

# **The function of *CUC1* in leaf shape diversity**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

**Ziliang Hu**

aus Shandong, China

Köln, 2021

Berichterstatter: Prof. Dr. Miltos Tsiantis  
Prof. Dr. Stanislav Kopriva  
Prüfungsvorsitzender: Prof. Dr. Siegfried Roth  
Beisitzender: Dr. Peter Huijser  
Tag der Disputation: 26. July. 2021

## Abstract

A fundamental question in biology is how trait diversity is generated. Current evidence suggests that diversification of key developmental regulators contributes to trait diversity. However, the mechanisms underlying gene regulatory network evolution that drives morphological diversity remain an open question. The enormous leaf shape variation of seed plants provides an excellent system to investigate this issue. *NAM/CUC3* (*NO APICAL MERISTEM/CUP-SHAPED COTYLEDON3*) genes encode NAC (*NO APICAL MERISTEM/ATAF1,2/CUP-SHAPED COTYLEDON*) transcription factors and have been proved to be conserved regulators in leaf margin dissection across eudicots. In this study, we show that species-specific expression of *ChCUC1* in developing leaves, which is caused by cis-regulatory divergence, contributes to leaf shape diversification between *C. hirsuta* and *A. thaliana*. Further evidence indicates an inverse relationship between the ability of *ChCUC1* and *ChCUC2* to modify leaf form and gene pleiotropy. To explore the mechanism through which *CUC1* regulates leaf shape diversity, we performed transcriptomic analysis, chromatin immunoprecipitation sequencing, and DNA affinity purification sequencing to identify downstream target genes of *ChCUC1*. We provided evidence that *ChCUC1* directly modifies the CUC2-PIN1-auxin module by activating the transcription of WAG kinases and *epidermal patterning factor-like protein 2* (*EPFL2*). ChWAG1 colocalizes with ChCUC1 in the leaflet boundary domains, and PID/WAGs are required for leaflet formation in *C. hirsuta* and serration formation in *A. thaliana*. *EPFL2* is expressed in a similar domain as *ChCUC1* in *C. hirsuta* compound developing leaves, and elevated *EPFL2* signaling in the *RCO* expression domain is sufficient to make *A. thaliana* leaves complex. In summary, our work helps to understand the molecular connections between the function of *CUC1*, PIN1 polarity, and auxin response regulation.

## Abstrakt

Eine grundlegende Frage in der Biologie ist, wie die Vielfältigen Merkmale erzeugt werden. Aktuelle Erkenntnisse deuten darauf hin, dass eine Veränderung der wichtigsten Regulatoren von Entwicklungsprozessen zur Vielfalt der existierenden Merkmale beiträgt. Die Mechanismen, die der Evolution dieser Genregulatorischen Netzwerke zugrunde liegen und die morphologische Vielfalt antreiben, bleiben jedoch offen. Die enorme Variation in Blattformen von Samenpflanzen bietet ein hervorragendes System zur Untersuchung dieses Problems. *NAM/CUC3*-Gene (*NO APICAL MERISTEM/CUP-SHAPED COTYLEDON3*) codieren NAC (*NO APICAL MERISTEM/ATAF1,2/CUP-SHAPED COTYLEDON*)-Transkriptionsfaktoren bei denen gezeigt wurde, dass ihre Funktion als Regulatoren der Entwicklung von gefiederten Blatträndern in Eudicotyledonen konserviert ist. In dieser Studie zeigen wir, dass die artspezifische Expression von *ChCUC1* in sich entwickelnden Blättern, die durch cis-regulatorische Divergenz verursacht wird, zur Diversifizierung der Blattform zwischen *C. hirsuta* und *A. thaliana* beiträgt. Weitere Ergebnisse deuten auf eine umgekehrte Beziehung zwischen der Fähigkeit von *ChCUC1* und *ChCUC2* hin, die Blattform und die Genpleiotropie zu modifizieren. Um den Mechanismus zu untersuchen, durch den *CUC1* die Diversität der verschiedenen Blattformen reguliert und um nachgeschaltete Zielgene von *ChCUC1* zu identifizieren, haben wir eine Transkriptomanalyse und Sequenzierungen von Chromatin-Immunpräzipitation sowie einer DNA-Affinitätsaufreinigung durchgeführt. Wir konnten zeigen, dass *ChCUC1* das CUC2-PIN1-Auxin-Modul direkt modifiziert, indem es die Transkription von WAG-Kinasen und *epidermal patterning factor-like protein 2 (EPFL2)* aktiviert. ChWAG1 kolokalisiert mit ChCUC1 in den Grenzdomänen der Seitenblätter, und PID/WAGs sind für die Bildung der Seitenblätter in *C. hirsuta* und die Ausbildung der Zahnung in den Blatträndern in *A. thaliana* erforderlich. EPFL2 kolokalisiert ebenfalls mit ChCUC1 in den sich entwickelnden Fiederblättern und eine erhöhte EPFL2-Signalübertragung in der RCO-Expressionsdomäne reicht aus, um die Blätter von *A. thaliana* komplexer zu machen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass unsere Arbeit hilft die molekularen Zusammenhänge zwischen der Funktion von *CUC1*, der PIN1-Polarität und der Regulation der Auxin Antwort zu verstehen.

## **Erklärung zur Dissertation**

gemäß der Promotionsordnung vom 12. März 2020

„Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne die Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten und nicht veröffentlichten Werken dem Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Ich versichere an Eides statt, dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie - abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen und eingebundenen Artikeln und Manuskripten - noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine Veröffentlichung der Dissertation vor Abschluss der Promotion nicht ohne Genehmigung des Promotionsausschusses vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Ordnung sind mir bekannt. Darüber hinaus erkläre ich hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten der Universität zu Köln gelesen und sie bei der Durchführung der Dissertation zugrundeliegenden Arbeiten und der schriftlich verfassten Dissertation beachtet habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen. Ich versichere, dass die eingereichte elektronische Fassung der eingereichten Druckfassung vollständig entspricht.“

Teilpublikationen:

Datum, Name und Unterschrift

Köln, Mai 2021

Ziliang Hu

# Curriculum vitae

## Persönliche Angabe

Name	Ziliang Hu
Adresse	Storchenweg 31, 50829 Köln
Geburtstag, -ort	10.04.1991, Shandong, China
Staatsangehörigkeit	Chinesisch

## Ausbildung

Seit Juli 2016	Doktorandin, Abteilung für Vergleichende Entwicklungs-genetik, Max-Planck Institut für Pflanzenzüchtungsforschung, Köln. Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Miltos Tsiantis
September 2012- Juli 2015	Master of Science, Institute of Botany, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, China. Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jingbo Jin
September 2008- Juli 2012	Bachelor of Science, Shandong Agricultural University, Pflanzenwissenschaften und -technologie Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Xiansheng Zhang