

1 Abstract

During postembryonic development, plants initiate new axes of growth by the formation of meristems in the axils of leaves. This reiterative process is dependent on the formation of boundaries, groups of cells that allow the separation of the shoot apical meristem from differentiating organs and harboring a cell pool with competence for meristem formation. In tomato, the major branching regulators expressed in the boundary region are *Lateral suppressor (Ls)*, *Blind (Bl)* and *Goblet (Gob)*. Their orthologs in *Arabidopsis thaliana* are also regulators of axillary meristem initiation (*LAS*, *RAX1* and *CUC* genes, respectively). In this study, a new tomato mutant strongly compromised in axillary meristem development at all stages of vegetative development, named *super determinant (sde)*, is characterized. Genetic analysis revealed that two mutations, one on chromosome 4 (*sde1*) and another one on chromosome 3 (*sde2*), cause the alterations in phenotype. However, in the accession VF36 the *sde* phenotype segregates as a single Mendelian locus. Using a combination of DNaseq and RNAseq analysis, an *sde1* candidate gene on chromosome 4 was identified. To confirm the identity of the isolated gene, it was expressed under the control of its endogenous promoter in the *sde* mutant. Transgenic lines showed complementation of the mutant phenotype. Furthermore, a targeted knockout using CRISPR-Cas9 technology recapitulated the *sde* phenotype. Together, these experiments clearly demonstrate the isolation of the *Sde1* gene. *Sde1* orthologous genes are evolutionarily conserved down to the basal embryophyte *Marchantia polymorpha*. Furthermore, *Sde1* is closely related to the BMI1 proteins of the polycomb repressive complex 1. *Sde1* likely resulted from a duplication of a *BMI1* gene in the ancestor of embryophyta followed by the loss of the RING domain encoding region, as revealed by gene model conservation. Phylogenetic reconstruction placed *Sde1* and its homologous to a sister clade of BMI1. *Sde1* and *Ls* cooperatively regulate axillary meristem initiation and act in parallel to the axillary meristem initiation pathway controlled by *Bl*. Supporting this view, *Sde1* interacts with *Ls* in yeast and in planta. *Sde1* represses the expression of a lncRNA, named *SAM-lncRNA*, that suppresses the formation of axillary meristems. This work supports the view that *Sde1* and *Ls* cooperatively establish a cell pool with competence for axillary meristem formation in the axils of young leaf primordium. This cell pool is protected in a quiescent center-like environment that prevents cells to enter a differentiation program and upon inductive signals are triggered to form an axillary meristem.

2 Zusammenfassung

In der post-embryonalen Entwicklung bilden Pflanzen neue Sprossachsen durch die Anlage von Meristemen in den Blattachsen (Achselmeristeme). Dieser Prozess ist abhängig von der Bildung eines Grenzgewebes, einer Gruppe von Zellen, welche physisch eine Abgrenzung zwischen dem apikalen Sprossmeristem und einem sich neu entwickelnden Organ-Primordium darstellt. Eine bestimmte Zellpopulation dieser Grenzschicht besitzt die Fähigkeit neue Achselmeristeme zu bilden. In Tomate werden die Verzweigungsregulatoren *Lateral suppressor (Ls)*, *Blind (Bl)* und *Goblet (Gob)* in dieser Grenzschicht exprimiert. Die orthologen Gene in *Arabidopsis thaliana* sind ebenfalls Schlüsselgene für die Anlage neuer Seitentriebe (*LAS*, *RAX1* und die *CUC* Gene). In dieser Arbeit wird eine neue Mutante, benannt *super determinant (sde)*, mit stark eingeschränkter Seitentriebbildung charakterisiert. Genetische Analysen zeigten, dass zwei Mutationen, eine auf Chromosom 4 (*sde1*) und eine auf Chromosom 3 (*sde2*), diesen Phänotyp verursachen. In dem Kultivar VF36 folgt die Vererbung des *sde* Phänotyps jedoch dem Schema eines klassischen monogenen Erbganges. Eine Kombination von DNAseq- und RNAseq-Analyse identifizierte ein Gen auf Chromosom 4 als potentiellen Kandidaten für *Sde1*. Um die Identität des isolierten Gens zu bestätigen, wurde das Gen unter seinem endogenen Promoter in der *sde* Mutante exprimiert. Transgene Linien zeigten eine Komplementation des *sde* Phänotyps. Zusätzlich wurden neue Null-Allele mit Hilfe des CRISPR-CAS9 Systems erzeugt. Die neuen Allele rekapitulierten den *sde* Phänotyp. Zusammengefasst zeigten diese Experimente die erfolgreiche Identifikation des *Sde1*-Gens. *Sde1*-orthologe Gene sind evolutionär konserviert bis zum basalen Embryophyten *Marchantia polymorpha*. Zudem ist *Sde1* nahe verwandt mit den BMI1-Proteinen des 'polycomb repressive complex 1'. Vermutlich entstand *Sde1* durch eine Duplikation des *BMI1*-Gens in dem gemeinsamen Vorfahren der Embryophyten, gefolgt von dem Verlust der für die RING Domäne kodierenden Region. Phylogenetische Analysen platzieren *Sde1* und *Sde1*-Homologe in eine Schwestergruppe von BMI1. *Sde1* und *Ls* regulieren zusammen Achselmeristem-Bildung und agieren parallel zum *Bl*-Signalweg. Gestützt wird diese Ansicht durch den Nachweis der Interaktion von *Sde1* und *Ls* in Hefe und in planta. Die Expression einer langen nicht kodierenden RNA (*SAM-IncRNA*) wird von *Sde1* unterdrückt, was die Bildung von Achselmeristemen ermöglicht. Die Ergebnisse dieser Arbeit bekräftigen die Ansicht, dass *Sde1* und *Ls* zusammen eine Zellgruppe mit dem Potential zur Bildung eines Meristems in den Achseln junger Blattprimordien etablieren. Die Differenzierung der Achselzellen wird

verzögert und kann erst durch induktive Signale fortschreiten, um ein Achselmeristem zu bilden.