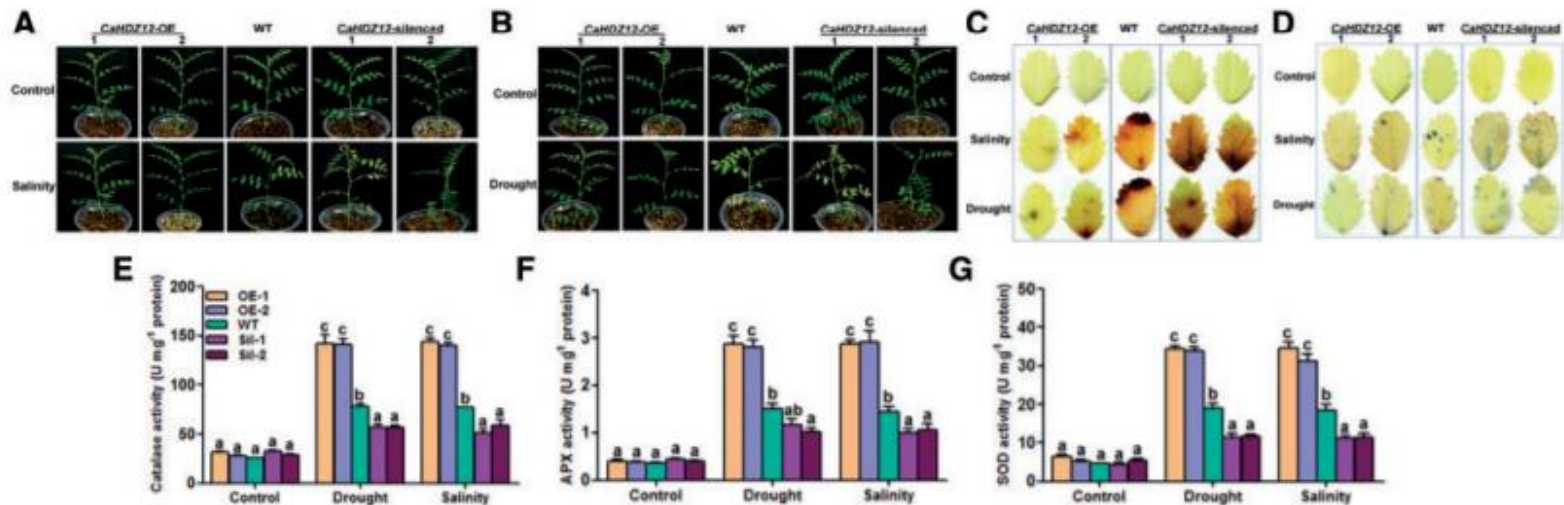
\*Corresponding author: E-mail, sampa@jcbose.ac.in; Fax, +91-33-23553886.

(Received September 29, 2016; Accepted August 19, 2017)

Hyperacetylation of Histone3 residues at pCaHDZ12 promotes induction of CaHDZ12 during abiotic stress

CaHDZ12 mediates the reduced accumulation of ROS and subsequent cellular damage in transgenic plants





**Fig. 8** Functional characterization of *CaHDZ12* transformed chickpea plants under salt and drought stresses. (A & B) Phenotype of control, *CaHDZ12*-OE and *CaHDZ12*-silenced chickpea plants treated with 200 mM NaCl (salinity) or kept for 10 days without water (drought). (C) DAB staining represents the extent of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in *CaHDZ12*-OE and silenced plants under above mentioned conditions. (D) NBT staining represents the extent of O<sub>2</sub><sup>-</sup> formation in *CaHDZ12*-OE and silenced plants under above-mentioned conditions. (E) Analysis of antioxidant enzyme activities (CAT, SOD, APX) in *CaHDZ12*-OE and silenced plants before and after stress treatments. Data are means ± SEM from three biological replicates. Significant difference of transformed plants compared with WT plants is done by one way ANOVA using Duncan's multiple range test (DMRT); significance level indicates *P* < 0.05.

# 3. RNA interference

- Also called post transcriptional gene silencing (PTGS)
- Is a biological process in which RNA molecules inhibit gene action.
- Andrew Fire and Craig C. Mello shared the Nobel Prize in Physiology or Medicine – 2006.
- RNAi involves small RNA molecules called short interfering RNAs (*si* RNA) and micro RNAs (*mi* RNA).
- These molecules are 21 to 28 base pairs long and produced from larger *ds*RNA molecules by enzyme called dicer.

Medicine



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006

"for their discovery of RNA interference - gene silencing by double-stranded RNA"



Photo: L. Cicero/Stanford

Andrew Z. Fire

1/2 of the prize



Photo: R. Carlin/UMMAS

Craig C. Mello

1/2 of the prize

# RNA-interference

Ονομάζεται επίσης  
μετα-μεταγραφική  
γονιδιακή  
αποσιώπηση (PTGS)

Είναι μια βιολογική  
διαδικασία στην οποία  
τα μόρια RNA  
αναστέλλουν τη  
γονιδιακή δράση.

## RNA- interference


- Το RNAi περιλαμβάνει μικρά μόρια RNA που ονομάζονται RNA μικρής παρεμβολής (si RNA) και μικρα RNA (mi RNA).
- Αυτά τα μόρια είναι 21 έως 28 ζεύγη βάσεων σε μήκος και παράγεται από μεγαλύτερο dsRNA μόρια με την δράση ενός ενζυμου που ονομάζεται dicer.

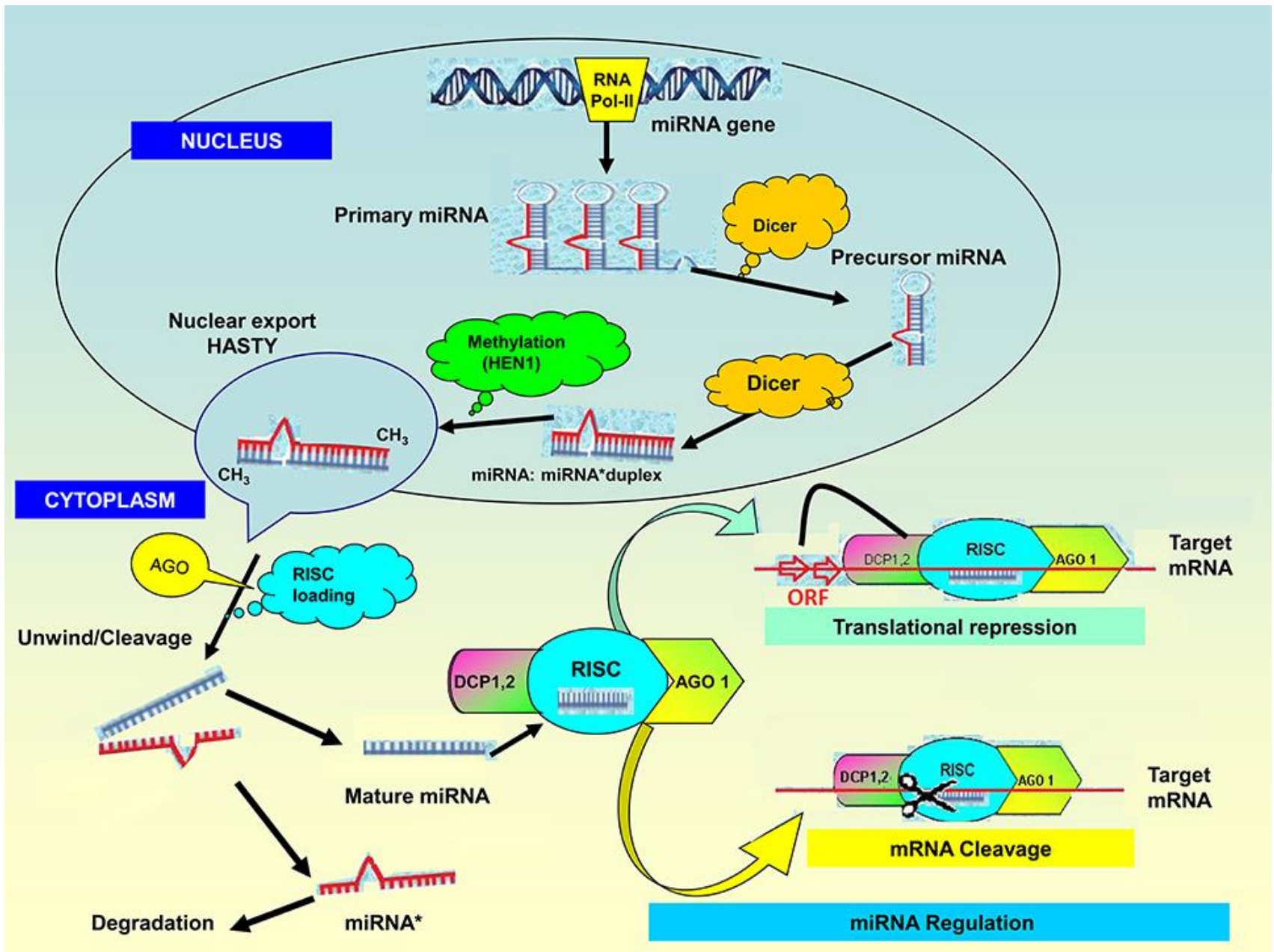
## Difference between miRNA and siRNA

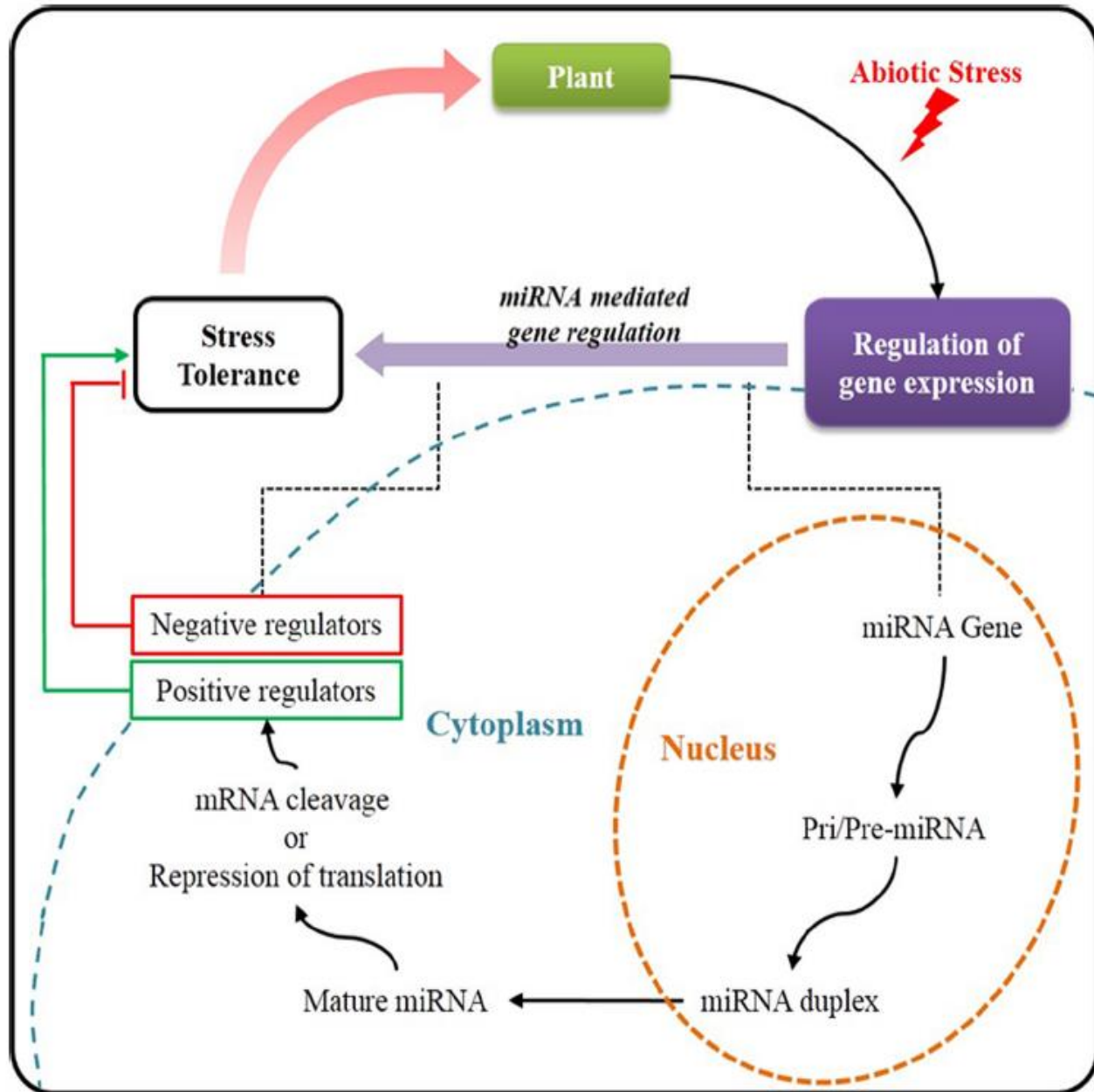
- Function of both species is regulation of gene expression.
- Difference is in where they originated. siRNA originated from dsRNA and miRNA originated with ssRNA that form hairpin secondary structure.
- siRNA is most commonly a response to foreign RNA (usually viral) and is often 100% complementary to the target.
- miRNA regulate post transcriptional gene expression and often not 100% complementary to the target.

# miRNA applications for engineering abiotic stress tolerance in plants



Shabir Hussain Wani<sup>1</sup>  • Vinay Kumar<sup>2</sup> • Tushar Khare<sup>2</sup> • Prateek Tripathi<sup>3</sup> • Tariq Shah<sup>4</sup> • Chopperla Ramakrishna<sup>5</sup> • Supriya Aglawe<sup>5</sup> • Satendra Kumar Mangrauthia<sup>5</sup>







**Table 3** List miRNAs overexpressed or knocked out for engineering abiotic stress tolerance in plants

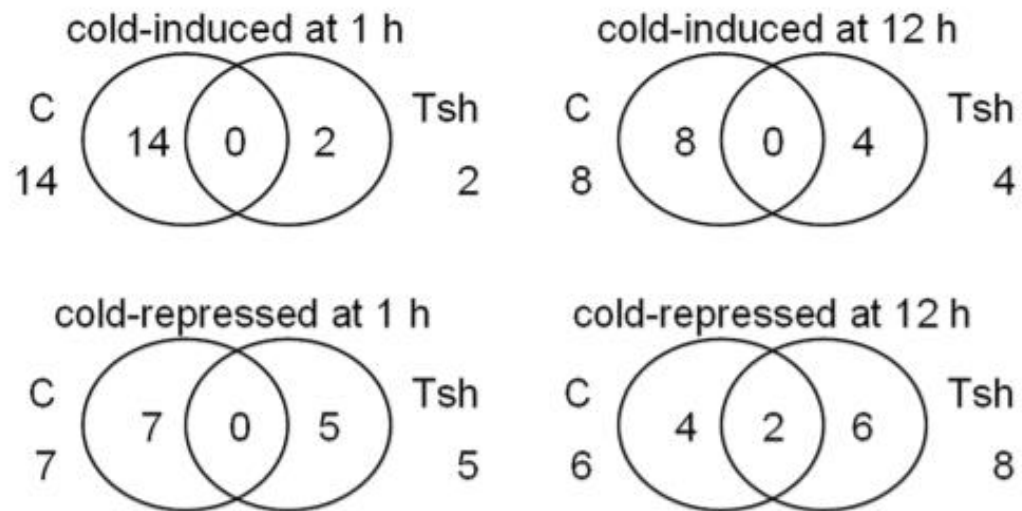
Targeted miRNAs	Transgenic plants	Plant responses	References
<i>miR156</i>	<i>Arabidopsis</i>	Enhanced heat tolerance	Stief et al. (2014)
<i>Mir156</i>	Rice	Reduced cold tolerance	Cui et al. (2015)
<i>miR169</i>	Tomato	Enhanced drought tolerance	Zhang et al. (2011)
<i>miR169</i>	<i>Arabidopsis</i>	increased N-deprivation sensitivity	Zhao et al. (2011)
<i>miR173</i>	<i>Arabidopsis</i>	Increased thermotolerance	Li et al. (2014)
<i>miR319</i>	Bentgrass	Enhanced salt and drought tolerance	Zhou et al. (2013)
<i>miR319</i>	Rice	Enhanced tolerance to chilling stress	Yang et al. (2013)
<i>miR393</i>	<i>Arabidopsis</i>	Increased sensitivity to salinity and alkalinity	Gao et al. (2011)
<i>miR394</i>	<i>Arabidopsis</i>	Enhanced drought tolerance	Ni et al. (2012)
<i>miR395c</i>	<i>Arabidopsis</i>	Reduced seed germination under salt and dehydration conditions	Kim et al. (2010a)
<i>miR395e</i>	<i>Arabidopsis</i>	Accelerated seed germination under salt and dehydration conditions	Kim et al. (2010a)
<i>miR395</i>	Rapeseed	Enhanced tolerance to oxidative stress and heavy metal Stress	Zhang et al. (2013a, b)
<i>miR396</i>	<i>Arabidopsis</i>	Higher sensitivity to salinity and alkalinity	Gao et al. (2010)
<i>miR402</i>	<i>Arabidopsis</i>	Increased salt, drought, and cold stress tolerance	Kim et al. (2010b)
<i>miR408</i>	Chick pea	Enhanced drought tolerance	Hajyzadeh et al. (2015)
<i>miR417</i>	<i>Arabidopsis</i>	Increased sensitivity to salt and ABA	Jung and Kang (2007)
<i>miR828</i>	Sweet potato	Oxidative stress	Lin et al. (2012)
<i>MiR159</i>	Rice	Increased drought resistance in down-regulated transgenic plants	Zhao et al. (2017)
<i>miR393a</i>	Creeping bentgrass	Salt tolerance, drought tolerance and heat tolerance	Zhao et al. (2018)
<i>miR166</i>	Rice	Drought tolerance in knocked-down mutants	Zhang et al. (2018)
<i>miR165/166</i>	<i>Arabidopsis</i>	Drought tolerance in knocked-down mutants	Yang et al. (2019a, b)

RESEARCH ARTICLE

Open Access

# A comparison of the low temperature transcriptomes of two tomato genotypes that differ in freezing tolerance: *Solanum lycopersicum* and *Solanum habrochaites*

Hongyu Chen<sup>1†</sup>, Xiuling Chen<sup>2†</sup>, Dong Chen<sup>3</sup>, Jingfu Li<sup>2</sup>, Yi Zhang<sup>3\*</sup> and Aoxue Wang<sup>1,2\*</sup>



**Fig. 5** The total number of microRNAs (miRNAs) that were either cold-induced or cold-repressed in *S. lycopersicum* (C) and *S. habrochaites* (Tsh)

# mi-RNAs και βελτίωση

Ο έλεγχος της μεταγραφής mRNA μέσω miRNA παρέχει μια μοναδική στρατηγική για τη ρύθμιση της διαφορικής έκφρασης των γονιδίων των φυτών

Έτσι, τα miRNAs αναδύονται ως στόχοι επόμενης γενιάς για γενετική μηχανική για βελτίωση των αγρονομικών ιδιοτήτων των καλλιεργειών

# A. PLANT STRESS TOLERANCE

- **Abiotic stress**

Abiotic stress	Crop	Response	References
Salt	Wheat	Lower methylation level in tolerant cultivar	Wang <i>et al.</i> , 2014
Heat	Grapevine	Transgenerational inheritance of methylation after removal of stress	Baranek <i>et al.</i> , 2015
Cold	Maize	Increase in H3K9ac and H4K5ac in promoter of cell cycle genes	Zhao <i>et al.</i> , 2014
Heavy metal	Chickpea	Hypomethylation in tolerant upon prolonged exposure	Rakei <i>et al.</i> , 2015

# DOGMAS?

- Η φαινοτυπική ποικιλομορφία των καλλιεργειών αποτελεί βασικό ζήτημα που πρέπει να αντιμετωπιστεί ενοψει του επισιτιστικού προβλήματος και της προσαρμογής των καλλιεργειών στις συνεχείς κλιματικές αλλαγές.
- **Οι επιγραφές της χρωματίνης(epigenetic marks) και οι επιγενετικοί ρυθμιστικοί μηχανισμοί είναι ουσιώδεις για τον έλεγχο των αναπτυξιακών διαδικασιών των φυτών και για τη διαμόρφωση της φαινοτυπικής πλαστικότητας των φυτών, συμπεριλαμβανομένων των προσαρμοστικών αποκρίσεων στις περιβαλλοντικές καταπονήσεις.**
- **Τα χαρακτηριστικά σταθερότητας και κληρονομικότητας των επιγενετικών σημάτων και η γνώση των επιγενετικών ρυθμιστικών μηχανισμών είναι ζωτικής σημασίας για τις εφαρμογές της βελτίωσης.**

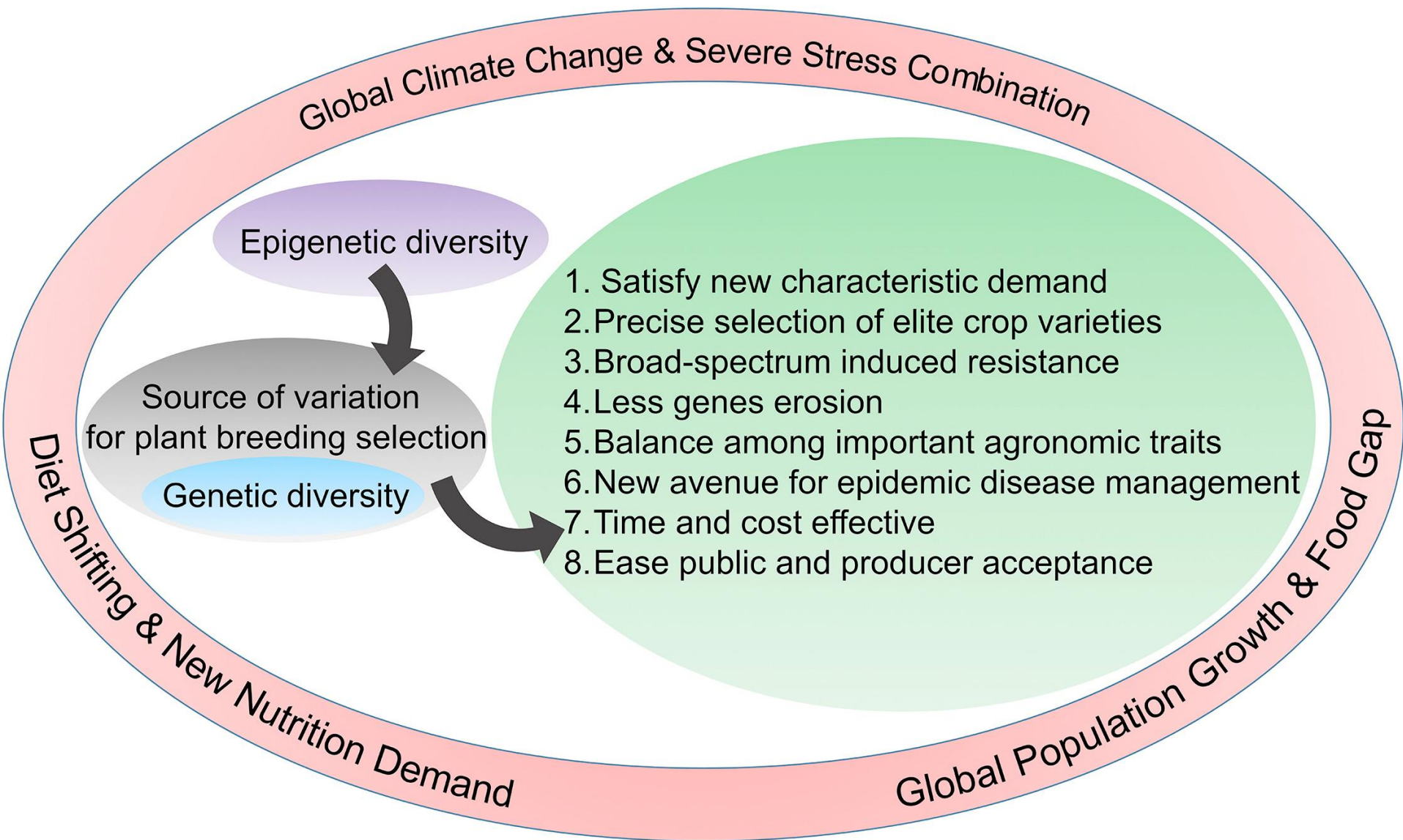
# ***DOGMAS?***

- Crop phenotypic diversity is a key issue facing the challenge of **sustainable food security** and crop adaptation to on going **climate changes**.
- **Chromatin marks** and epigenetic regulatory mechanisms are essential to the control of plant developmental processes and in shaping plant **phenotypic plasticity**, including adaptive responses to environmental stresses.
- **Stability** and **heritability** features of epi-genetic marks and knowledge of epigenetic regulatory mechanisms are crucial for breeding applications.

## B. EPIGENETIC VARIATION

- Plant populations show phenotypic diversity, which may be caused by genetic and epigenetic variation.
- It has recently been shown that new epigenetic variants are generated at a higher rate than genetic variants.
- If an epigenetic variant or epiallele has a phenotypic effect and is more or less stably inherited to the progeny, it is referred to as an epimutant. Such epialleles contribute to the phenotypic diversity of a population and, hence, may have a role in adaptation and evolution.
- Epigenetic variation has been suggested as an explanation for the missing heritability in complex traits.





# Resetting and transgenerational memory

## Επαναρύθμιση και επιγενετική μνήμη που μεταφέρεται από γενιά σε γενιά

Η εαρινοποίηση, μεσολαβεί στην προσαρμογή των φυτών σε διαφορετικά περιβάλλοντα και υποδεικνύει διαδικασίες που επαναρυθμίζονται σε κάθε γενιά.

Η προκαλούμενη από ιούς αποσιωπηση και η αποσιωπηση με μεταθετά στοιχεία περιλαμβάνουν επιγενετικά κληρονομισιμες τροποποιήσεις της χρωματίνης/επιγενετικής.

Οι κληρονομισιμες επιγραφές χρωματίνης (chromatin marks) μπορούν να οδηγήσουν σε κληρονομισιμες φαινοτυπικές διακυμάνσεις, επηρεάζοντας την συμπεριφορά του φυτού και έτσι να υποβληθούν σε φυσική επιλογή. Ωστόσο, σε αντίθεση με τη γενετική κληρονομικότητα, οι επιγενετικές τροποποιήσεις δείχνουν αστάθεια και επηρεάζονται από το περιβάλλον

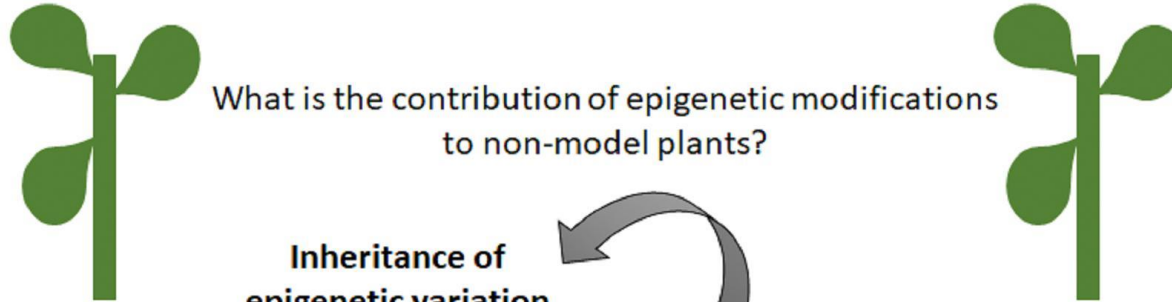
*D.C. Baulcombe and C. Dean: Cold Spring Harb Perspect Biol 2014;6:a019471*

# Resetting and transgenerational memory

**Vernalization**, mediates adaptation of plants to different environments and it exemplifies processes that are reset in each generation.

**Virus-induced silencing** and **transposon silencing** involve transgenerationally inherited epigenetic/chromatin modifications.

Heritable chromatin marks may result in **heritable phenotypic variation**, influencing fitness, and so be subject to natural selection. However, unlike genetic inheritance, the epigenetic modifications show instability and are influenced by the environment.



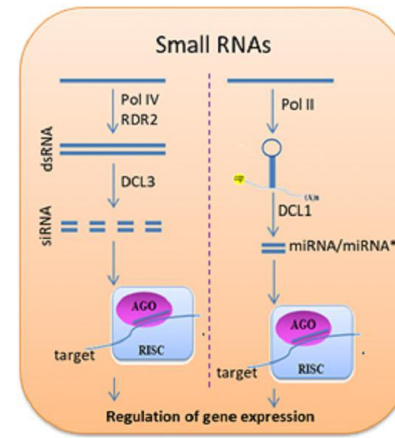
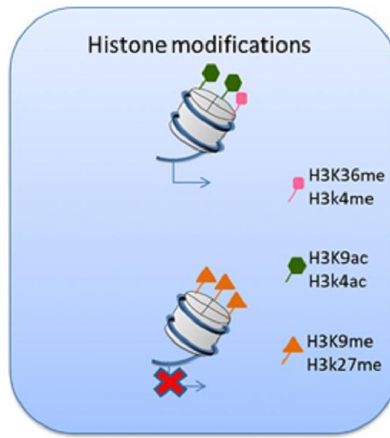
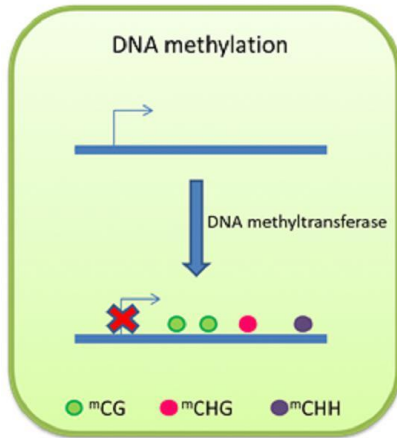
What is the contribution of epigenetic modifications to non-model plants?

Inheritance of epigenetic variation

Epialleles

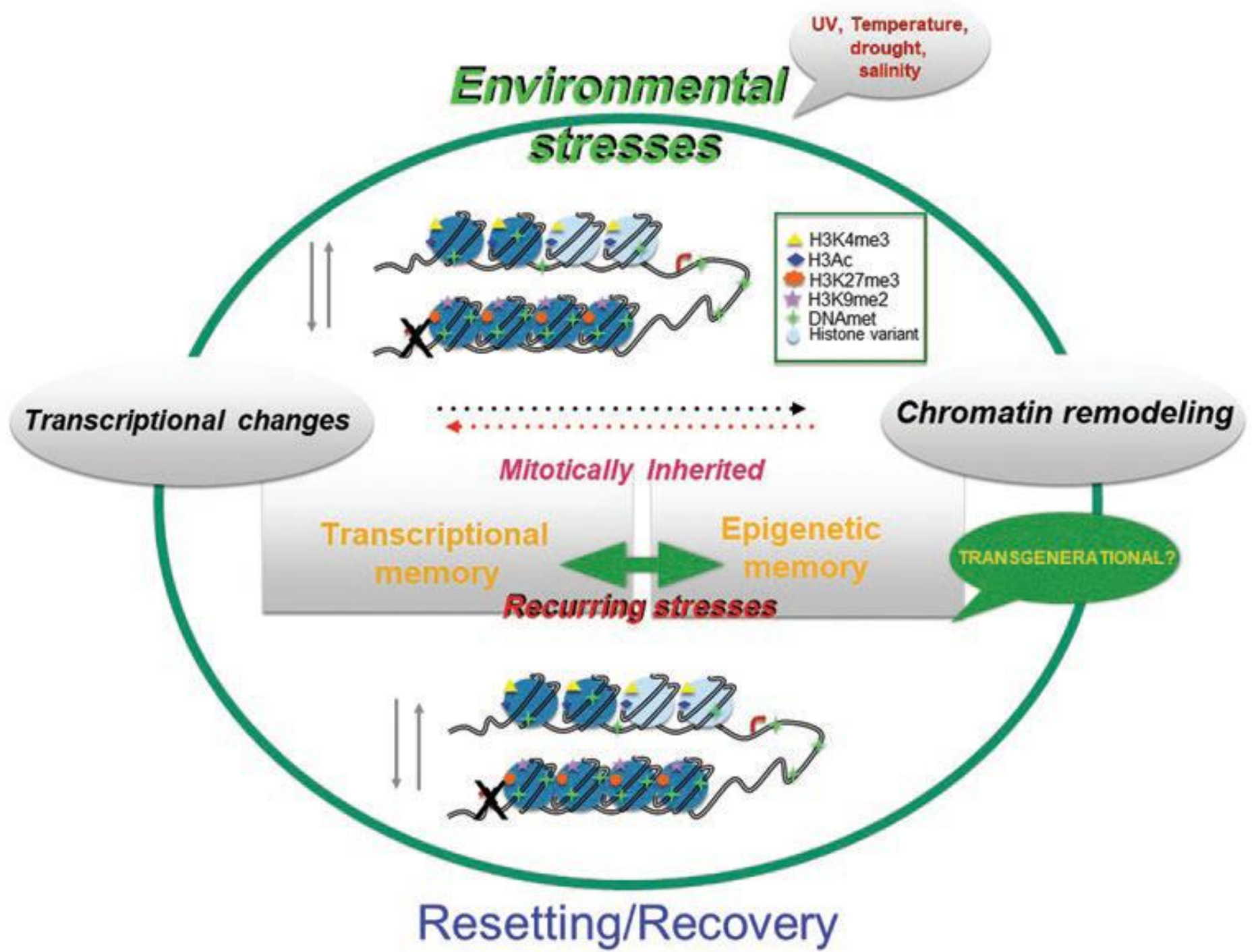
Environmental conditions

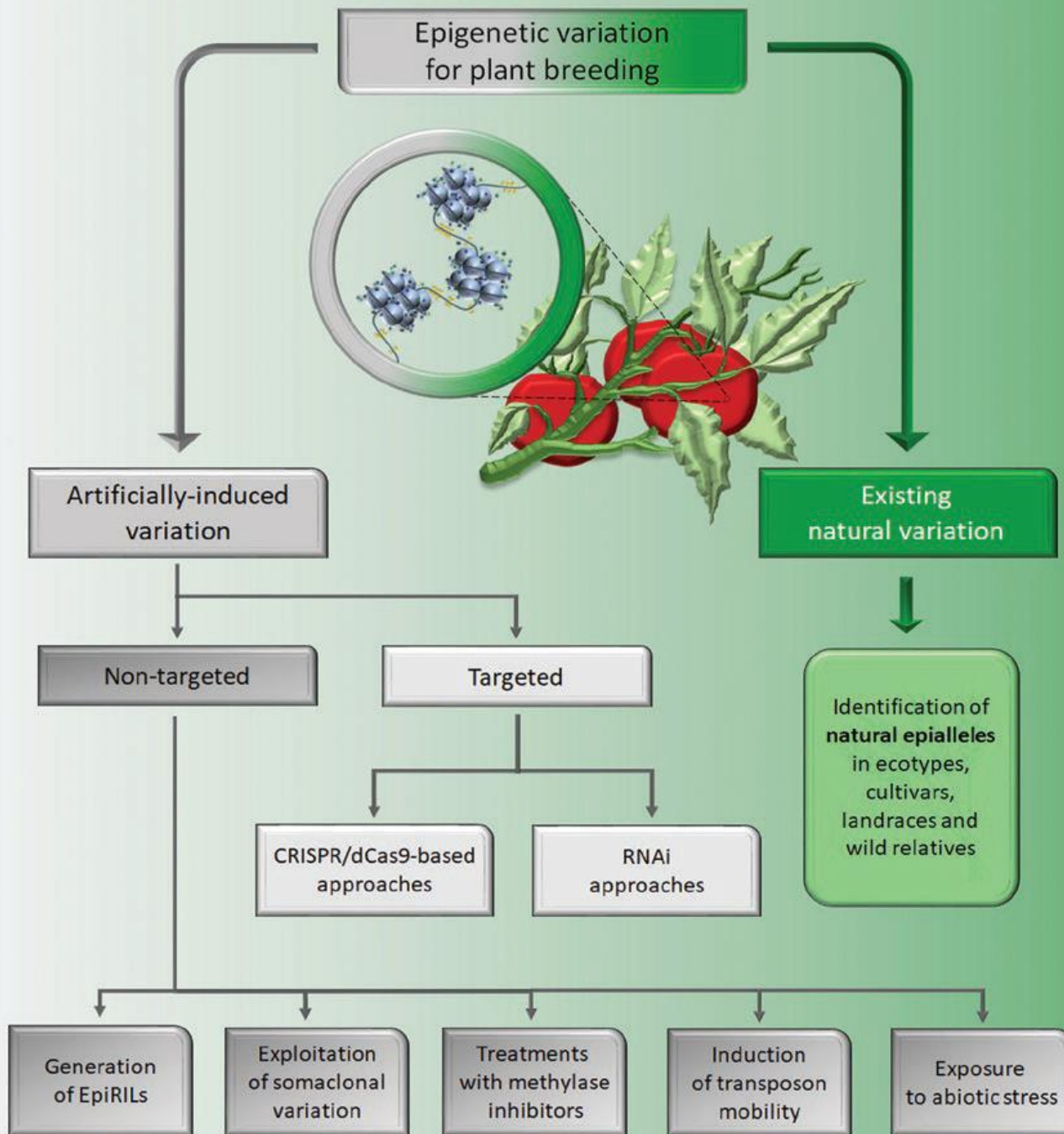
Epigenetic variation

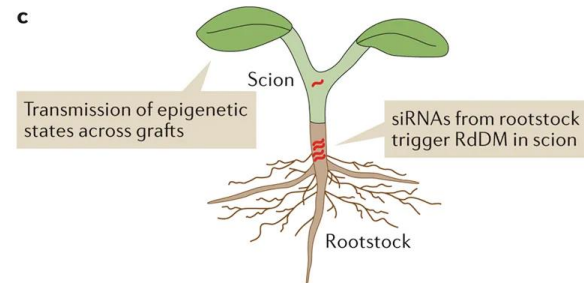
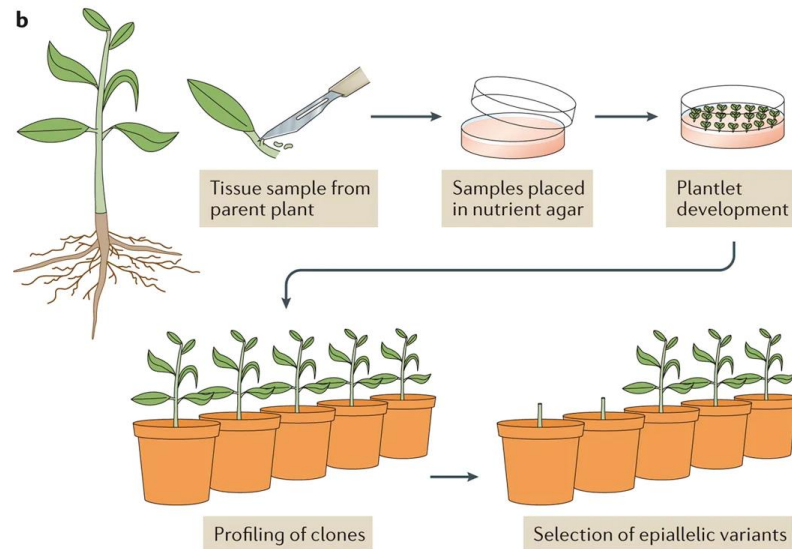
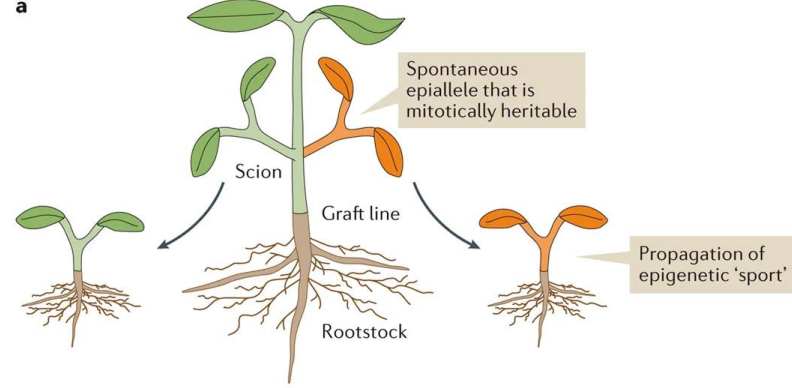


Phenotypic effects

Adaptation and Evolution of natural and non-model population plants







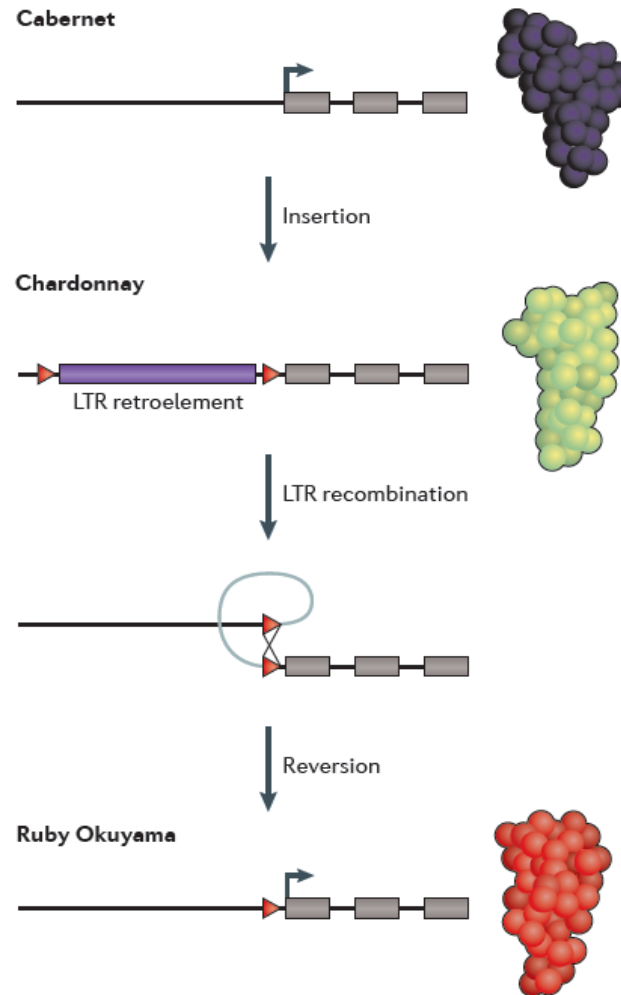


Figure 2 | **Transposable element insertions associated with changes in grape colour.** An initial insertion of a *Gret1* long terminal repeat (LTR) retrotransposon (not present in the Cabernet variety) resulted in a loss-of-function allele of the *Vvmyb1A* gene, leading to a loss of colour in the fruit of the Chardonnay variety. A subsequent rearrangement in *Gret1* results in revertant, coloured grapes in varieties such as Ruby Okuyama. Exons are depicted as grey boxes. The LTRs flanking *Gret1* just upstream of the *Vvmyb1A* gene are depicted as red triangles.



**b**

**Navalina**



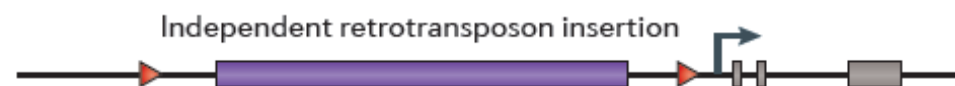
**Tarocco**

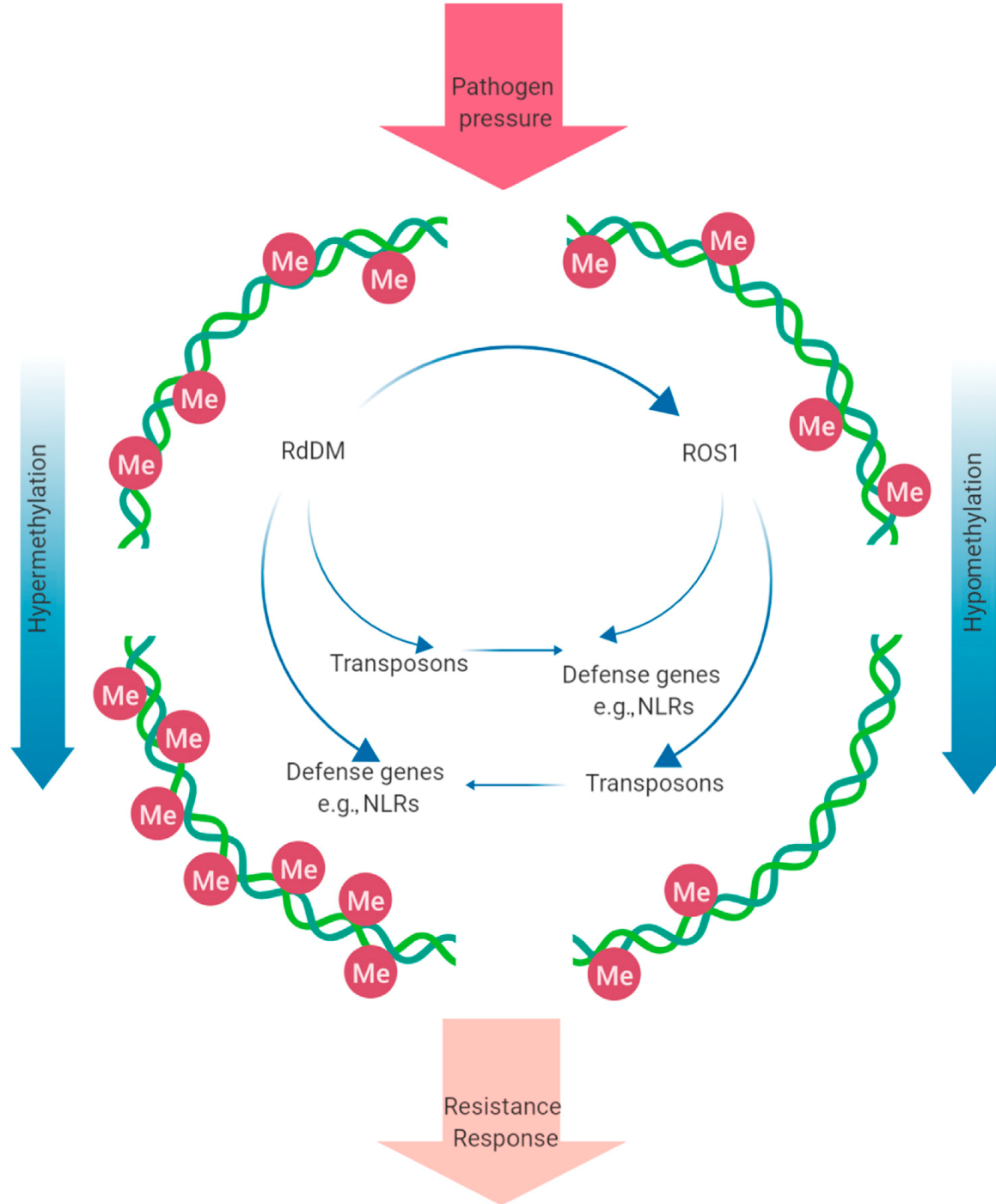


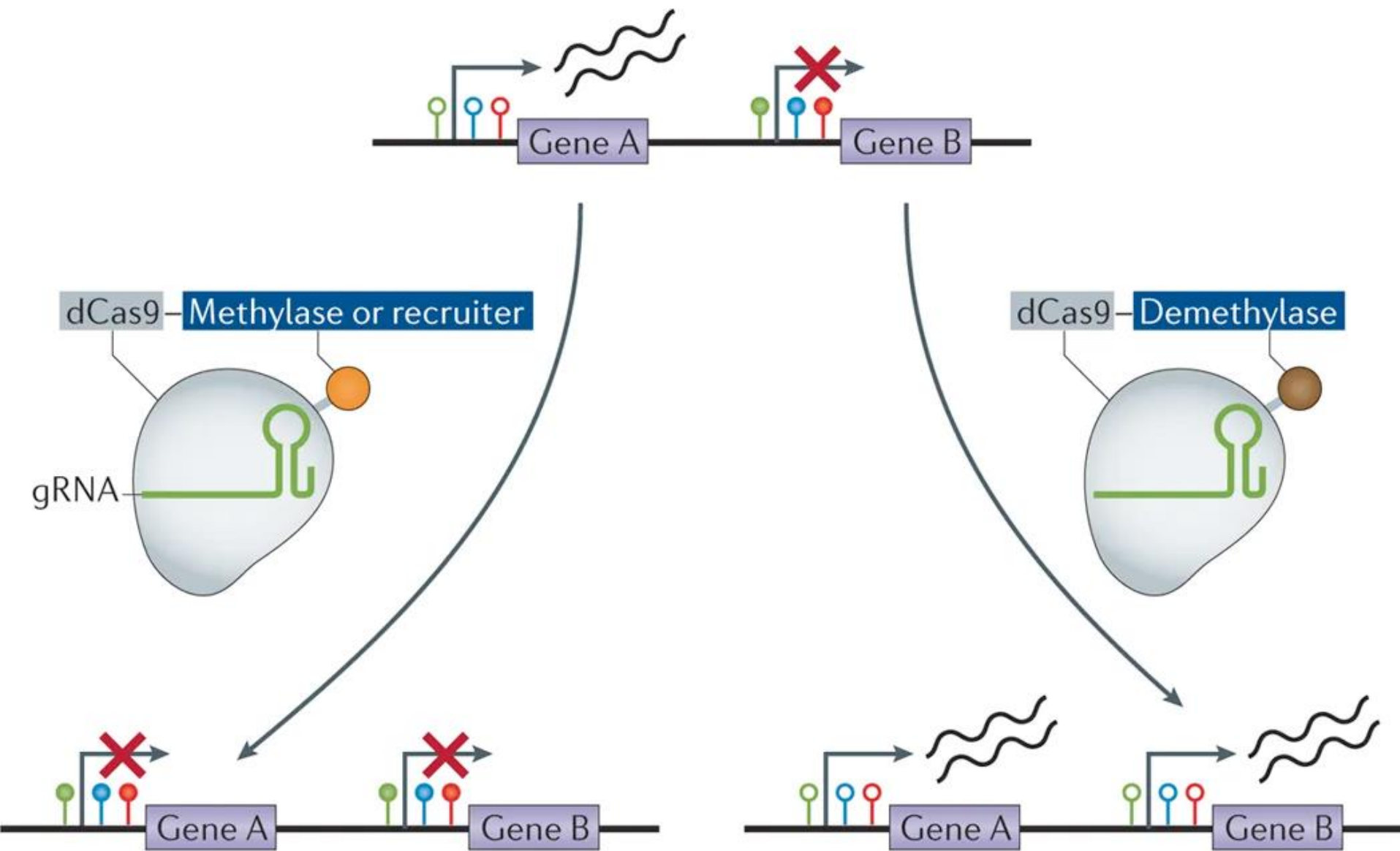
**Maro (I)**



**Jingxian**









ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](http://ScienceDirect)

Plant Science

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/plantsci](http://www.elsevier.com/locate/plantsci)



Review article

## Genomic and epigenomic bases of transgressive segregation – New breeding paradigm for novel plant phenotypes



Benildo G. de los Reyes

*Department of Plant and Soil Science Texas Tech University 215 Experimental Sciences Building, Lubbock, TX 806-834-6421, USA*

Classical breeding  
(MAS)  
Transgenesis

### Genomic Selection

Με τον πλούτο πληροφοριών αλληλουχίας γονιδιώματος που δημιουργούνται, η γονιδιωματική επιλογή παρέχει ένα μέσο για την στατιστική πρόβλεψη της τιμής ενός δεδομένου γονότυπου στην βελτίωση, μοντελοποιώντας τους βέλτιστους συνδυασμούς αλληλομόρφων σε ολόκληρο το γονιδίωμα που μεγιστοποιούν το φαινοτυπικό δυναμικό ενός ατόμου κάτω από ένα δεδομένο περιβάλλον

### Genome editing

*BASIC Research: έρευνα που αποσκοπεί στην  
αύξηση της επιστημονικής μας γνώσης*

*Model species: Arabidopsis thaliana*

Crop plants



*APPLIED Research: γνώση για να βρούμε πρακτική λύση σ  
ένα πρόβλημα*

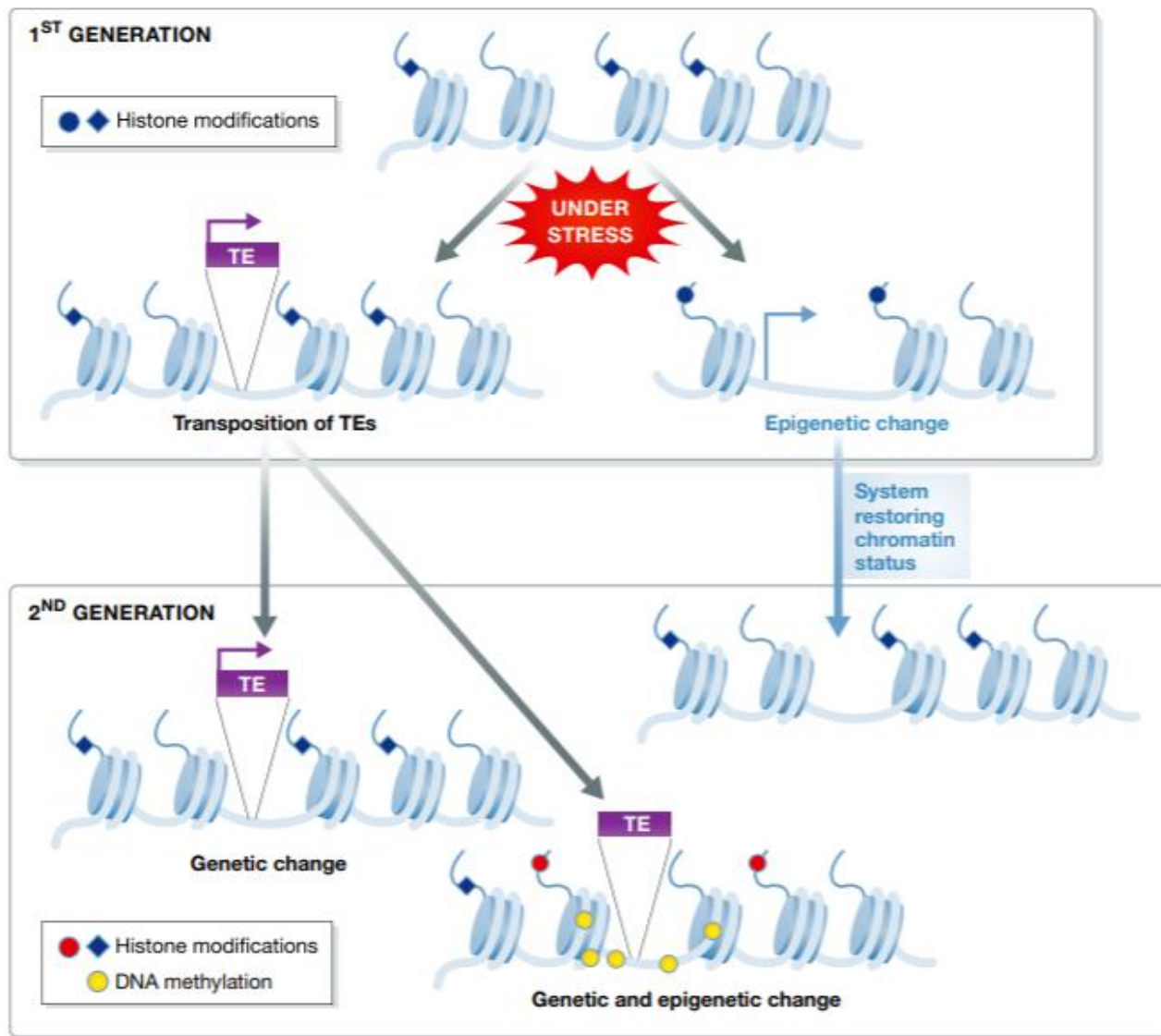
# A matter of time

- Πολλές πρακτικές λύσεις σε πραγματικά προβλήματα έχουν προκύψει απευθείας από τη βασική έρευνα. Για το λόγο αυτό, η διάκριση μεταξύ βασικής έρευνας και εφαρμοσμένης έρευνας είναι συχνά απλά θέμα χρόνου

**Basic research** identified the genetic cause of dwarfism



**Applied research** use the basic information to produce dwarf crops



**Figure 3. Environmentally induced genetic and epigenetic variations.**

Stress induces activation of transposons and epigenetic changes at various silent genomic loci, including heterochromatic regions. Activated transposons may transpose and generate genetic variation. New insertions of transposons also generate epigenetic variation in the vicinity of the new insertions. In contrast, epigenetic changes are mostly transient due to restoration of the pre-stress chromatin status. Therefore, transgenerational transmission of stress-induced epigenetic changes is very restricted.

# Ευχαριστώ πολύ!

SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY PRESENTS:

**IMPACT OF CHROMATIN DOMAINS  
ON PLANT PHENOTYPES**  
CELL AND PLANT SECTION SYMPOSIUM  
9-11 DECEMBER 2019  
REAL CENTRO UNIVERSITARIO ESCORIAL-MARIA  
CRISTINA, EL ESCORIAL, MADRID, SPAIN

SEBIOLOGY.ORG  
#ICDPP19



**NUCLEUS  
IMPACT**

