

# Una aproximación a la ecología epigenética en plantas

C. Parejo-Farnés<sup>1,2,\*</sup>, A. Aparicio<sup>1</sup>, R. G. Albaladejo<sup>1</sup>

(1) Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Sevilla, c/Prof. García González nº 2, 41012 Sevilla, España.

(2) Dirección actual: Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Universidad Nacional de Córdoba -CONICET, CC 495, 5000 Córdoba, Argentina.

\* Autor de correspondencia: C. Parejo-Farnés [[claraparejo@gmail.com](mailto:claraparejo@gmail.com)]

> Recibido el 11 de julio de 2018 - Aceptado el 26 de noviembre de 2018

**Parejo-Farnés, C., Aparicio, A., Albaladejo, R.G. 2019. Una aproximación a la ecología epigenética en plantas. *Ecosistemas* 28(1): 69-74. Doi.: 10.7818/ECOS.1605**

El estudio de la epigenética, cambios químicos estables que no suponen cambios en la secuencia de nucleótidos, ha avanzado considerablemente en los últimos años. Estos cambios son modulables por el ambiente, y pueden ser heredados por las generaciones siguientes. Hay una creciente evidencia de que la variación hereditaria en los rasgos ecológicamente relevantes se puede generar a través de un conjunto de mecanismos epigenéticos, incluso en ausencia de variación genética. Desde un punto de vista evolutivo, la variabilidad generada por mecanismos epigenéticos amplía la variabilidad de fenotipos al aparecer nuevos epialelos que pueden ser seleccionados en poblaciones naturales, reflejando la idea de que la herencia puede no ser tan rígida. Por medio de la regulación epigenética se puede observar cómo es la adaptación al medio ambiente dada por la plasticidad del genoma, la cual tiene como resultado la formación de distintos fenotipos según el medio ambiente al que sea expuesto el organismo. A pesar de la importancia de estos mecanismos aún hay pocos trabajos experimentales que desentrañen las preguntas básicas de ecología epigenética y menos aun los que se han centrado en plantas no modelo.

**Palabras clave:** epialelo; epimutante; fenotipo; metilación; plantas no-modelo; variación genética-epigenética

**Parejo-Farnés, C., Aparicio, A., Albaladejo, R.G. 2019. An approach to the ecological epigenetics in plants. *Ecosistemas* 28(1): 69-74. Doi.: 10.7818/ECOS.1605**

The study of epigenetics, stable chemical changes that do not involve changes in the sequence of nucleotides, has greatly advanced in recent years. These changes can be shaped by the environment and can be inherited into the following generations. There is growing evidence that the inherited variation in ecologically relevant traits can be generated through a set of epigenetic mechanisms, even in the absence of genetic variation. From an evolutionary point of view, the variability generated by epigenetic mechanisms increases the variability of phenotypes when new epialleles appear that can be selected in natural populations, reflecting the idea that inheritance might be not so inflexible. By means of epigenetic regulation it can be observed how adaptation to the environment is given by the plasticity of the genome, which results in the formation of different phenotypes according to the environment to which the organism is exposed. Despite the importance of these mechanisms there are still few experimental studies that unravel the basic questions of epigenetic ecology and even less those that have focused on non-model plant species.

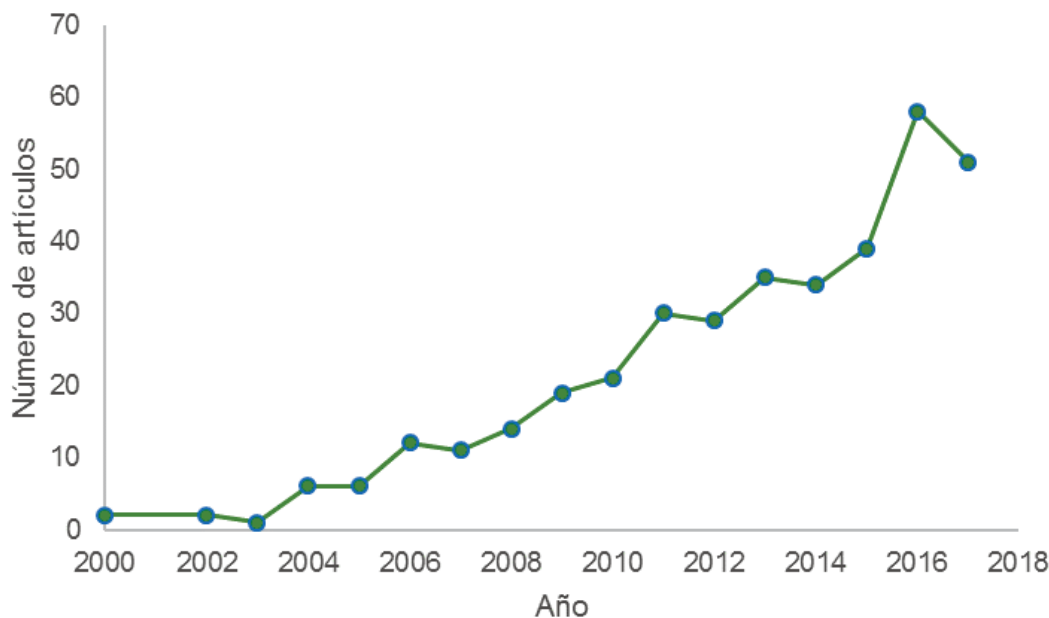
**Key words:** epiallele; epimutant; phenotype; methylation; non-model plants; genetic-epigenetic variation

## Epigenética: ¿qué es y cuáles son sus efectos? Mecanismos en plantas

La epigenética es “el estudio de cambios heredables en la expresión y función génica que no pueden ser explicados por cambios en la secuencia de ADN” (Richards 2006), estudia los cambios hereditarios en las pautas de expresión génica que están mediados por mecanismos diferentes a las modificaciones de la secuencia nucleotídica de un gen. El término fue acuñado por Conrad Hal Waddington en 1942 para referirse al estudio de las interacciones entre genes y ambiente que se producen en los organismos. En los últimos años el interés por la epigenética en ecología ha crecido, así lo muestra el aumento en el número de publicaciones sobre esta temática en las dos últimas décadas (Fig. 1). Si bien la literatura científica en general ha crecido, el aumento de las publicaciones sobre el tema se debe en gran medida a la creciente conciencia de que algo más que la información en la secuencia de ADN afecta a la expresión de los genes y al fenotipo que éstos determinan, y

en última instancia a la evolución de las plantas (Jablonka y Lamb 1998, 2005; Rapp y Wendel 2005; Bossdorf et al. 2008).

Desde un punto de vista evolutivo, la variabilidad generada por mecanismos epigenéticos amplía la variabilidad de fenotipos por la aparición de nuevos epialelos (véase Glosario en Cuadro 1) que pueden ser seleccionados en poblaciones naturales (Richards 2006; Ashapkin et al. 2016). Una característica fundamental del fenómeno epigenético es que está influenciado por el ambiente, donde un mismo genotipo puede mostrar fenotipos alternativos, por lo que tiene implicaciones en la forma en que debemos ver la herencia y la evolución. Estos cambios pueden ser base para la plasticidad fenotípica, aunque aún hay pocos trabajos que estudien estos procesos (Bossdorf et al. 2008, 2010; Richards 2011; Herrera y Bazaga 2011, 2013). Los cambios epigenéticos pueden modificar los fenotipos sin cambiar la secuencia de nucleótidos y sirven para controlar la regulación de la expresión génica. Así, las variaciones epigenéticas heredables pueden ser una de las bases del cambio evolutivo y la evolución no puede verse únicamente en términos de



**Figura 1.** Búsqueda de artículos realizada en Web of Science (WOS) con las palabras clave “plant epigenetic AND ecolog\*” desde el año 2000 hasta mayo del 2018.

**Figure 1.** Search of articles made in Web of Science (WOS) with the keywords “plant epigenetic AND ecolog\*” from the year 2000 until May 2018.

cambio de las frecuencias genéticas, ya que la frecuencia de las variantes epigenéticas también debe ser consideradas (Grant-Downton y Dickinson 2005; Rapp y Wendel 2005).

Dos líneas de investigación relativamente distintas han avanzado en el estudio de la epigenética en plantas (Richards et al. 2017). Por un lado, los estudios realizados en organismos modelo han explorado mecanismos moleculares utilizando las últimas y mejores tecnologías de secuenciación. Por otro lado, los estudios interesados en la relevancia ecológica y evolutiva de la epigenética que asumen los desafíos de trabajar con especies no-modelo en entornos complejos, pero que se han visto limitados por herramientas de análisis genético menos poderosas. Para mejorar nuestra comprensión de los mecanismos subyacentes a la variación fenotípica natural y las respuestas de los organismos al cambio ambiental, es necesario estudiarlos en un contexto ecológico, por lo que debemos combinar enfoques experimentales tomados de la ecología molecular y utilizar nuevas técnicas para analizar y manipular la variación epigenética, con el objeto de determinar la extensión y estructura de la variación epigenética dentro y entre las poblaciones naturales (Bossdorf et al. 2008; Richards 2011).

Los cambios epigenéticos se basan en un conjunto de procesos moleculares que pueden activar, reducir o desactivar (silenciar) completamente la actividad de los genes. Estos mecanismos epigenéticos pueden: (i) metilar residuos de citosina en el ADN (relacionado con el silenciamiento génico), (ii) remodelar la estructura de la cromatina mediante modificación química, en particular mediante acetilación o metilación de proteínas de tipo histonas y (iii) regular procesos mediados por pequeñas moléculas de ARN que regulan la expresión de los genes mediante el silenciamiento post-transcripcional de estos por pequeñas moléculas de ARN de interferencia. Estudios recientes muestran como esas pequeñas moléculas de ARN pueden estar involucradas en la metilación de las citosinas y la modificación de histonas asociadas con la quiescencia transcripcional de regiones genómicas particulares (Wasse-negger 2005; Masuelli y Marfil 2011). Los distintos procesos no son independientes entre sí, y a menudo regulan la actividad genética de una manera compleja e interactiva (Grant-Downton y Dickinson 2005; Berger 2007). El mecanismo epigenético más común en plantas es la metilación del carbono 5' del anillo de citosina (5mC). Los motivos que predominantemente se encuentran metilados en el ADN son los dinucleótidos CG y trinucleótidos CNG (siendo N

#### CUADRO 1. Glosario

**Cambios epigenéticos:** Cambios en el fenotipo que están mediados por mecanismos distintos de las alteraciones en la secuencia de ADN.

**Cambios epigenéticos heredables:** Modificaciones heredables en la estructura y organización del ADN que no involucran cambios en la secuencia y que modulan la expresión génica. Estos pueden conllevar cambios heredables en el fenotipo.

**Carga epigenética:** Conjunto de marcas epigenéticas que tiene un organismo.

**Efecto ambiental:** Independientemente del genotipo, el ambiente influye en el fenotipo de la progenie. Esto puede ocurrir a través de cambios epigenéticos en el genoma parental que se transmiten a la progenie.

**Epialelo:** Estados epigenéticos alternativos y estables del mismo gen.

**Epimutante:** Organismo con diferente fenotipo debido a variantes epigenéticas, y al contrario que los mutantes clásicos, usualmente reversibles.

**Metilación:** Unión covalente de un grupo metilo al carbono en posición 5' del anillo del nucleótido citosina en el ADN, lo cual permite la conformación cerrada de la cromatina. Un alto grado de metilación se asocia con el silenciamiento de genes.

**Organismo modelo:** Especie ampliamente estudiada que se usan para investigar múltiples aspectos de la biología y, por lo general es fácil de mantener y reproducir en un entorno de laboratorio.

**Plasticidad fenotípica:** Cambio observable en las características de un organismo en respuesta a una señal ambiental.

cualquier nucleótido) (Martienssen y Colot 2001). La distribución de estas metilaciones en el genoma no es azarosa y varía dependiendo del tejido y el estado de desarrollo de la planta. Las enzimas ADN metiltransferasas catalizan la formación de 5mC por transferencia del grupo metilo de la S-adenosil metionina a las citosinas del ADN (Colot y Rossignol 1999). Se reconocen dos tipos de ADN metiltransferasas: i) las “de novo”, que añaden grupos metilo a sitios no metilados de la doble hebra de ADN y ii) las de “mantenimiento”, que metilan sitios en base a 5mC de una hebra molde (véase metodologías usadas en Cuadro 2).

## CUADRO 2. Técnicas metodológicas

**MSAP (Methylation-Sensitive Amplification Polymorphism):** Es una variación de la técnica AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*; Vos et al. 1995) que se basa en el tratamiento diferencial que dos isoesquízómeros realizan del mismo sitio de reconocimiento en función del entorno de metilación. Frecuentemente se usan los isoesquízómeros *HpaII* y *MspI*, que reconocen el motivo 5'-CCGG-3' y cortan la secuencia cuando las citosinas de ambas hebras no están metiladas; sin embargo, *HpaII* corta cuando una o las dos citosinas de una hebra está metilada (estado hemimetilado; <sup>HMe</sup>CCGG o <sup>HMe</sup>C<sup>H</sup>-<sup>Me</sup>CCG), mientras que *MspI* corta cuando la citosina interna está hemi o completamente metilada en las dos hebras (metilación interna; C<sup>HMe</sup>CG o C<sup>Me</sup>CG). Al igual que los AFLP tiene la ventaja fundamental de poder emplearse fácilmente en organismos no modelo siendo así la técnica más usada hasta ahora en estudios ecológicos para estudiar la metilación global de las citosinas.

**HPLC y ELISA:** Los niveles globales de metilación en el ADN se pueden evaluar mediante técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y mediante métodos de electro-inmuno ensayo (ELISA). Estos métodos estiman la proporción de citosinas metiladas en todo el genoma. Estos métodos no requieren ningún conocimiento previo del genoma, pero no distinguen entre diferentes ubicaciones genómicas.

**Secuenciación bisulfito:** Permite realizar un mapeo de metilaciones alelo-específicas en las islas CpG (regiones de DNA ricas en pares de citosina y guanina enlazados por fosfato, que son especialmente abundantes en las regiones promotoras de los genes), añadiendo la posibilidad de observar las metilaciones además de la secuencia nucleotídica. El bisulfito actúa desaminando las citosinas del DNA convirtiendo a éstas en el nucleótido uracilo. La base del método es que el bisulfito por sus propiedades físico-químicas es incapaz de actuar sobre las citosinas que se encuentren metiladas. Si la citosina está metilada se produce la atracción de proteínas que condensan la cromatina y se produce el silenciamiento del gen, si la citosina está desmetilada, significará usualmente que los genes están expresándose. Requiere el conocimiento previo de las secuencias y es la técnica más usada en organismos modelo.

**Secuenciación NGS:** Es una combinación de las nuevas técnicas de secuenciación masiva acopladas con la secuenciación bisulfito. Permite estudiar la metilación del ADN y otras modificaciones epigenéticas en organismos no modelo. Las tecnologías de secuenciación masiva permiten reducir costes en los análisis, simplificando la metodología de trabajo y aumentando la capacidad y velocidad de secuenciación para un gran número de muestras o para muestras que requieren estudio de un gran número de genes, y sin duda será la técnica más usada en un futuro cercano. Dos variantes de esta técnica son BsRADSeq y el EPIGBS, son dos técnicas muy parecidas que adaptan las técnicas de reducción de la complejidad del genoma. Estas técnicas consisten en cortar el genoma con enzimas de restricción y secuenciar los fragmentos generados con NGS, es decir, hacen una conversión bisulfito antes de la secuenciación.

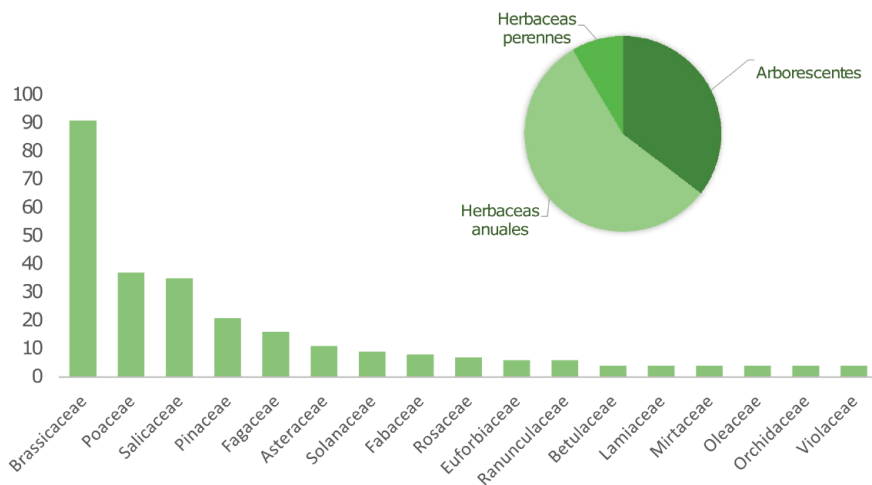
Como las plantas no pueden adaptarse de manera conductual o migrar para adaptarse, los mecanismos de respuesta epigenética reversibles, que actúan bajo condiciones ambientales (Angers et al. 2010; Müller 2010; Downen et al. 2012; Robertson y Richards 2015), pueden ser particularmente cruciales para su supervivencia individual y la persistencia de la población dentro de los entornos dinámicos que experimentan. Los procesos epigenéticos son responsables de varios mecanismos de plasticidad fenotípica, este es un elemento clave en la evolución de las especies y las interacciones ecológicas, y en plantas superiores existe una mayor capacidad para producir fenotipos alternativos en respuesta al medio. En especies no modelo, se ha encontrado una relación entre las metilaciones y la plasticidad fenotípica (Zhang et al. 2013), floración inducida por el ambiente (Bastow et al. 2004; He y Amasino 2005; Bosssdorf et al. 2008), cambios en la morfología de las hojas (Herrera y Bazaga 2013), y en la morfología floral (Cubas et al. 1999; Herrera y Bazaga 2010) o en el tamaño de la planta (Finnegan et al. 1996). Es un componente importante en los eventos de hibridación y poliploidización y, por lo tanto, pueden desempeñar un papel clave en la especiación y la biología de muchas especies invasoras

(Ellstrand y Schierenbeck 2000; Liu y Wendel 2003; Rapp y Wendel 2005; Salmon et al. 2005) debido al silenciamiento de determinados genes que están involucrados en cambios fenotípicos rápidos y drásticos en los aloploidoides (Ainouche et al. 2009). La variación epigenética también puede ser alterada directamente por las interacciones ecológicas, a diferencia de la variación genética (Fieldes y Amyot 1999; Richards 2006; Whitelaw y Whitelaw 2006) y, por lo tanto, puede proporcionar una vía acelerada adicional para el cambio evolutivo. A pesar de que los factores epigenéticos se consideran cada vez más importantes para el control molecular del fenotipo individual (Bosssdorf et al. 2008; Jablonka y Raz 2009), aún hay pocos estudios que hayan analizado su importancia en especies no modelo y aún menos en condiciones no controladas.

## Algunos ejemplos sobre epigenética ecológica: estudios clásicos y recientes

En una búsqueda de artículos realizada en Web of Science (WOS) (<https://www.fecyt.es/es/recuso/web-science>) con las palabras clave "plant epigenetic AND ecolog\*" hemos encontrado 393 trabajos en plantas desde el año 2000 hasta mayo del 2018. Siendo una temática relativamente reciente llama la atención que 83 trabajos (un 21%) son artículos de revisión en los que no se aportan datos empíricos. Entre los trabajos experimentales, las especies más estudiadas son especies modelos, 79 (25%) realizados en *Arabidopsis thaliana* y 35 (11%) trabajos experimentales dentro del género *Populus* (Fig. 2). Hasta el momento los estudios empíricos con especies no modelo (196) son menos abundantes y se han limitado a describir patrones amplios de variabilidad y estructura epigenética basados en marcadores anónimos de la metilación del ADN (frecuentemente con la técnica MSAP). De estos estudios, más del 60% se han centrado en plantas de vida corta (hierbas anuales y bianuales) y solo un 33% lo ha hecho en plantas perennes. A nivel taxonómico las familias más estudiadas son Brassicáceas, Poáceas, Salicáceas, Pináceas, Fagáceas y Asteráceas de un total de 44 familias de plantas diferentes.

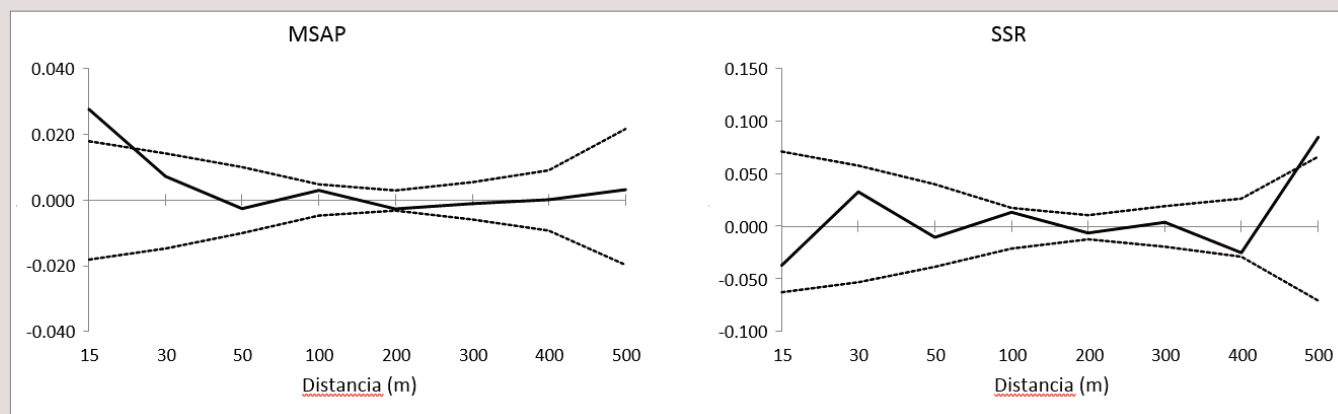
Los mecanismos epigenéticos son cruciales para los organismos y tienen un papel esencial en diversos mecanismos en plantas que pueden afectar desde la morfología floral (y por tanto su interacción con los polinizadores) hasta el desarrollo vegetativo. Uno de los ejemplos más clásicos en epigenética es el del mutante pelórico de *Linaria vulgaris*, descrito por Linneo en 1744, donde la simetría bilateral de la flor cambia a una simetría radial en el mutante (Gustafsson 1979). Cubas et al. (1999) demostraron que la forma floral del mutante se debe a un epialelo del gen *Lcyc*, que controla la simetría dorsoventral de la flor, el cual estaba altamente metilado y silenciado en el mutante. Esta modificación es heredable y el grado de metilación del gen *Lcyc* se correlaciona con el fenotipo de la flor, de tal manera que las plantas de simetría bilateral están parcialmente metiladas, mientras que las pelóricas e intermedias se hallan altamente metiladas. Para conocer la importancia de la variación epigenética frente a la genética se han realizado diversos estudios en los que es más habitual encontrar una mayor diversidad epigenética que genética. Uno de estos ejemplos se realizó comparando ambos componentes (genético y epigenético) en manglares de la especie *Laguncularia racemosa* (Lira-Medeiros et al. 2010). En este estudio se constató que en dos ambientes diferentes (río y marisma) existió poca estructuración genética pero una alta estructuración epigenética que se relacionó con la divergencia fenotípica observada; las plantas más pequeñas y con hojas de menor tamaño estaban relativamente hipometiladas en comparación con las de mayor porte situadas en el río. Asimismo, Schulz y colaboradores (2014) estudiaron poblaciones de la especie *Viola elatior* en dos tipos de hábitats adyacentes a lo largo de un gradiente sucesional con diferencias en cuanto a disponibilidad de luz y encontraron que la diversidad genética y la diferenciación epigenética se correlacionaron significativamente, es decir, la variación epigenética depende en parte de las mismas fuerzas impulsoras que la variación genética (ver otro ejemplo en Cuadro 3), aunque la variación epigenética estaba más estrechamente relacionada con las condiciones del hábitat.



**Figura 2.** Número de trabajos por familias estudiadas en 393 artículos desde el año 2000 y porcentaje de trabajos según el ciclo de vida de las plantas.  
**Figure 2.** Number of studies by families in 393 articles since 2000 and percentage of studies according to the life cycle of the plants.

### CUADRO 3. Aproximación experimental

Con el fin de medir la estructuración epigenética natural de la especie arbustiva *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) realizamos un estudio en dos poblaciones de la especie ubicadas en Andalucía occidental. Algunas plantas de estas poblaciones soportan un alto estrés hídrico durante el verano por falta de agua y una alta irradiación solar por la ausencia de cobertura arbórea. Para este estudio se epigenotiparon 40 individuos en cada población mediante la técnica MSAP (cuadro 2). Para comparar los resultados con la estructuración genética natural de la especie estos individuos se genotiparon mediante la amplificación de 7 pares de microsatélites nucleares (SSR) altamente polimórficos (Albaladejo et al. 2008). Realizamos correlogramas espaciales con la información genética y epigenética de cada individuo en Genalex 6.5 (Peakall y Smouse 2006). Los resultados mostraron una ausencia de estructura genética espacial, concordante con otros estudios sobre la especie (p.e. Albaladejo et al. 2009, Parejo-Farnés et al. 2017), aparentemente debido a la elevada capacidad de dispersión de la especie, tanto de polen por el viento como de las semillas por frugívoros. Sin embargo, fue detectable una estructuración espacial de la variabilidad epigenética a pequeñas distancias (< 30 metros). En otras palabras, los individuos más cercanos tienden a ser más parecidos epigenéticamente con independencia de su genotipo. El hecho de que individuos más cercanos compartan condiciones ambientales similares (humedad, distribución de nutrientes en el suelo, radiación solar, etc.) seguramente está ejerciendo un efecto directo en la carga epigenética de cada individuo, haciendo que individuos cercanos compartan la carga epigenética. En plantas que no encontramos diferenciación genética entre poblaciones la diversidad epigenética nos puede permitir diferenciar entre poblaciones e individuos como se han demostrado en otros trabajos (p.e. Sáez-Laguna et al. 2014).



**Figura C3.** Valores promedio (línea continua) e intervalo de confianza al 95% (líneas discontinuas) de similaridad epigenética (MSAP) y genética (SSR) frente a la distancia espacial. Los intervalos de confianza están contruidos mediante tests de permutaciones (1000 permutaciones).

Otros estudios muestran como el nivel global de metilación del ADN también puede estar involucrado en la respuesta de las plantas a interacciones de tipo antagonistas. Así, en *Taraxacum officinale* las plantas expuestas a daño por herbívoros o patógenos tuvieron hasta un 30% más de cambios en sus perfiles de metilación en comparación con controles genéticamente idénticos no dañados, y algunas de las modificaciones epigenéticas inducidas por el medio ambiente persistieron a través de varias generaciones, además de las generadas por herbívoros y agentes patógenos, que desencadenaron una variación de la metilación en todo el genoma (Verhoeven et al. 2010). En *Ilex aquifolium* se ha detectado un efecto directo entre la herbivoría, la plasticidad fenotípica y los

cambios epigenéticos, encontrándose patrones de metilación diferenciales entre hojas espinosas y no espinosas del mismo individuo (Herrera y Bazaga 2013). Incluso procesos hasta ahora considerados exclusivamente genéticos podrían estar influenciados por mecanismos epigenéticos. Trabajos realizados en invernadero han mostrado como la variación epigenética heredable está asociada a efectos negativos de la endogamia en la planta perenne *Scabiosa columbaria* ya que un aumento en los niveles de endogamia aumentó los niveles de metilación del ADN (Vergeer et al. 2012). En ambientes concretos, como el clima mediterráneo, el estrés abiótico durante los veranos con alta radiación y pocas precipitaciones pueden propiciar un ambiente perfecto para los



cambios epigenéticos por adaptación fenotípica (Balao et al. 2017). Un buen ejemplo de ello es el trabajo de Sáez-Laguna et al. (2014) en el que se centran en uno de los árboles mediterráneos más importantes desde el punto de vista ecológico, económico y social, *Pinus pinea*. Estos autores detectaron un alto grado de metilación del ADN (64% de los fragmentos de ADN puntuados) que contrasta con la falta de variación genética de la especie, caracterizada por niveles muy bajos de variación genética (Fallour et al. 1997; Pinzauti et al. 2012).

Otra tarea importante en la epigenética ecológica es establecer una conexión funcional entre la variación epigenética hereditaria y la variación fenotípica en los rasgos ecológicamente relevantes. Una aproximación utilizada para estudiar esta conexión ha sido el uso de agentes desmetilantes (sobre todo el uso de 5-azacitidina) (Jones 1985), que inhiben la enzima metiltransferasa provocando la desmetilación del ADN. El tratamiento con agentes desmetilantes se puede realizar durante la germinación de las semillas o por pulverización en plántulas ya establecidas, teniendo este último menos efectos secundarios (Vitek Latzel comunicación oral). Siguiendo esta aproximación Tatra et al. (2000) midieron el efecto de la luz y la azacitidina en el crecimiento de plantas de *Stellaria longipes* y observaron un efecto significativo del efecto de la irradiación lumínica en plantas tratadas con azacitidina, relacionando la desmetilación del ADN con la respuesta de evitación de la sombra, plantas con menor radiación, presentaron menos metilaciones y un mayor crecimiento. Esto sugiere que la variación epigenética puede afectar las interacciones ecológicas, y que el genotipo y epigenotipo pueden interactuar en este sentido. A diferencia de los mecanismos genéticos, una gran parte de la variación epigenética se desencadena por el estrés y los cambios ambientales (Rapp y Wendel 2005; Turner 2009; Halfmann y Lindquist 2010; Kim et al. 2015; Meyer 2015) en un momento en que los nuevos fenotipos podrían ser cruciales para la supervivencia de la población. Las fluctuaciones ambientales pueden desencadenar múltiples epimutaciones simultáneas que afecten a los rasgos adaptativos complejos, y estas nuevas modificaciones epigenéticas pueden originarse en varios individuos simultáneamente, lo que puede facilitar la fijación dentro de una población o especie (Flatscher et al. 2012; Burggren 2016). Otro ejemplo en el que se ha usado un agente desmetilante es anteriormente mencionado de Vergeer et al. (2012) donde comprobaron que la depresión endogámica desaparecía cuando la variación epigenética se modificaba mediante el tratamiento con azacitidina, relacionando la depresión endogámica firmemente con la variación epigenética.

El metiloma de las plantas superiores es mucho más flexible en comparación con su genoma, y esta variabilidad es probablemente una fuente principal de la plasticidad fenotípica de las plantas, que les permite adaptarse al entorno cambiante en las escalas de tiempo demasiado cortas para que ocurran mutaciones adaptativas. Hay un aumento en la variabilidad epigenética de la población de plantas en un contexto genético prácticamente sin cambios cuando los factores ambientales esenciales están cambiando rápidamente, como se ha visto en los ejemplos anteriores. En plantas modelo como *Arabidopsis thaliana* se ha visto mutaciones del gen SUPERMAN que afectan al desarrollo de la flor con un exceso de estambres (Ashapkin et al. 2016) o se produce el silenciamiento del gen FLC que actúa como represor de la floración durante el invierno, tras la vernalización este represor permanece silenciado por mecanismos epigenéticos en ausencia del frío permitiendo que las plantas florezcan en primavera (Crebillén 2014). En plantas modelo los mecanismos epigenéticos son mejor conocidos que en las no modelos, pero poco a poco vamos avanzando con trabajos experimentales en condiciones no controladas en plantas que no conocemos su genoma completo.

Un nuevo campo de epigenética ecológica podría complementar la epigenética molecular mediante el estudio de procesos epigenéticos en un contexto ecológico. Las preguntas actuales fundamentales en epigenética ecológica son: (i) ¿cuál es la interacción entre la variación natural genética y la variación epigenética?

(ii) ¿cuál es el alcance y la estructura de la variación epigenética en poblaciones naturales?, (iii) ¿cuál es la importancia relativa de la variación epigenética para determinar el resultado de las interacciones ecológicas?, (iv) ¿en qué medida pueden los factores ambientales bióticos y abióticos inducir cambios hereditarios en la variación epigenética?

## Conclusiones y Perspectivas

Las plantas, al ser organismos sésiles, no pueden adaptarse conductualmente o migrar al instante, por lo que las respuestas epigenéticas dinámicas pueden ser particularmente cruciales para la supervivencia de las plantas en un entorno cambiante. Las variaciones epigenéticas, que permiten a las plantas adaptarse a los factores ambientales que cambian rápidamente, sirven como base para la selección natural y otros procesos evolutivos en las respectivas escalas de tiempo. Además, las variaciones epigenéticas suelen ser mayores que las genéticas como vemos en el caso de *Pinus pinea* o *Laguncularia racemosa*, especies, que muestran un nivel muy bajo de diversidad genética, casi indetectable, tienen una variación epigenética que permite discriminar entre individuos. Sabemos que los mecanismos epigenéticos pueden ser esenciales para múltiples procesos como pueden ser las interacciones de las plantas con otras plantas, con animales u hongos y que por tanto requieren una mayor exploración. Es necesario saber qué tan importante es la variación epigenética y la herencia epigenética en el mundo real. Para llegar a esta pregunta, sin embargo, es imperativo ubicar estos procesos en una perspectiva ecológica y estudiar sus causas y consecuencias en las poblaciones naturales. De los 393 trabajos científicos publicados desde el año 2000, 196 (49%) son trabajos empíricos en plantas no modelos debido a la complejidad de las técnicas y de los análisis para abordar las preguntas planteadas de manera específica en cualquier organismo. A pesar de que hay evidencia de que la variación hereditaria en los rasgos ecológicamente relevantes se puede generar a través de un conjunto de mecanismos epigenéticos, incluso en ausencia de variación genética. Ya que la epigenética tiene efectos durante todo el ciclo de vida de las plantas con una repercusión tan destacada como puede ser la morfología floral, el porte de los individuos e incluso existe variación a nivel intraindividual es esencial seguir avanzando en el estudio de estos procesos de manera encarecida, ya que aún nos queda mucho por comprender sobre el funcionamiento y las consecuencias de estos mecanismos.

## Agradecimientos

Agradecemos la invitación de la editora Cristina García a participar en este monográfico, a Encarnación Rubio Pérez por su ayuda y colaboración en el trabajo de campo, y a los dos revisores anónimos por su ayuda y mejora del manuscrito. El trabajo ha sido inspirado y parcialmente financiado por un proyecto del Plan Nacional del Ministerio Economía y Competitividad (CGL2011-23721). CPF tuvo por una beca predoctoral del Ministerio de Economía y Competitividad (BES-2012-055103) y disfruta en la actualidad de una beca postdoctoral del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y la Universidad Nacional de Córdoba (Argentina).

## Referencias

- Ainouche, M.L., Fortune, P.M., Salmon, A., Parisod, C., Grandbastien, M.A., Fukunaga, K., Ricou, M., Misset, M.T. 2009. Hybridization, polyploidy and invasion: lessons from *Spartina* (Poaceae). *Biological Invasions* 11:1159-1173.
- Albaladejo, R.G., Sebastiani, F., Aparicio, A., Buinamici, A., González-Martínez, G.C., Vendramin, G.G. 2008. Development and characterization of eight polymorphic microsatellite loci from *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). *Molecular Ecology Resources* 8:904-906.
- Albaladejo, R.G., González-Martínez, S.C., Heuertz, M., Vendramin, G.G., Aparicio, A. 2009. Spatiotemporal mating pattern variation in a wind-pollinated Mediterranean shrub. *Molecular Ecology* 18:5195-5206.

- Angers, B., Castonguay, E., Massicotte, R. 2010. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: How to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *Molecular Ecology* 19:1283-1295.
- Ashapkin, V.V., Kutueva, L.I., Vanyushin, B.F. 2016. Epigenetic variability in plants: heritability, adaptability, evolutionary significance. *Russian Journal of Plant Physiology* 63:181-192.
- Balao, F., Paun O., Alonso C. 2017. Uncovering the contribution of epigenetics to plant phenotypic variation in Mediterranean ecosystems. *Plant Biology* 20:38-49.
- Bastow, R., Mylne, J.S., Lister, C., Lippman, Z., Martienssen, R.A., Dean, C. 2004. Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature* 427:164-167.
- Berger, S.L. 2007. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature* 447:407-412.
- Bossdorf, O., Richards, C.L., Pigliucci, M. 2008. Epigenetics for ecologists. *Ecology Letters* 11:106-115.
- Bossdorf, O., Arcuri, D., Richards, C.L., Pigliucci, M. 2010. Experimental alteration of DNA methylation affects the phenotypic plasticity of ecologically relevant traits in *Arabidopsis thaliana*. *Evolutionary Ecology* 24:541-553.
- Burggren, W. 2016. Epigenetic inheritance and its role in evolutionary biology: re-evaluation and new perspectives. *Biology* 5:24.
- Colot, V., Rossignol, J.L. 1999. Eukaryotic DNA methylation as an evolutionary device. *BioEssays* 21:402-411.
- Crevillén, P., Yang, H., Cui, X., Greeff, C., Trick, M., Qiu, Q., Cao, X., Dean, C. 2014. Epigenetic reprogramming that prevents transgenerational inheritance of the vernalized state. *Nature* 515:587-590.
- Cubas, P., Vincent, C., Coen, E. 1999. An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. *Nature* 401:157-161.
- Downen, R.H., Pelizzola, M., Schmitz, R.J., Lister R., Downen J.M., Nery J.R., Dixon J.E., Ecker J.R. 2012. Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 109:2183-2191.
- Ellstrand, N.C., Schierenbeck, K.A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97:7043-7050.
- Fallour, D., Fady, B., Lefevre, F. 1997. Study on isozyme variation in *Pinus pinea* L.: evidence for low polymorphism. *Silvae Genetica* 4:201-207.
- Fieldes, M.A., Amyot, L.M. 1999. Epigenetic control of early flowering in flax lines induced by 5-azacytidine applied to germinating seed. *Journal of Heredity* 90:199-206.
- Finnegan, E.J., Peacock, W.J., Dennis, E.S. 1996. Reduced DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* results in abnormal plant development. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93:8449-8454.
- Flatscher, R., Frajman, B., Schonswetter, P., Paun, O. 2012. Environmental heterogeneity and phenotypic divergence: can heritable epigenetic variation aid speciation? *Genetics Research International* 698421.
- Grant-Downton, R.T., Dickinson, H.G. 2005. Epigenetics and its implications for plant biology. The epigenetic network in plants. *Annals of Botany* 96:1143-1164.
- Gustafsson, A. 1979. *Linnaeus peloria*: the history of a monster. *Theoretical and Applied Genetics* 54:241-248.
- Halfmann, R., Lindquist, S. 2010. Epigenetics in the extreme: prions and the inheritance of environmentally acquired traits. *Science* 330:629-632.
- He, Y.H., Amasino, R.M. 2005. Role of chromatin modification in flowering-time control. *Trends Plant Sciences* 10:30-35.
- Herrera, C.M., Bazaga, P. 2010. Epigenetic differentiation and relationship to adaptive genetic divergence in discrete populations of the violet *Viola cazortensis*. *New Phytologist* 187: 867-876.
- Herrera, C.M., Bazaga, P. 2011. Untangling individual variation in natural populations: ecological, genetic and epigenetic correlates of long-term inequality in herbivory. *Molecular Ecology* 20: 1675-1688.
- Herrera, C.M., Bazaga, P. 2013. Epigenetic correlates of plant phenotypic plasticity: DNA methylation differs between prickly and nonprickly leaves in heterophyllous *Ilex aquifolium* (Aquifoliaceae) trees. *Botanical Journal of the Linnean Society* 171:441-452.
- Jablonka, E., Lamb, M. 1998. Epigenetic inheritance in evolution. *Journal of Evolutionary Biology* 11:159-183.
- Jablonka, E., Lamb, M.J. 2005. Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life. MIT Press, Cambridge, MA, Estados Unidos.
- Jablonka, E., Raz, G. 2009. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *The Quarterly Review of Biology* 84:131-176.
- Jones, P.A. 1985. Altering gene expression with 5-azacytidine. *Cell* 40:485-486.
- Kim, J.M., Sasaki, T., Ueda, M., Sako, K., Seki, M. 2015. Chromatin changes in response to drought, salinity, heat, and cold stresses in plants. *Frontiers in Plant Science* 6:114.
- Lira-Medeiros, C.F., Parisod, C., Fernandes, R.A., Mata, C.S., Cardoso, M.A., Ferreira, P.C. 2010. Epigenetic variation in mangrove plants occurring in contrasting natural environment. *PLoS One* 5:e10326
- Liu, B., Wendel, J.F. 2003. Epigenetic phenomena and the evolution of plant allopolyploids. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29:365-379.
- Martienssen, R.A., Colot, V. 2001. DNA Methylation and Epigenetic Inheritance in Plants and Filamentous Fungi. *Science* 293:1070-1073.
- Masuelli, R.W., Marfil, C.F. 2011. Variabilidad epigenética en plantas y evolución. *Journal of Basic and Applied Genetics* 22:1-8.
- Meyer, P. 2015. Epigenetic variation and environmental change. *Journal of Experimental Botany* 66:3541-3548.
- Müller, G.B. 2010. Epigenetic innovation. En: Pigliucci, M., Müller G.B. (Eds), *Evolution the extended synthesis*, pp. 307-328. The MIT Press, Cambridge, MA, Estados Unidos.
- Parejo-Farnés C., Robledo-Arnuncio J.J., Albaladejo R.G., Rubio-Pérez E., Aparicio A. 2017. Effects of habitat fragmentation on parental correlations in the seed rain of a bird-dispersed species. *Tree Genetics and Genomes* 13:17.
- Peakall, R., Smouse, P.E. 2006. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539.
- Pinzauti, F., Sebastiani, F., Budde, K.B., Fady, B., González-Martínez, S.C., Vendramin, G.G. 2012. Nuclear microsatellites for *Pinus pinea* (Pinaceae), a genetically depauperate tree, and their transferability to *P. halepensis*. *American Journal of Botany* 99:362-365.
- Rapp, R.A., Wendel, J.F. 2005. Epigenetics and plant evolution. *New Phytologist* 168:81-91.
- Richards, E.J. 2006. Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics* 7:395-401.
- Richards, E.J. 2011. Natural epigenetic variation in plant species: a view from the field. *Current Opinion in Plant Biology* 14:204-209.
- Richards, C.L., Alonso, C., Becker, C., Bossdorf, O., Bucher, E., Colomé-Tatché, M., Durka, W., Engelhardt, J., Gaspar, B., Gogol-Döring, A et al. 2017. Ecological plant epigenetics: evidence from model and non-model species, and the way forward. *Ecology Letters* 20:1576-1590.
- Robertson, M., Richards, C. 2015. Non-genetic inheritance in evolutionary theory- the importance of plant studies. *Non-Genetic Inheritance* 2:3-11.
- Sáez-Laguna, E., Guevara, M.Á., Díaz, L.M., Sánchez-Gómez, D., Collada, C., Aranda, I., Cervera, M.T. 2014. Epigenetic variability in the genetically uniform forest tree species *Pinus pinea*. L. *PLOS ONE* 9 e103145.
- Salmon, A., Ainouche, M., Wendel, J. 2005. Genetic and epigenetic consequences of recent hybridization and polyploidy in *Spartina* (Poaceae). *Molecular Ecology* 14:1163-1175.
- Schulz, B., Eckstein, R.L., Durka, W. 2014. Epigenetic variation reflects dynamic habitat conditions in a rare floodplain herb. *Molecular Ecology* 23:3523-3537.
- Tatra, G.S., Miranda, J., Chinnappa, C.C., Reid, D.M. 2000. Effect of light quality and 5-azacytidine on genomic methylation and stem elongation in two ecotypes of *Stellaria longipes*. *Physiologia Plantarum* 109:313-321.
- Turner, B.M. 2009. Epigenetic responses to environmental change and their evolutionary implications. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 364:3403-3418.
- Vergeer, P., Wagemaker, N., Ouborg, J. 2012. Evidence for an epigenetic role in inbreeding depression. *Biology Letters* 8:798-801.
- Verhoeven, K.J.F., Jansen, J.J., van Dijk, P.J., Biere, A. 2010. Stress-induced DNA methylation changes and their heritability in asexual dandelions. *New Phytologist* 185:1108-1118.
- Wassenegger, M. 2005. The roll of the RNAi machinery in heterochromatin formation. *Cell* 122:13-16.
- Whitelaw, N.C., Whitelaw, E. 2006. How lifetimes shape epigenotype within and across generations. *Human Molecular Genetics* 15:131-137.
- Zhang, Y.-Y., Fischer, M., Colot, V., Bossdorf, O. 2013. Epigenetic variation creates potential for evolution of plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 197: 314-322.