

Dr. Markus Kuhlmann
AG Heterosis
Abt. Molekulare Genetik
21.06.2024



Epigenetik bei Pflanzen - Können epigenetische Mechanismen Pflanzen bei schnellen Klimaänderungen helfen?



Abschlussstagung des DBU-Projekts
„Handlungsstrategien zur Klimaanpassung – Erfahrung der staatlichen Gartenverwaltung“
Stiftung „Fürst-Prückler-Park Bad Muskau“, 20.-22. Juni 2024

Verfügbarkeit von Wasser

CO₂

Temperatur



Veränderung von
Chemischen Abläufen

Veränderung von
Lebensbedingungen

Veränderung von
Ökosystemen

Problem: Schnelle Änderungen des Klimas

- Rasante Änderung der Ökosysteme

Folgen sind häufig nicht vorhersehbaren,
die Auswirkungen sind aber mittlerweile individuell spürbar...



Analyse von Pflanzen unter künftigen Klimabedingungen

Phenosphere @ IPK



Projektion und Programmierung künftiger Wetterbedingungen, (CO₂, Temperatur, Licht und Wind um das Pflanzenwachstum, (unterschiedlicher Sorten, Arten) jetzt schon analysieren zu können.

Rhizotron-Anlage



Container-Phenokran-Anlage

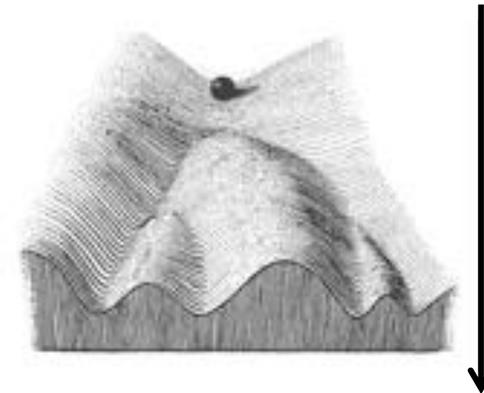


Epigenetik bei Pflanzen - Können epigenetische Mechanismen Pflanzen bei schnellen Klimaänderungen helfen?

Epigenetik:

1942 Conrad Waddington:
„ the interaction of genes with their environment,
which bring the phenotype into being“

Aktuelle Definition von Epigenetik:
“The study of mitotically and/or meiotically heritable
changes in gene function that cannot be explained
by changes in the DNA sequence.” (Riggs et al. 1996)



Waddington, C. H. *The strategy of the genes. A discussion of some aspects of theoretical biology. With an appendix by H. Kacser.* London: George Allen & Unwin, Ltd., (1957).

Epigenetische Mechanismen

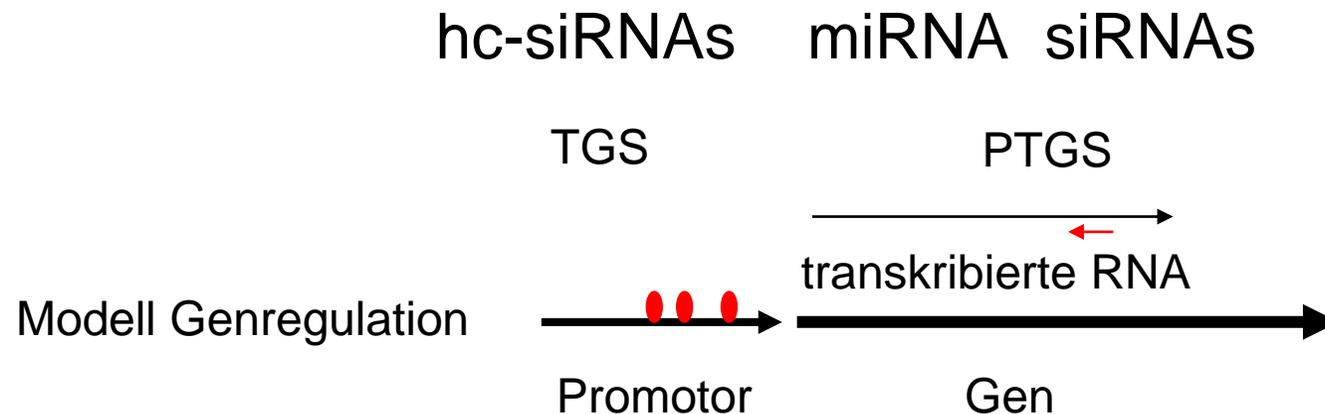
Zentraler Mechanismus:

Genstilllegung durch

PTGS - Posttranskriptionelle Genstilllegung
und

TGS - Transcriptionelle Genestillegung

- kleine regulatorische RNAs:

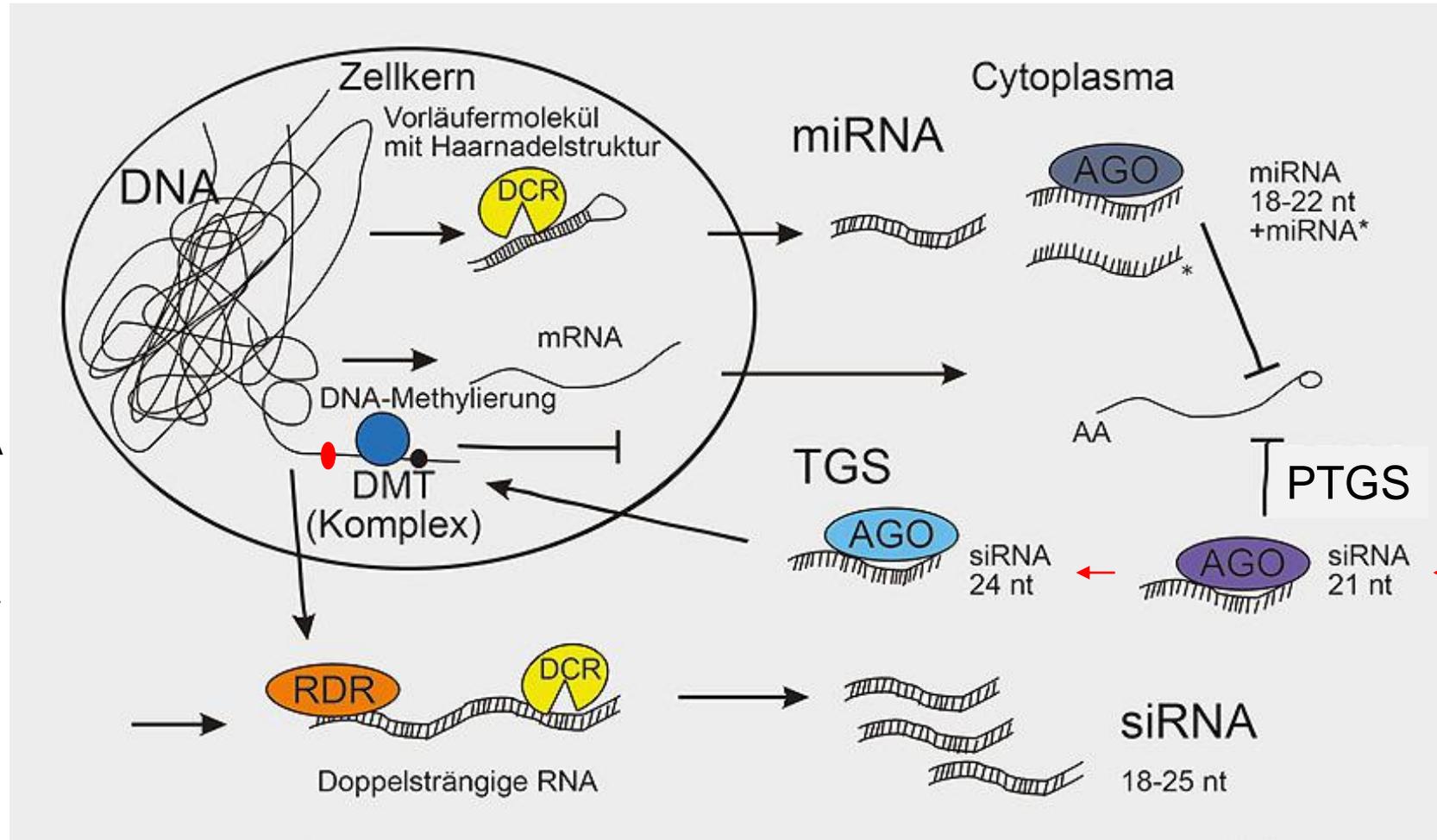


Zuordnung der kleinen regulatorischen RNAs gemäß ihrer Funktion

miRNA Gene

Repetitive DNA
Retroelemente
Gene:
Aberrante RNA

Viren



← miRNA
(microRNA)

← siRNA
(short interfering
RNA)

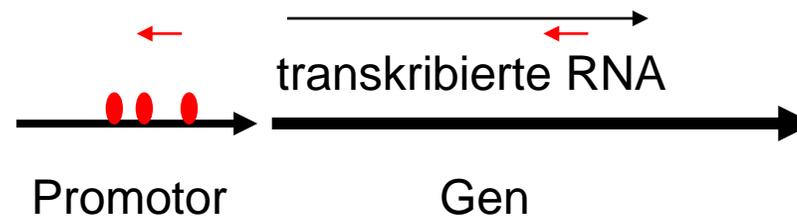
← hc-siRNA
(hetero-
chromatische
siRNA)

TGS – transcriptional gene silencing
PTGS – post transcriptional gene silencing

Modifiziert nach Kuhlmann, Biologie in unserer Zeit 2019, und Kuhlmann & Nellen, Gen, sei still!, RNAinterferenz, 2004

Zuordnung der kleinen regulatorischen RNAs gemäß ihrer Funktion

- si (short interfering) RNA - 21 mere => Posttranskriptionelle Genstilllegung ←
- mi (micro) RNA 18-28 mere => Posttranskriptionelle Genstilllegung ←
- heterochromatische RNA - 24 mere => Transkriptionelle Genstilllegung durch DNA Methylierung ●



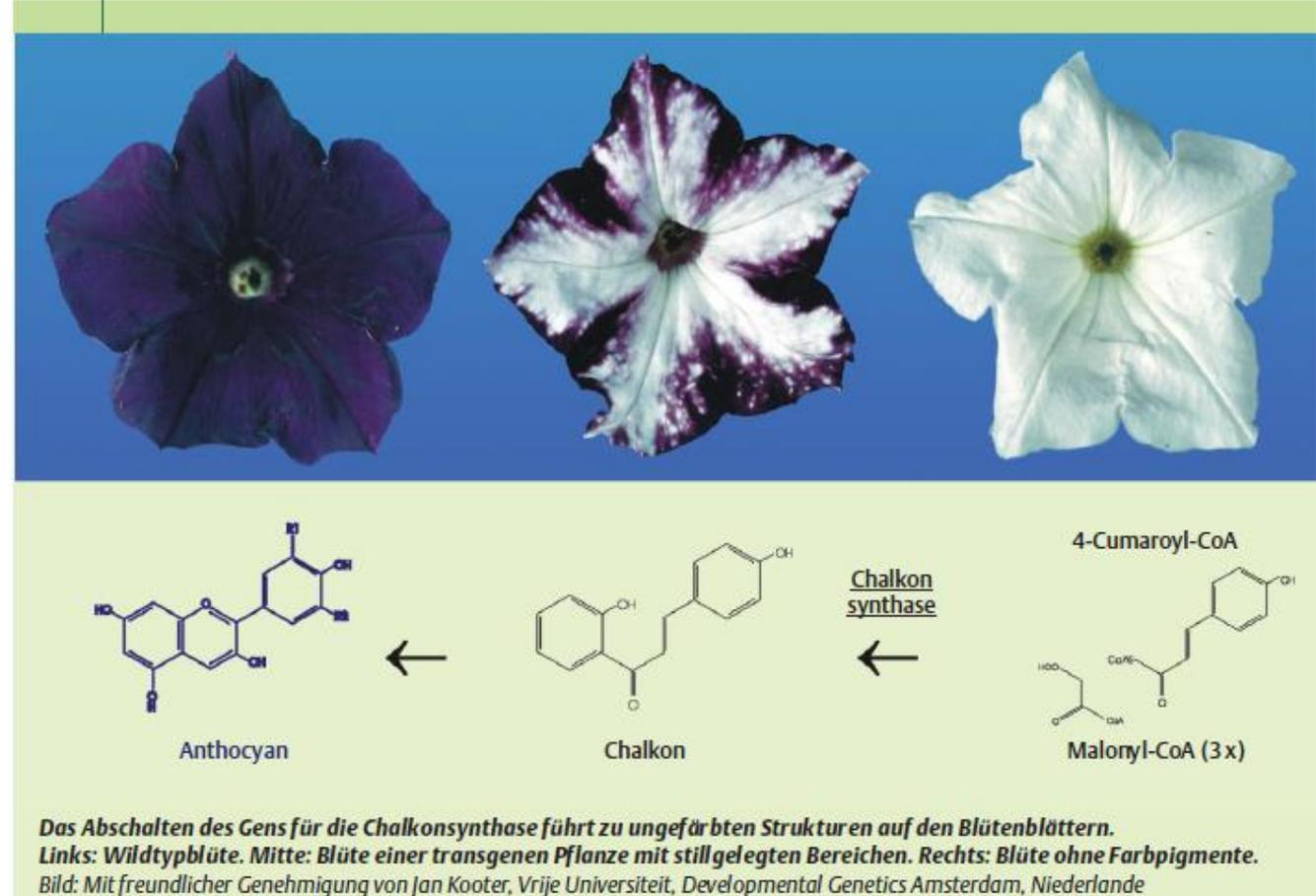
siRNAs (short interfering RNAs)

siRNAs (21 Nukleotid lange doppelsträngige RNAs)
sind Produkte der Genstilllegung
und befördern den Mechanismus der Genstilllegung

Beispiel: Cosuppression in Petunien
(Rich Jorgensen, 1990)

Hohe Temperaturen und hohe Lichtintensität
verstärken diesen Mechanismus
über eine verstärkte Produktion der siRNAs

ABB. 1 | COSUPPRESSION IN DER PETUNIE



miRNAs (mircoRNAs)

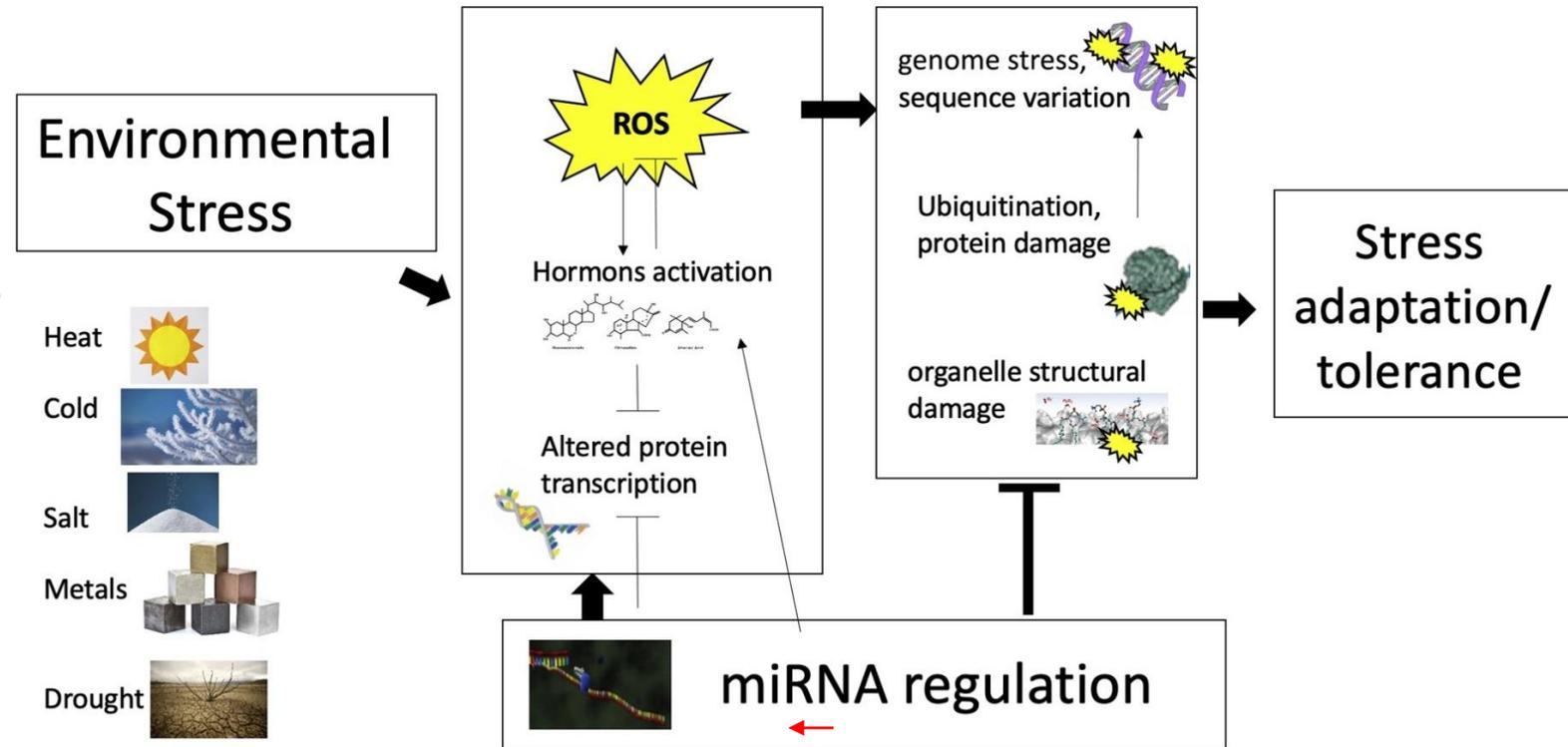
Evolutionar „stabilisierte“ siRNA,

-codiert durch miRNA Gene,

-die in ihrer Sequenz komplementäre
Transkripte ihrer Zielgene inaktivieren.

„Reagieren“ auf Umweltbedingungen

und können durch diesen
Regulationsmechanismus
zu Stress und Toleranz-
Mechanismen beitragen.



DNA Methylierung –

eine epigenetische Modifikation, die generell mit Gen-Inaktivierung und Heterochromatin korreliert

hc-siRNA

heterochromatische siRNA

Heterochromatin

- inaktiv

Euchromatin

- aktiv

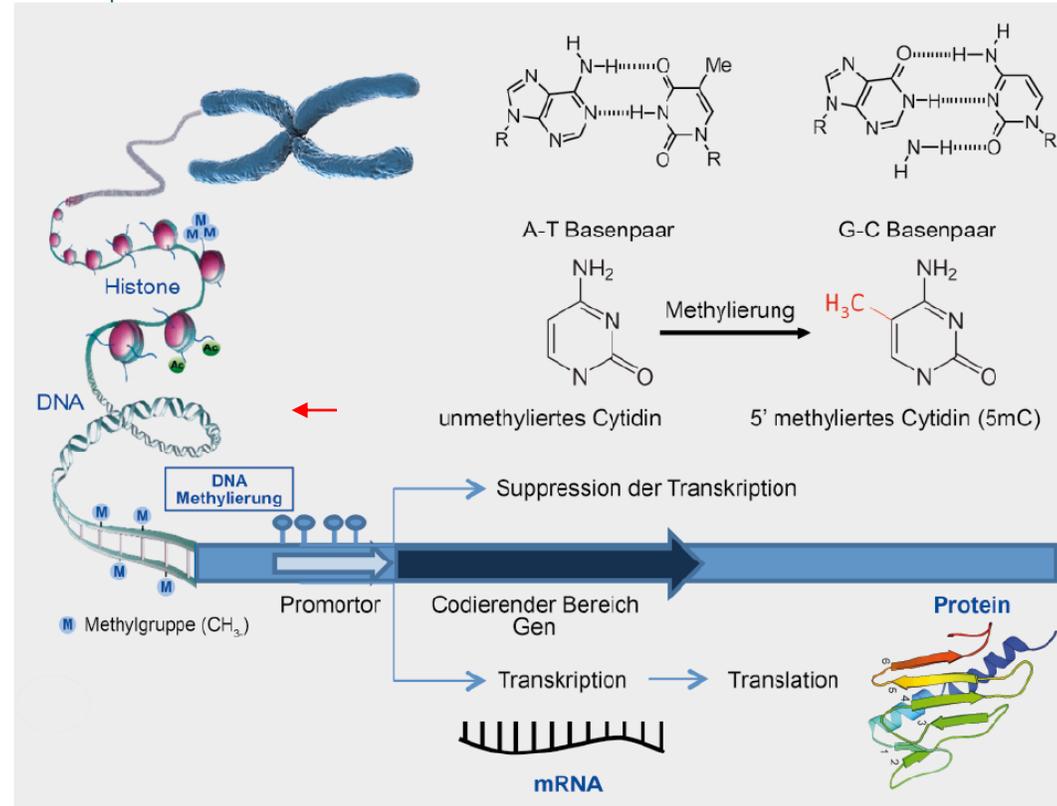
Lösen DNA Methylierung

aus und verursachen TGS

(Transkriptionelle Genstilllegung)

das auch mit Histonmodifikationen verknüpft ist.

ABB. 2 | DNA-METHYLIERUNG



Die genomische Information liegt in Eukaryoten in Form der DNA-Sequenz gespeichert im Zellkern vor. Das DNA-Molekül ist um Histone (Kernproteine) gewunden, mit weiteren Proteinen „dekoriert“ und als Chromosom organisiert. Die kodierenden Bereiche können in mRNA abgeschrieben (transkribiert) und in Proteine umgesetzt (translatiert) werden. Als DNA-Methylierung wird das enzymatische Ankoppeln einer Methylgruppe an das fünfte Kohlenstoffatom im Ring des Nukleosids Cytidin bzw. der Nukleinbase Cytosin bezeichnet. Es beeinflusst nicht die Basenpaarung der DNA (A-T und G-C), kann aber die Organisationsstruktur der DNA beeinflussen. Darstellung des Chromosoms: Fotolia.

Aus:
Das 5. Element
Kuhlmann 2019
Biologie in unserer Zeit

Beispiel für transgen induziertes TGS

Aus der Grundlagenforschung stammte die Idee durch die Überexpression dunkelrote Petunien zu erzeugen.

- Heraus kam die Entdeckung das DNA-Methylierung Genaktivität unterdrücken kann (1994).



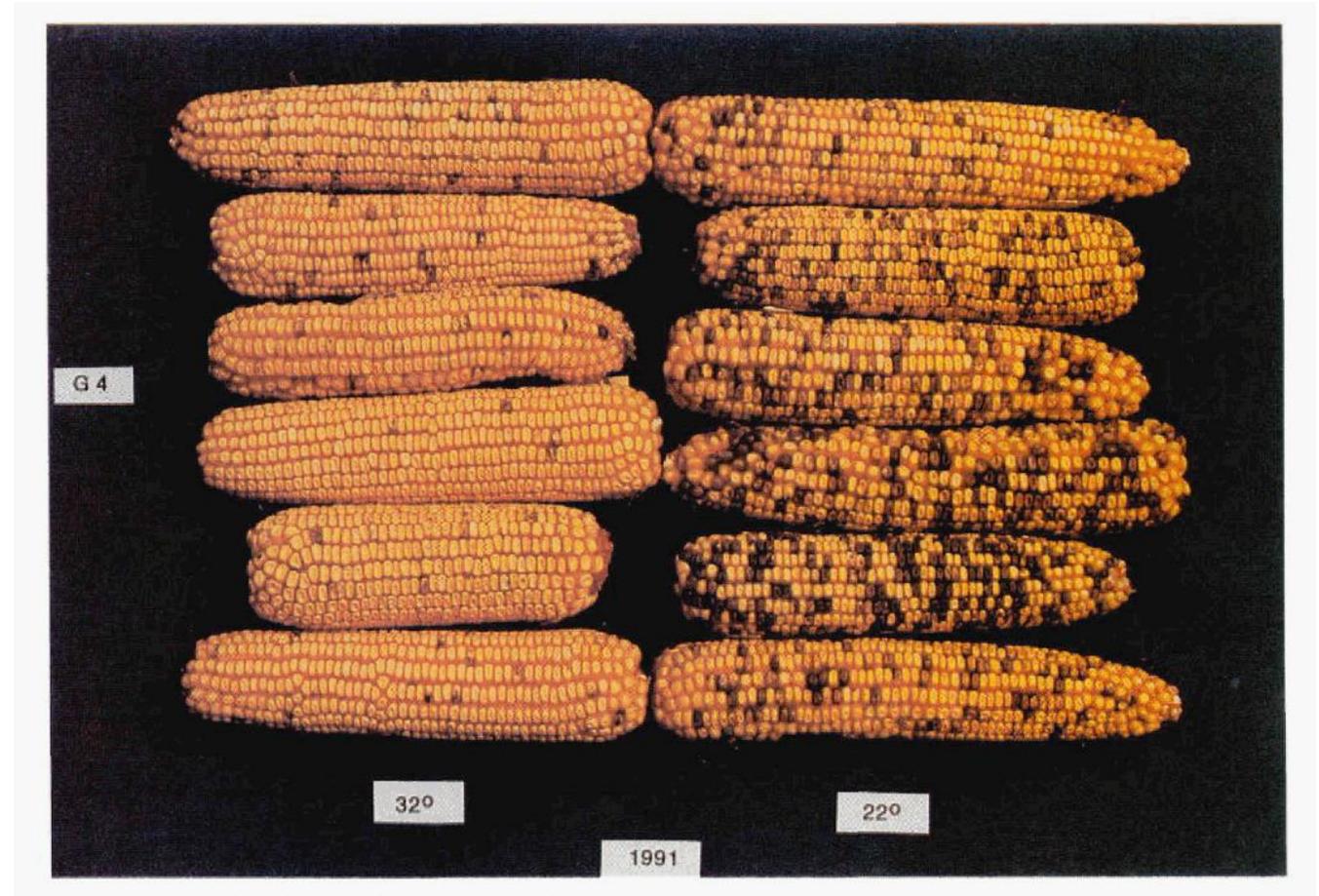
ABB. 1 Petunien mit transkriptionell stillgelegtem Dihydroflavonol-4-Reduktase-(DFR)-Gen. Das Enzym produziert einen dunklen lachsroten Blütenfarbstoff. In einer Einzelpflanze a) kann eine Stilllegung des Gens zu einer farblichen Segmentierung oder zur Ausbildung von hellen (stillgelegten, roter Pfeil) und dunkelroten Blüten (weißer Pfeil) führen. Auf dem Feld zeigte sich die Stabilität diese Effektes: b) Feld mit roten, nicht stillgelegten Blüten, c) Feld mit vorwiegend hellen Petunien-Blüten. Beide Felder bestehen aus genetisch identischen Pflanzen, vervielfältigt durch Stecklinge, und unterscheiden sich nur durch ihr DNA-Methylierungsmuster. Fotos: Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Peter Meyer (Leeds/England).

Beispiel: Paramutation in Mais

DNA Methylierung im Bereich des Promotors vom *R (red1)* Gene.

Licht und Temperatur kann die *R* Gene Aktivität ändern.

R Gen codiert für einen „Genschalter“ der die Anthocyanin Pigmentierung reguliert.



Test crosses showing environmental enhancement of paramutation (repression of pigment expression) that took place in the first 2 weeks of seedling development.

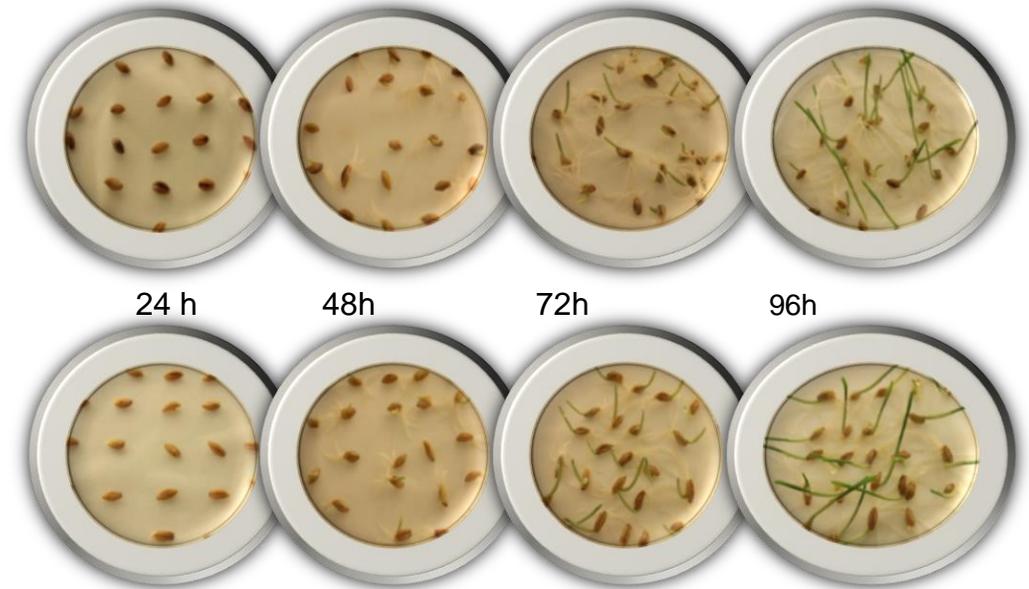
Trockenstress der Gersten-Mutterpflanze führt zu schnellerer Keimung der nächsten Generation



Kontrolle Stress

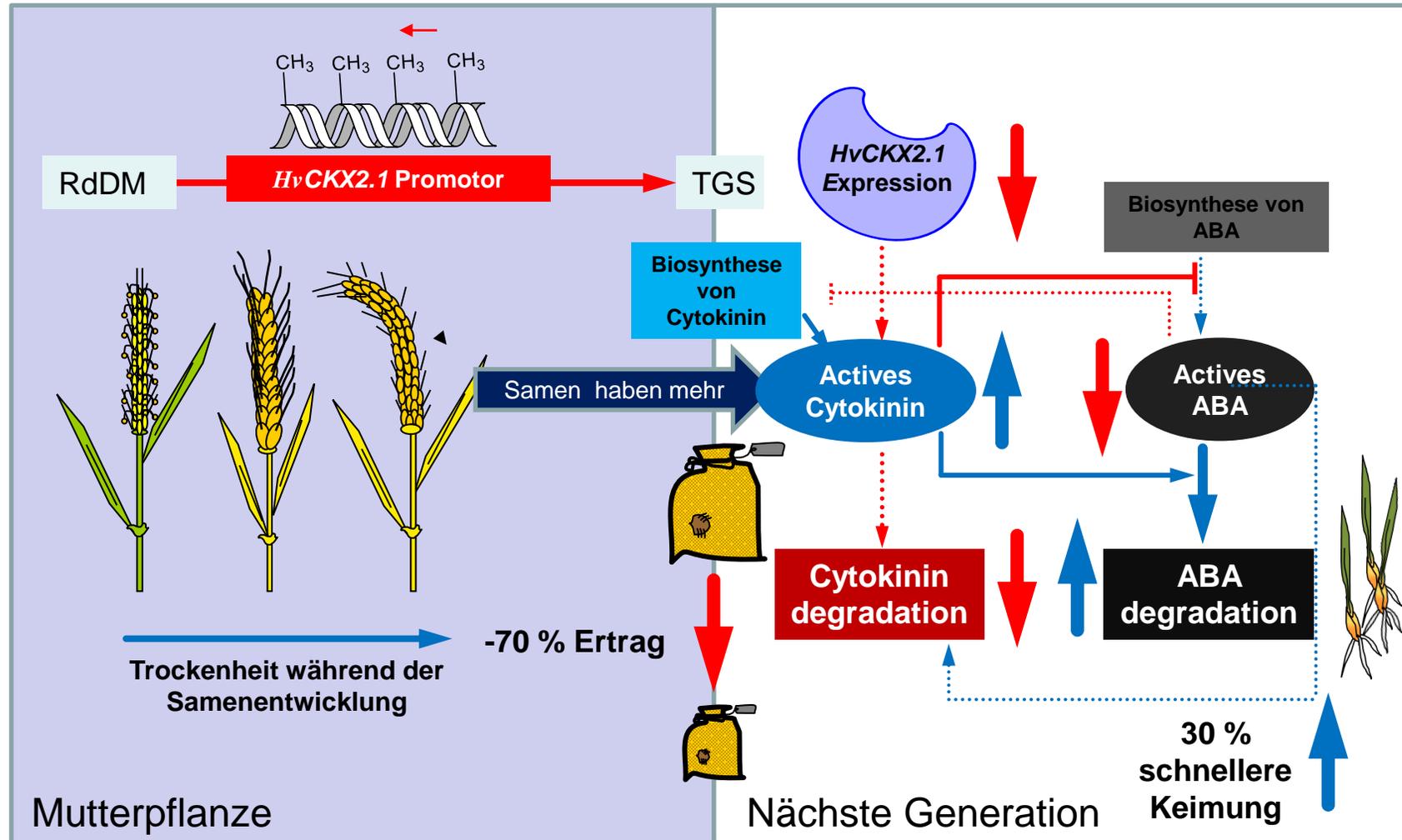
Sequenzierung von kleinen RNAs,
Analyse der DNA Methylierung
und Genaktivität, sowie Hormone

Kontrolle



Stress

Trockenstress der Gersten-Mutterpflanze führt zu schnellerer Keimung der nächsten Generation



Schema: RNA-vermittelte DNA Methylierung (RNA-directed DNA Methylation, RdDM) des *HvCKX2.1* Promotorbereiches führt zu stabiler Transkriptioneller Genstilllegung (Transcriptional Gene Silencing, TGS). Eine verringerte Cytokinin-degradation im Samen beschleunigt die Keimung.

Verändert nach <https://doi.org/10.3390/epigenomes1020009>, Surdonja et al., 2017

Epigenetik bei Pflanzen - Können epigenetische Mechanismen Pflanzen bei schnellen Klimaänderungen helfen?

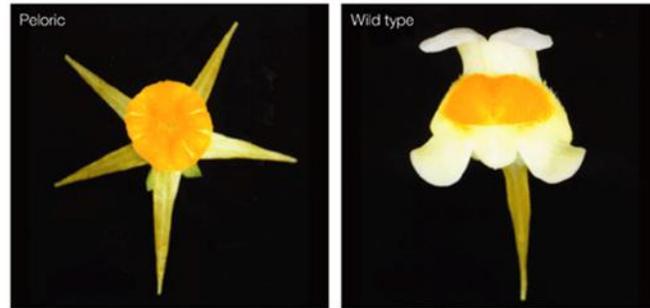
- Epigenetische Mechanismen haben sich evolutionär in Pflanzen zur Genregulation entwickelt. Sie sind damit Teil von Stressantworten und Klimaänderungen können Auswirkungen auf diese Regulationsmechanismen besitzen:
 - Kleine RNAs entspringen repetitiver DNA, Retroelementen und auch Viren. miRNAs werden als regulatorische Elemente aus Genstrukturen prozessiert.
⇒ Transkripte mit homologen Bereichen (Zielgene) können stillgelegt werden (PTGS).
 - DNA Methylierung in regulatorischen Bereichen führt zur Inaktivierung von Genen.
⇒ Gene können inaktiviert werden (TGS)
- ⇒ Veränderung der Umweltbedingungen kann einen Einfluss auf diese Mechanismen haben:
Bindung und Produktion der kleinen RNAs kann verändert werden
Neue Bereiche im Genom die methyliert werden können
Demethylierung kann die Mutationshäufigkeit in bestimmten Genomregionen erhöhen

Sie tun das bereits...

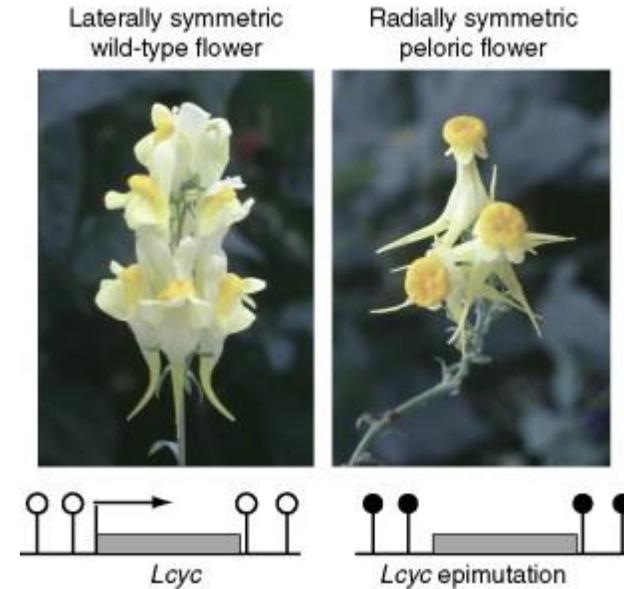
Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit



Leinkraut (*Linaria*) epimutation peloric (griech.: Monster)



Nature Reviews | Genetics

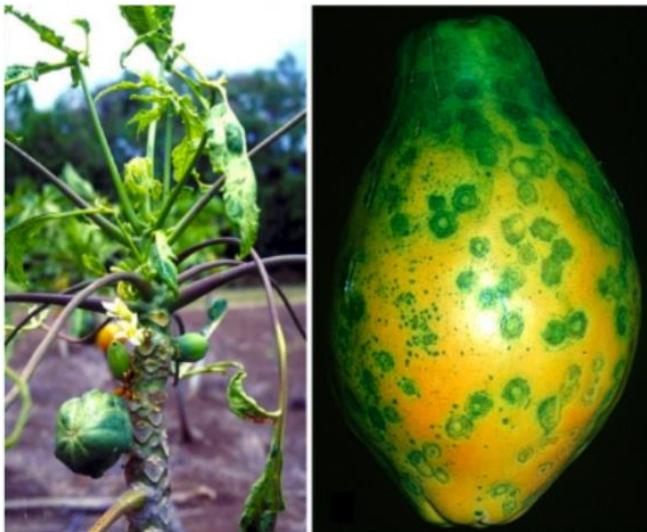


Betroffen ist wieder ein Transkriptionsfaktor
CYCLOIDEA, mit Einfluss auf die Blütensymmetrie.
(Entwicklungsstörung)

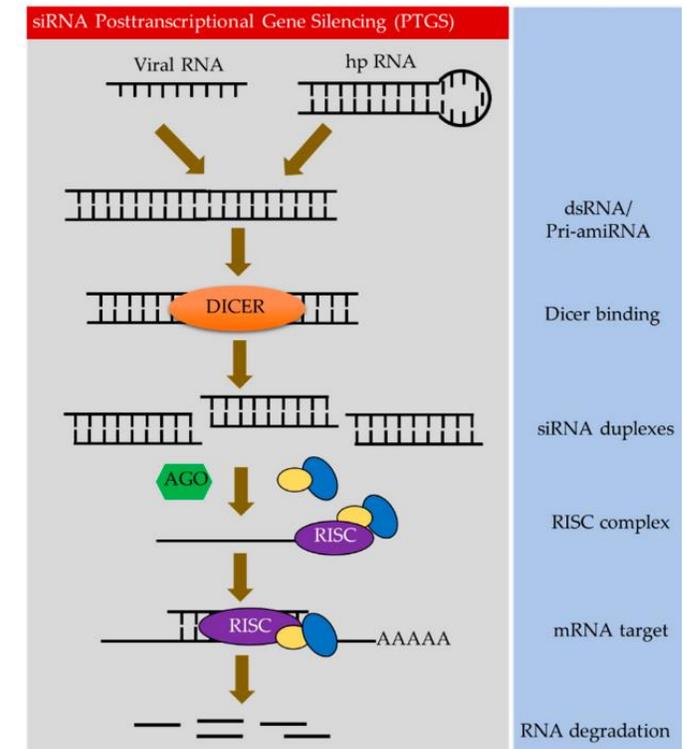
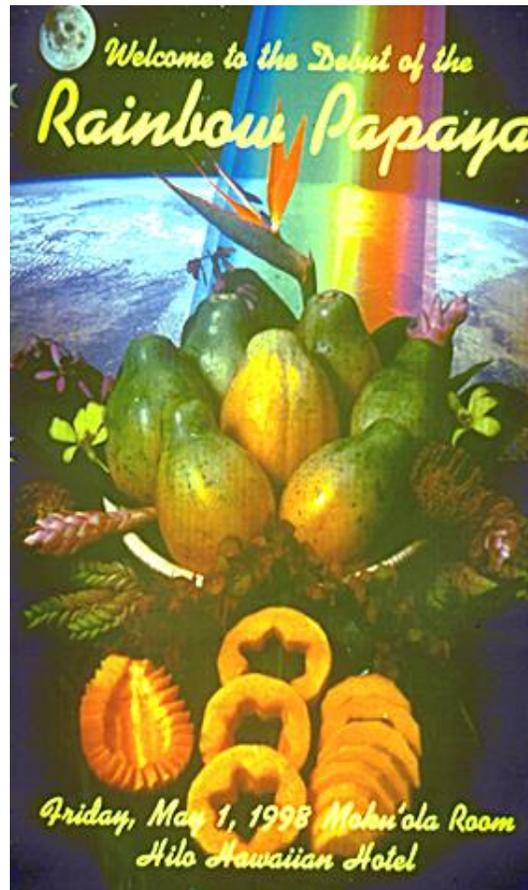
Können wir epigenetische Mechanismen nutzen um Pflanzen zu „verbessern“?

Aber auch wenn die Mechanismen und Zusammenhänge komplex sind, kann man epigenetische Mechanismen zum Schutz von Pflanzen verändern:

Beispiel:
Regenbogen-Papaya



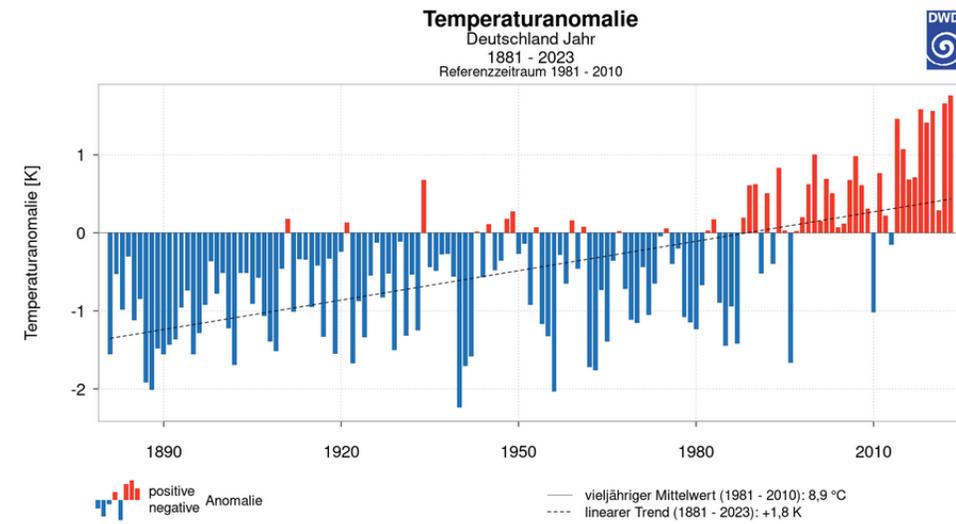
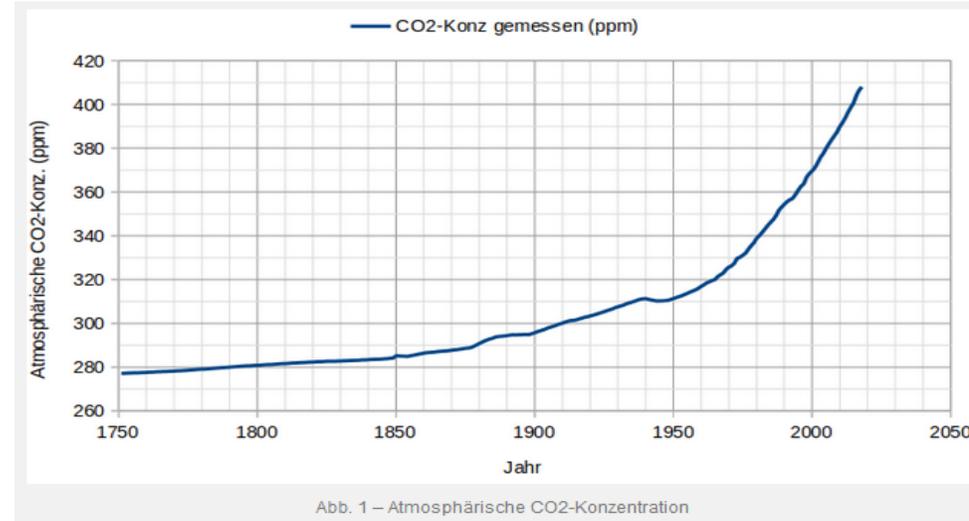
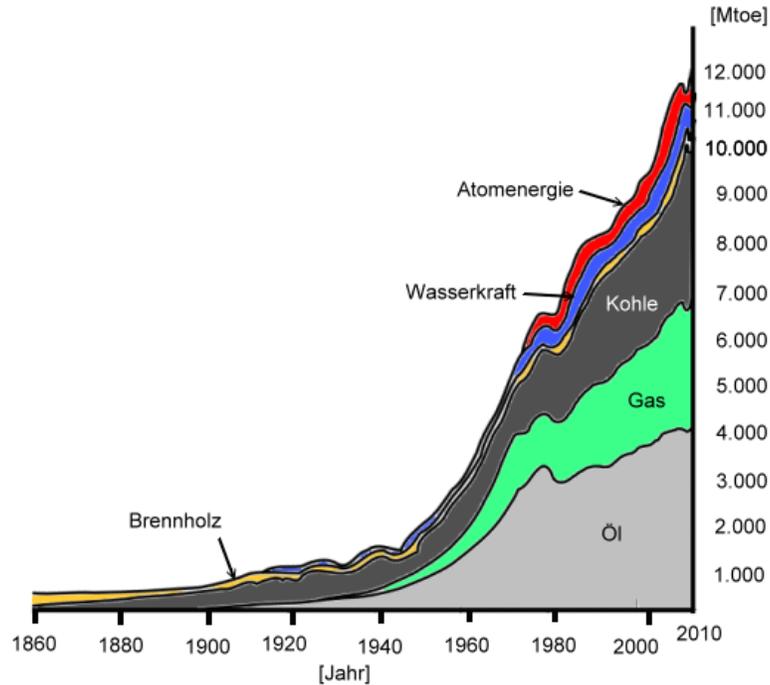
Papaya Infected with Papaya Ringspot Virus



Verändert nach Singh et al., 2019 <https://doi.org/10.3390/plants8100359>
RNAi-mediated resistance against Viruses in perennial fruit plants

Anthropogene Klimaveränderungen

Verbrauch fossiler Brennstoffe => CO₂ Konzentration in der Atmosphäre + Temperaturanstieg



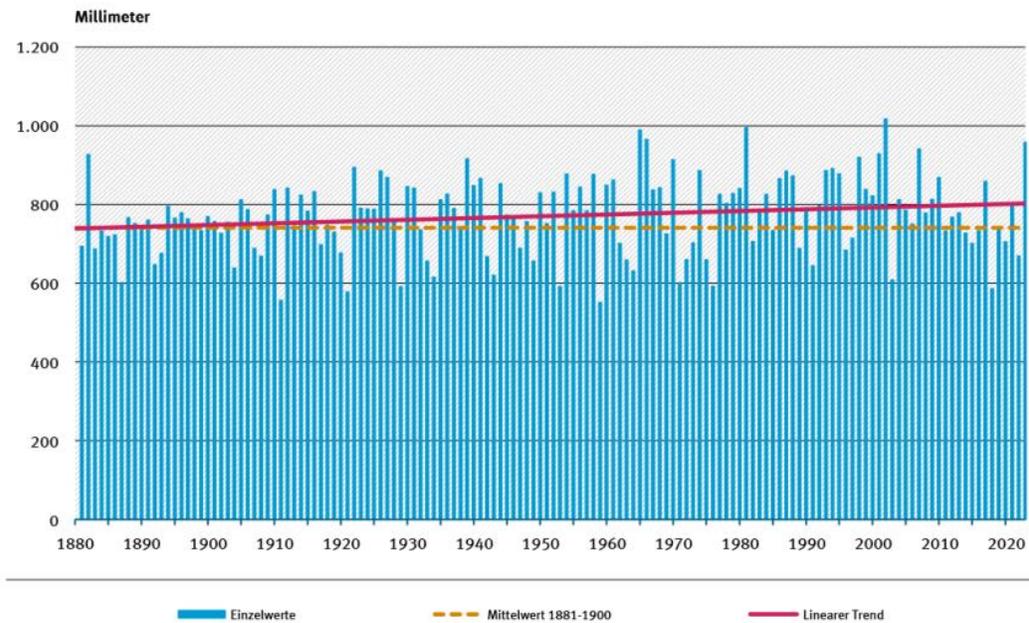
<https://www.dwd.de/DE/leistungen/zeitreihen/zeitreihen.html>

Climate Data Check

<https://www.oekosystem-erde.de/html/energiegeschichte.html>

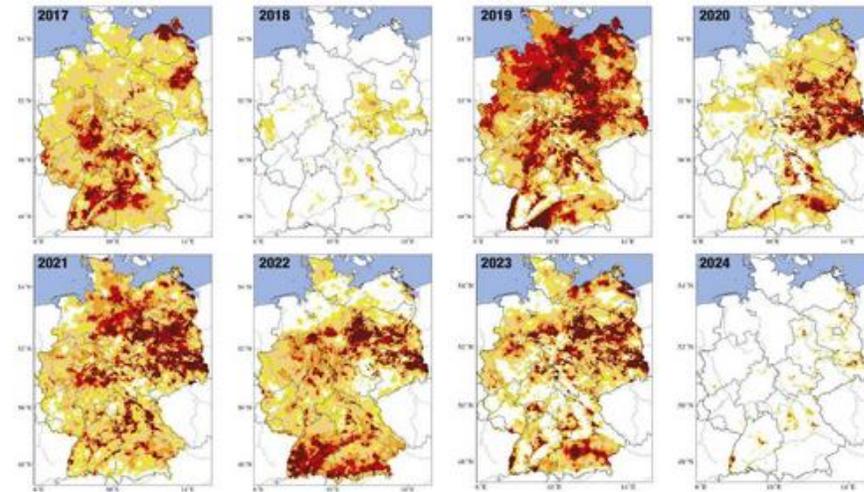
Faktor Wasser

Jährliche mittlere Niederschlagshöhe in Deutschland 1881 bis 2023



Quelle: Deutscher Wetterdienst (DWD), Mitteilung vom 15.03.2024

Verfügbarkeit von Wasser

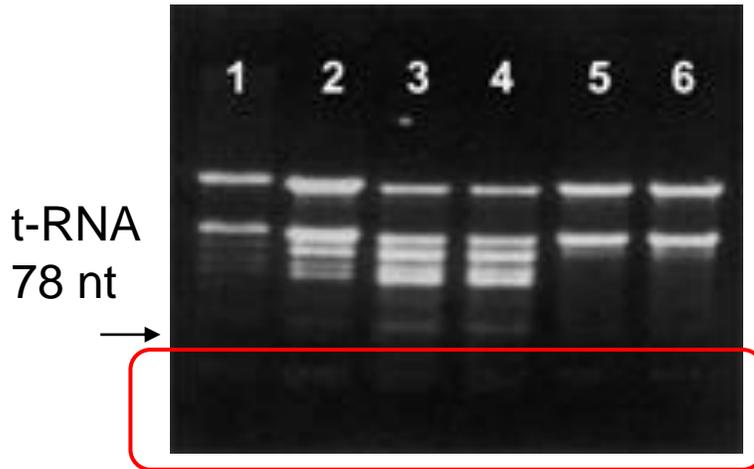


Dürre im Gesamtboden bis 1,80 m Tiefe in den Jahren 2017 bis 2024 (jeweils am 1. April) und im Jahr 2024 (6. März)

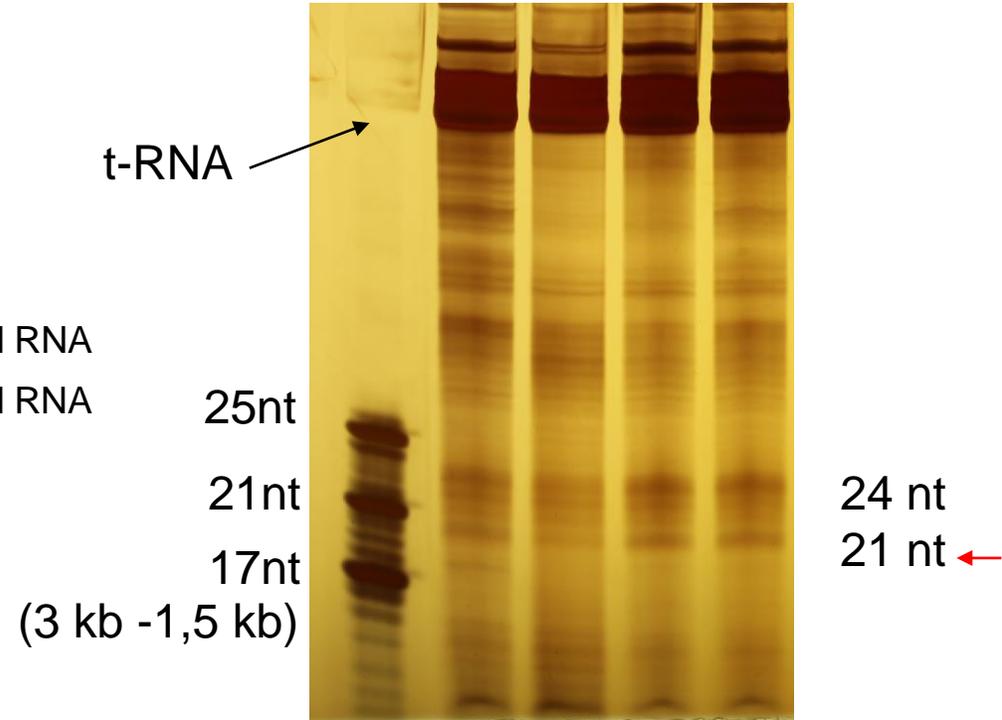
© UFZ-Dürremonitor, Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung

Was sind kleine regulatorische RNAs? Wie sehen die aus?

Pflanzliche Gesamt-RNA auf einem denaturierendem Agarose-Gel:



28 S ribosomal RNA
18 S ribosomal RNA



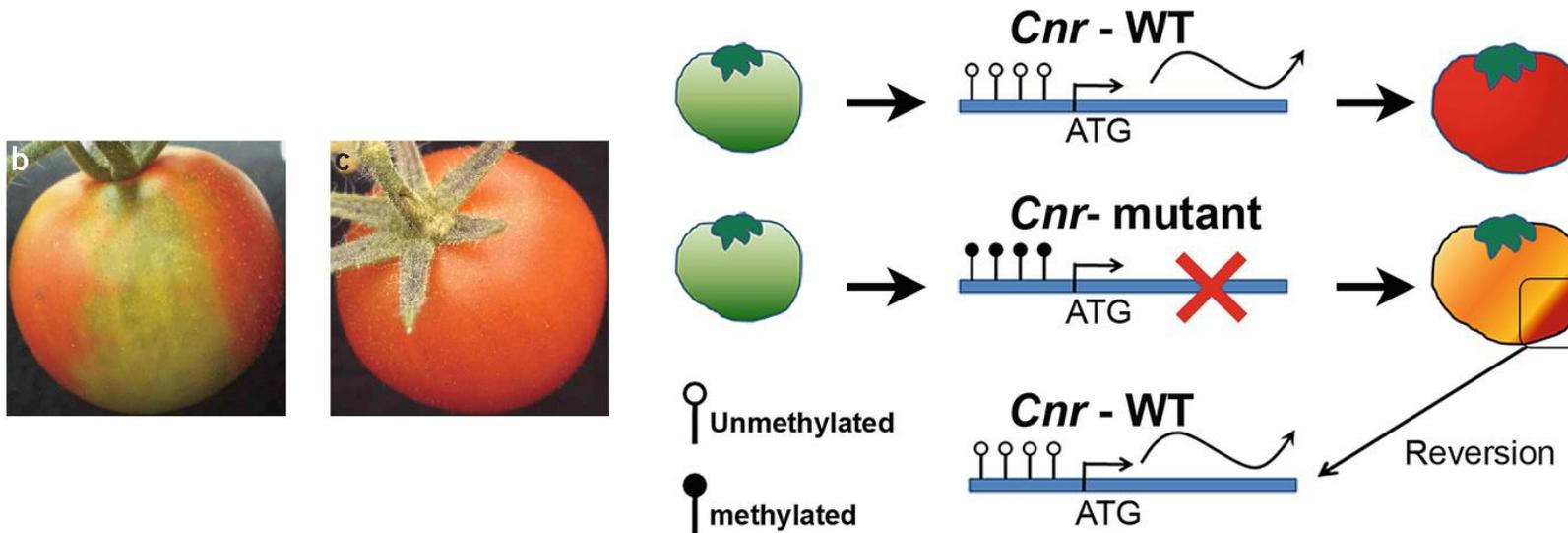
Alles was kleiner ist als die transfer-RNA wird als „kleine RNA“ bezeichnet.

PAGE-gel
+
Silberfärbung

Phänotyp

Gen

Unreife Segmente in Tomaten CNR (Colorless Non-Ripening)



SBP-box Transkriptionsfaktor

GP CONTROL



24 h



48h



72h



96h



GP STRESS

