

## I. ABSTRACT

Maize, one of the world's most important cereal crops, is highly dependent on the nutrient availability in the soil and interaction with microbiota, especially arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). While AMFs provide phosphate to the plant *via* the mycorrhizal phosphate uptake pathway (MPU), the plant supplies the fungus with its main energy source in form of carbon.

An imbalance in this mutualistic interaction by knock-out of the mycorrhiza-specific phosphate transporter PHT1;6 in maize impairs host plant nutritional status and biomass production. In this mutant, the MPU is completely disrupted, leading to omission of P transport to the plant by the fungus. However, it is unclear, whether carbon is still transferred to AMF in the transposon insertion maize mutant *pht1;6*. Here, a labeling experiment with  $^{13}\text{CO}_2$  was performed using B73 wild type and the knock-out mutant of *pht1;6* under colonized and noncolonized conditions with *Rhizophagus irregularis* to trace C-fluxes from the plant to the fungus. Root metabolite profiles of leaf, root and fungal hyphae material showed that disruption of the crucial MPU switches the metabolite profile of mycorrhizal roots to that of non-mycorrhizal wild type roots indicating disruption of C-fluxes.

The genotype of maize and its individual interaction with AMF can affect microbial composition in the root and rhizosphere. Additionally, AMFs are associated with bacteria that function as mycorrhizal helper bacteria. However, whether the loss of a functional mycorrhiza in a maize mutant affects the composition of the remaining microbiome and whether genotypes with differing mycorrhizal responsiveness assemble distinct root-associated microbiota was previously unknown. To this end, three field experiments were performed to study plant biomass and leaf elemental composition as measures of the plant physiological state. Amplicon sequencing of the 16s and ITS2 region was used to examine the microbiota composition.

In these field studies, the loss of the AM symbiosis represented by the mutant *pht1;6* could not be compensated by the plant through interactions with other microbiota or the direct phosphate uptake pathway, resulting in a drastically reduced plant biomass. The impairment of MPU was exclusively related to interactions of maize with families from the phylum Glomeromycota, depending on the soil nutrient management status. Remarkably, non-AM fungi were not affected by MPU disruption. This suggests that a functional MPU is, first, crucial

for maize growth, especially in the early developmental stages, and, second, cannot be compensated by non-AM fungi in maize.

The overall nutrient limitation of the soil at a certain level could not be compensated by genotypic differences of the maize plants, as shown by the better plant performance of all genotypes in fully fertilized soil. Overall bacterial and fungal diversity remained stable under different soil nutrient treatments. However, nutrient-limited soils had higher diversity of AMF compared to nutrient-rich soils. Furthermore, enrichment of certain bacterial and fungal orders is observed in maize roots under low nutrient conditions. Differences in plant genomes had a small effect on plant physiology and specific OTUs (operational taxonomic units) in the plant roots under nutrient limitation. Furthermore, the microbiota covaried with the leaf ionome profile in a genotype-dependent manner, suggesting that the effect of the maize genotype appears to be limited to individual OTUs favored by either the physiological state of the plant or nutrient supply by the microbes.

## II. ZUSAMMENFASSUNG

Mais, eine der wichtigsten Kulturpflanzen der Welt, ist in hohem Maße von der Nährstoffverfügbarkeit im Boden und der Interaktion mit Mikrobiota, insbesondere mit arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMF), abhängig. Während AMFs die Pflanze über den Mykorrhiza-Phosphataufnahmeweg (MPU) mit Phosphat (Pi) beliefern, versorgt die Pflanze den Pilz mit seiner Hauptenergiequelle in Form von Kohlenstoff.

Ein Ungleichgewicht in dieser mutualistischen Interaktion durch Knock-out des mykorrhizaspezifischen Phosphattransporters PHT1;6 in Mais beeinträchtigt das elementare Nährstoffprofil der Wirtspflanze und die Biomasseproduktion. Bei dieser Mutante ist der MPU vollständig gestört, was dazu führt, dass der Pilz kein Pi mehr zur Pflanze transportiert. Es ist jedoch unklar, ob in *pht1;6*-Mutanten noch Kohlenstoff an AMF übertragen wird. Hierfür wurde ein Experiment mit <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> mit B73-Wildtyp- und *pht1;6*-Mutantepflanzen unter durch mit *Rhizophagus irregularis* kolonisierten und nicht kolonisierten Bedingungen durchgeführt, um die C-Flüsse von der Pflanze zum Pilz zu verfolgen. Metabolitprofile von Blatt-, Wurzel- und Pilzhyphenmaterial zeigten, dass die Unterbrechung des entscheidenden MPU das Metabolitprofil von mykorrhizierten Wurzeln zu dem nicht-mykorrhizierter Wildtypwurzeln veränderte, was auf eine Unterbrechung des C-Flusses hindeutet.

Der Genotyp von Mais und seine individuelle Interaktion mit AMF können die mikrobielle Zusammensetzung in der Wurzel und Rhizosphäre beeinflussen. Außerdem sind AMF mit Bakterien assoziiert, die als mykorrhiziale Hilfsbakterien fungieren. Bisher war jedoch nicht bekannt, ob der Verlust einer funktionellen Mykorrhiza die Zusammensetzung des verbleibenden Mikrobiomes beeinflusst und ob Genotypen mit unterschiedlicher mykorrhizieller Empfindlichkeit unterschiedliche wurzelassoziierte Mikrobiota aufbauen. Zu diesem Zweck wurden drei Feldversuche durchgeführt. Die Pflanzenbiomasse und die Elementzusammensetzung der Blätter wurde als Maß für den physiologischen Zustand der Pflanze verwendet und die Zusammensetzung der Mikrobiota wurde durch Amplikonsequenzierung der 16s und ITS2 Region untersucht.

In diesen Feldstudien konnte der Verlust der AM-Symbiose durch die Mutante *pht1;6* von der Pflanze nicht durch Interaktionen mit anderen Pilzen oder den direkten Phosphataufnahmeweg kompensiert werden, was zu einer drastisch reduzierten

Pflanzenbiomasse führte. Die Beeinträchtigung des MPUs auf das pilzliche Mikrobiom stand ausschließlich im Zusammenhang mit Interaktionen von Mais und pilzlichen Familien aus dem Stamm der Glomeromycota, was abhängig vom Nährstoffstatus des Bodens war. Bemerkenswerterweise waren Nicht-AM-Pilze von der Unterbrechung des MPUs nicht betroffen. Dies deutet darauf hin, dass ein funktionsfähiger MPU erstens entscheidend für das Wachstum von Mais insbesondere in den frühen Entwicklungsstadien ist und zweitens nicht durch Nicht-AM-Pilze in Mais kompensiert werden kann.

Die allgemeine Nährstoffbegrenzung des Bodens konnte bis zu einem bestimmten Niveau nicht durch genotypische Unterschiede der Maispflanzen kompensiert werden, was das verbesserte Pflanzenwachstum aller Genotypen in voll gedüngtem Boden zeigte. Insgesamt blieb die bakterielle und pilzliche Diversität unter den verschiedenen Nährstoffbehandlungen im Boden stabil. Aber nährstoffbegrenzte Böden wiesen im Vergleich zu nährstoffreichen Böden eine höhere Diversität an AMF auf. Des Weiteren wurde unter nährstoffarmen Bedingungen eine Anreicherung bestimmter Bakterien- und Pilzordnungen in Maiswurzeln beobachtet. Unterschiede in den Pflanzengenomen hatten jedoch eine geringe Auswirkung auf die Pflanzenphysiologie und die Gesamtzusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft in den Pflanzenwurzeln unter Nährstofflimitierung. Darüber hinaus korrelierte die Abundanz der Mikrobiota mit dem Blattionomprofil in einer vom Genotyp abhängigen Weise, was darauf hindeutet, dass die Wirkung des Maisgenotyps auf einzelne OTUs beschränkt zu sein scheint, die entweder durch den physiologischen Zustand der Pflanze oder die Nährstoffversorgung durch die Mikroben begünstigt werden.