

## Abstract

---

A key problem in biology is understanding the origin of morphological innovations. Comparative genetic studies between closely related species are a powerful strategy to identify genetic changes that underlie evolutionary significant phenotypic differences at a macroevolutionary scale. By comparing *A. thaliana* and *C. hirsuta*, I investigated how the differences in branching pattern between those species originated. I focus on the differences in development of accessory buds which are secondary axillary meristems that form with high frequency in *C. hirsuta* but not *A. thaliana*. Phenotypic analysis revealed that *C. hirsuta* accessory buds are formed during the reproductive stage of development and that stem elongation has a major role in accessory bud development. This difference correlates with *C. hirsuta* having complex leaves divided to leaflets vs *A. thaliana* having simple leaves.

To investigate the genetic basis for this divergence in accessory bud development, I evaluated the role of candidate genes chosen because of their differential expression between *A. thaliana* and *C. hirsuta* leaves, in the context of their conserved role in shoot apical meristem function. These were members of the Class I *Knotted1-like* genes (*KNOXI*) and *CUP-SHAPED COTYLEDON* (*CUC*) gene families. Using *C. hirsuta* knock-out mutants and *A. thaliana* transgenic lines expressing the *C. hirsuta* homolog, I assessed the contribution of these genes to accessory bud development. I showed that both *C. hirsuta* *STM* and *BP* genes are sufficient to increase accessory bud number in *A. thaliana*, although only *ChSTM* seems to be necessary for *C. hirsuta* accessory bud development in a dosage-dependent manner. In contrast, *chbp-1* mutant lines present an increase in accessory bud ratio that correlates with an increase in the number of branches. Furthermore, my work indicates that evolutionary diversification of *CUC1* gene expression which contributes to leaf shape diversity between the two species, also contributes to differences in accessory bud development. By comparing the regulatory sequences of *CUC1* in the two species, I identify cis-regulatory elements that define species specific action of *CUC1* in *C. hirsuta* accessory bud development. These results indicate that distinct cis regulatory elements govern evolutionary diversification of leaf shape and accessory bud development.

## Zusammenfassung

---

Ein grundlegendes Problem in der Biologie ist den Ursprung morphologischer Neuheiten zu verstehen. Vergleichende genetische Studien zwischen eng verwandten Arten sind eine mächtige Strategie um genetische Veränderungen zu identifizieren, die den evolutionär wichtigen phenotypischen Veränderungen auf makroevolutionären Maßstab unterliegen. Mit der Gegenüberstellung von *A. thaliana* und *C. hirsuta* habe ich untersucht, wie der Unterschied im Verzweigungsmuster zwischen diesen beiden Arten entstand. Dabei habe ich mich auf die Unterschiede in der Entwicklung der Beiknospen konzentriert, welche senkündäre Seitenmeristeme sind und mit hoher Frequenz in *C. hirsuta* aber nicht in *A. thaliana* auftreten. Phenotypische Analysen haben aufgedeckt, dass die Beiknospen von *C. hirsuta* sich während der Reproduktionsphase bilden und dass die Strunkverlängerung eine Hauptrolle dabei spielt. Diese Unterschiede korrelieren mit der von *C. hirsuta* gebildeten komplexen Blattformen, welche in Faltblätter unterteilt sind, während *A. thaliana* simple Bätter bildet.

Um die genetische Basis dieser Divergenz in der Beiknospenentwicklung zu erforschen habe ich die Rolle von verschiedenen Kandidatengenen evaluiert, die wegen ihrer differenziellen Expression zwischen *A. thaliana* und *C. hirsuta* ausgewählt wurden. Diese Gene waren Mitglieder der Klasse I *Knotted1-like (KNOXI)* und *CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC)* Genfamilien. Mit Knockout-Mutanten von *C. hirsuta* und transgene Linien von *A. thaliana* welche *C. hirsuta* Homologe exprimierten, habe ich den Beitrag dieser Genen zur Beiknospenentwicklung ausgewertet. Ich habe gezeigt, dass beide *C. hirsuta* Gene, namens *STM* und *BP*, ausreichen um die Zahl der Beiknospen in *A. thaliana* zu erhöhen. Dennoch scheint nur *ChSTM*, in einer konzentrationsabhängigen Weise, notwendig für die Beiknospenentwicklung von *C. hirsuta* zu sein. Im Gegensatz dazu erhöht sich bei *chbp-1* Mutantenlinien das Verhältnis der Beiknospen, welches mit einem Anstieg der Verzweigungsanzahl korreliert. Außerdem hat meine Arbeit gezeigt, dass die evolutionäre Diversifizierung der *CUC1* Genexpression, welche zu der Blattformdiversität zwischen beiden Arten beiträgt, auch zu den Unterschieden der Beiknospenentwicklung beiträgt. Durch den Vergleich der Regulatorischen Sequenzen von *CUC1* zwischen den beiden Arten, konnte ich cis-regulatorische Elemente identifizieren, welche die artenspezifische Wirkung von *CUC1* in der Beiknospenentwicklung von *C. hirsuta* bestimmen. Diese Ergebnisse zeigen, dass bestimmte cis-regulatorische Elemente die evolutionäre Diversifizierung von Blattform und der Beiknospenentwicklung steuern.