

**The role of *Aux/IAA8* and *IAA9*  
in compound leaf development of  
*Cardamine hirsuta***

**Inaugural-Dissertation**

zur

Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von

**Luise Zühl**

aus Heilbronn, Deutschland

Köln, April 2022

**Berichterstatter\*in:** Prof. Dr. Miltos Tsiantis  
(Gutachter\*in) Prof. Dr. Ute Höcker

**Prüfungsvorsitzender:** Prof. Dr. Siegfried Roth

**Schriftführer:** Dr. Peter Huijser

**Tag der mündlichen Prüfung:** 01. Juni 2022

Die vorliegende Arbeit wurde am  
Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung in Köln,  
in der Abteilung für Vergleichende Entwicklungsgenetik,  
in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Miltos Tsiantis angefertigt.

**MAX PLANCK INSTITUTE**  
FOR PLANT BREEDING RESEARCH



# 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:** Keine.

Köln, 03. April 2022



Luise Zühl

# Abstract

Leaves of vascular plants display a plethora of different shapes which to a large extent reflect variation in size and form of their marginal protrusions. On this basis leaves can be classified as simple or complex. When complex leaves are fully dissected into distinct leaflets, they are called compound. Morphogenesis of different leaf forms is an attractive model to understand how morphological diversity arises.

Previous findings demonstrated that paralogous members of two different gene families contribute to leaf margin development by local growth repression in both simple and compound leaves. They encode the transcriptional repressors of auxin signalling *Aux/IAA8*, *IAA9*, and the HD-ZIP class I transcription factors *LMII*, *RCO*. However, it remains unclear whether and how both groups of genes act together and the degree to which their function diverged between simple and compound-leaved species.

This thesis aims to elucidate the developmental roles of *Aux/IAA8* and *IAA9* in compound-leaved *C. hirsuta* and their genetic relations with *ChRCO*, and *AtLMII*, in the closely related, simple-leaved *A. thaliana*. For this purpose, I characterized several *ChIAA8* and *ChIAA9* mutant alleles and performed cross-species complementation. Additionally, I analysed expression patterns for these genes in developing leaves and flowers.

My observations indicate that *Aux/IAA8*, *IAA9* act redundantly in *C. hirsuta*, and that they have conserved role in maintenance of marginal protrusions in simple and complex leaves. I also identified potential species-specific divergent roles of *Aux/IAA8* and *IAA9* in separation of leaf nodes and repression of stipule and stamen development in *C. hirsuta*. Moreover, by analysing higher order mutants combined with transcriptional profiling, I provide evidence that in both species *Aux/IAA8*, *IAA9* likely act in parallel to *LMII*, whereas *ChRCO* likely acts downstream of *ChIAA8* and *ChIAA9*.

Finally, based on transcriptome analysis, I propose that *Aux/IAA8*, *IAA9* might allow crosstalk between several key regulatory pathways during leaf morphogenesis thereby contributing to leaf shape development and its diversity.

# Zusammenfassung

Blätter von Gefäßpflanzen weisen eine Fülle unterschiedlicher Formen auf, die zu einem großen Teil von der Variation in Größe und Form ihrer Blattrandausbuchtungen widergespiegelt werden. Auf dieser Grundlage können Blätter als einfach oder komplex klassifiziert werden. Wenn komplexe Blätter vollständig in einzelne Fiederblättchen unterteilt sind, werden sie als gefiedert bezeichnet. Die Morphogenese dieser verschiedenen Blattformen ist ein attraktives Modell, um zu verstehen, wie morphologische Vielfalt generell entsteht.

Frühere Ergebnisse zeigten, dass paraloge Mitglieder von zwei verschiedenen Genfamilien durch lokale Wachstumsunterdrückung, sowohl in einfachen als auch in gefiederten Blättern, zur Entwicklung der Blattränder beitragen. Sie codieren die transkriptionellen Repressoren des Auxin-Signalwegs *Aux/IAA8*, *IAA9* und die HD-ZIP Klasse I Transkriptionsfaktoren *LMII* und *RCO*. Es bleibt jedoch unklar, ob und wie beide Gengruppen zusammenwirken und inwieweit ihre Funktion zwischen einfachen und fiederblättrigen Arten divergiert.

Diese Thesis zielt darauf ab, die Rollen von *Aux/IAA8* und *IAA9* in der Entwicklung von gefiederten Blättern von *C. hirsuta* und ihre genetischen Beziehungen zu *ChRCO* sowie *AtLMII* in der eng verwandten, einfachblättrigen *A. thaliana* aufzuklären. Zu diesem Zweck habe ich mehrere mutante *ChIAA8*- und *ChIAA9*-Allele charakterisiert und eine speziesübergreifende Komplementierung durchgeführt. Zusätzlich analysierte ich die Expressionsmuster dieser Gene in sich entwickelnden Blättern und Blüten.

Meine Beobachtungen deuten darauf hin, dass *Aux/IAA8* und *IAA9* in *C. hirsuta* redundant wirken und eine konservierte Rolle bei der Aufrechterhaltung von Blattrandausbuchtungen in einfachen und gefiederten Blättern haben. Außerdem identifizierte ich mögliche artspezifische, divergierende Rollen von *Aux/IAA8* und *IAA9* bei der Trennung von Blattknoten sowie der Unterdrückung der Nebenblatt- und Staubblattentwicklung in *C. hirsuta*. Darüber hinaus liefere ich durch die Analyse von Mutanten höherer Ordnung in Kombination mit Transkriptionsprofilen den Beweis, dass in beiden Arten *Aux/IAA8* und *IAA9* wahrscheinlich parallel zu *LMII* wirken, während *ChRCO* wahrscheinlich untergeordnet von *ChIAA8* und *ChIAA9* agiert.

Schließlich schlage ich anhand einer Transkriptomanalyse vor, dass *Aux/IAA8* und *IAA9* eine Verbindung zwischen mehreren wichtigen regulatorischen Signalwegen während der Blattmorphogenese ermöglichen und dadurch zur Entwicklung der Blattform und ihrer Diversität beitragen könnten.