

**Ecological Genetics of *Arabidopsis thaliana* Growth
under Plant-plant Competition**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Jessica Thome

aus

Gerolstein

Berichtersteller:

Prof. Dr. Ute Höcker

Prof. Dr. Juliette de Meaux

Prüfungsvorsitzender:

Prof. Dr. Eric von Elert

Abstract

Intraspecific plant-plant competition, where plants of the same species compete for resources such as light, water, and nutrients, profoundly impacts growth and reproductive success and plays a critical role in shaping ecological communities (Subrahmaniam *et al.*, 2018; Pierik *et al.*, 2013). Yet, the specific mechanisms and effects of such interactions on plant growth and reproductive success remain underexplored. This study examines how *Arabidopsis thaliana* responds to such competition, focusing on the roles of nutrient availability, soil volume, and both above- and belowground interactions, including candidate genes contributing to the response to competition. Using controlled growth chamber experiments, *Arabidopsis* plants were either grown as single plants or under competition with six neighbouring plants. Key phenotypic traits including leaf length, rosette leaf number, shoot branching, and silique production were determined.

Findings presented here indicate that intraspecific competition significantly reduces vegetative growth, as evidenced by fewer leaves and smaller rosettes around 20 days post-germination. Shoot branching and reproductive success also declined under competition, with fewer siliques produced. Nutrient availability and soil volume played supporting roles: fertilisation improved single plant growth but had limited impact under competition, and larger soil volumes benefited single plants without mitigating competitive effects.

Investigations into competition dynamics revealed that belowground interactions primarily drive the negative effects, as isolating root systems abolished the decrease in shoot branching and reproductive success under competition. Interspecific competition with the grass *Lolium perenne* similarly reduced growth and reproductive success, with a stronger effect on shoot branching. The role of root hair density for belowground interactions was explored using mutants with altered root hair density, which did not significantly affect competition outcomes, suggesting residual root materials and root exudates are more influential. In addition to root exudates, the results presented here suggest a role of non-plant factors, such as the microbiome, for belowground competition.

Further analysis focused on light signalling and hormonal regulation in intraspecific competition. Photoreceptors, specifically phytochromes (PHYA and PHYB), play crucial roles in light perception and in shade avoidance, with PHYB inhibiting elongation in red light and PHYA inhibiting excessive growth under high far-red light as under deep shade (Huber *et al.*, 2021; Pierik and Wit, 2013; Yanovsky *et al.*, 1995). Mutants for these receptors, along with blue light photoreceptors cryptochromes CRY1 and CRY2, were examined for their effects on shoot branching and reproductive success. The CRY1 deficiency resulted in a higher reproductive

success for plants grown under competition, indicating that plants use the blue-light photoreceptor to sense shading under competition. In contrast, while PHYB deficiency proved maladaptive for plants grown individually, it was not detrimental under competitive conditions. In fact, this deficiency slightly enhanced reproductive success when the plants faced competition. The transcription factor ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5), which promotes photomorphogenic responses, was found to be vital, with its deficiency increasing reproductive success under competition, while the transcription factors PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS (PIFs) showed limited significance. Plant hormones as auxin and cytokinins (CKs), along with strigolactones (SLs), were assessed, revealing that auxin alone did not explain branching reductions, and CKs effects were diminished under competition. SL mutants exhibited increased branching and reproductive success, but still showed response to competition. Sugar availability, including T6P and glucose sensing, influenced branching and silique production, though competitive stress persisted.

Transcriptome analyses via RNA sequencing identified differentially expressed genes (DEGs) related to shoot branching and hormone signalling. The study also screened for potential genes involved in neighbour detection, highlighting the complex interplay of light signalling, photoreceptors, transcription factors, hormones, and sugars in competitive responses.

In conclusion, intraspecific competition in *Arabidopsis thaliana* leads to substantial reductions in vegetative growth, shoot branching, and reproductive success. Belowground interactions are the primary drivers of competitive stress, with light signalling and hormonal factors, especially SLs, also playing significant roles. This research enhances our understanding of plant competition dynamics and provides insights for optimizing plant performance in densely planted environments.

Zusammenfassung

Intraspezifische Konkurrenz zwischen Pflanzen derselben Art, bei der sie um Ressourcen wie Licht, Wasser und Nährstoffe konkurrieren, hat einen tiefgreifenden Einfluss auf Wachstum und reproduktiven Erfolg und spielt eine entscheidende Rolle bei der Gestaltung ökologischer Gemeinschaften (Subrahmaniam *et al.*, 2018; Pierik *et al.*, 2013). Dennoch bleiben die spezifischen Mechanismen und Auswirkungen solcher Interaktionen auf das Pflanzenwachstum und den reproduktiven Erfolg weitgehend unerforscht. Diese Studie untersucht, wie *Arabidopsis thaliana* auf solche Konkurrenz reagiert, wobei der Schwerpunkt auf der Verfügbarkeit von Nährstoffen, dem Bodenvolumen und sowohl auf ober- als auch unterirdischen Interaktionen, einschließlich potenzieller Gene, die zur Konkurrenzreaktion beitragen, liegt. In kontrollierten Wachstumskammerexperimenten wurden *Arabidopsis*-Pflanzen entweder als Einzelpflanzen oder unter Konkurrenz mit sechs benachbarten Pflanzen kultiviert. Wichtige phänotypische Merkmale wie Blattlänge, Rosettenblattzahl, Sprossverzweigung und die Produktion von Schoten wurden ermittelt.

Die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, dass intraspezifische Konkurrenz das vegetative Wachstum signifikant reduziert, was durch weniger Blätter und kleinere Rosetten etwa 20 Tage nach der Keimung belegt wird. Auch die Sprossverzweigung und der reproduktive Erfolg nahmen unter Konkurrenz ab, wobei weniger Schoten gebildet wurden. Die Nährstoffverfügbarkeit und das Bodenvolumen spielten unterstützende Rollen: Düngung verbesserte das Wachstum von Einzelpflanzen, hatte jedoch unter Konkurrenz nur begrenzte Auswirkungen, und größere Bodenvolumen kamen Einzelpflanzen zugute, ohne die Konkurrenzwirkungen zu mildern.

Untersuchungen zu den Konkurrenzdynamiken zeigten, dass unterirdische Interaktionen hauptsächlich die negativen Effekte verursachen, da die Isolierung der Wurzelsysteme den Rückgang der Sprossverzweigung und des reproduktiven Erfolgs unter Konkurrenz aufhob. Interspezifische Konkurrenz mit dem Gras *Lolium perenne* verringerte ebenfalls das Wachstum und den reproduktiven Erfolg, mit stärkeren Auswirkungen auf die Sprossverzweigung. Die Rolle der Wurzelhaardichte bei unterirdischen Interaktionen wurde anhand von Mutanten mit veränderter Wurzelhaardichte untersucht, die jedoch keine signifikanten Auswirkungen auf die Konkurrenz zeigten, was darauf hindeutet, dass verbleibende Wurzelmaterialien und Wurzelausscheidungen einflussreicher sind. Neben Wurzelausscheidungen deuten die Ergebnisse darauf hin, dass nicht-pflanzliche Faktoren wie das Mikrobiom eine Rolle bei der unterirdischen Konkurrenz spielen.

Weitere Analysen konzentrierten sich auf Lichtsignale und hormonelle Regulation in der intraspezifischen Konkurrenz. Die photorezeptoren Phytochrome (PHYA und PHYB) spielen eine

entscheidende Rolle bei der Lichtwahrnehmung und im Schattenvermeidungsverhalten, wobei PHYB das Längenwachstum im Rotlicht hemmt und PHYA übermäßiges Wachstum bei hohem dunkelrotem Licht, wie unter tiefem Schatten, unterdrückt (Huber *et al.*, 2021; Pierik and Wit, 2013; Yanovsky *et al.*, 1995). Mutanten für diese Rezeptoren, zusammen mit den Blaulichtphotorezeptoren Cryptochrome (CRY1 und CRY2), wurden auf ihre Auswirkungen auf die Sprossverzweigung und den reproduktiven Erfolg untersucht. Der Mangel an CRY1 führte zu einem höheren reproduktiven Erfolg bei unter Konkurrenz wachsenden Pflanzen, was darauf hinweist, dass Pflanzen den Blaulichtphotorezeptor zur Erkennung von Schatten unter Konkurrenz nutzen. Im Gegensatz dazu erwies sich ein Mangel an PHYB zwar als nachteilig für einzeln wachsende Pflanzen, war aber unter Konkurrenzbedingungen nicht schädlich. Tatsächlich verbesserte dieser Mangel den reproduktiven Erfolg der Pflanzen unter Konkurrenz leicht. Der Transkriptionsfaktor ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5), der photomorphogenische Reaktionen fördert, wurde als entscheidend erkannt, da sein Mangel den reproduktiven Erfolg unter Konkurrenz steigerte, während die Transkriptionsfaktoren PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS (PIFs) eine begrenzte Bedeutung zeigten. Pflanzliche Hormone wie Auxin und Cytokinine (CKs) sowie Strigolaktone (SLs) wurden untersucht, wobei festgestellt wurde, dass Auxin allein die Reduktion der Verzweigung nicht erklären konnte und die Auswirkungen von CKs unter Konkurrenz abgeschwächt waren. SL-Mutanten zeigten eine erhöhte Verzweigung und einen erhöhten reproduktiven Erfolg, reagierten jedoch weiterhin auf Konkurrenz. Die Verfügbarkeit von Zucker und Zucker-Signalmolekülen wie Trehalose 6-Phosphat (T6P) beeinflusste die Verzweigung und Schotenproduktion, obwohl der Wettbewerbsstress anhielt.

Transkriptom-Analysen mittels RNA-Sequenzierung identifizierten differenziell exprimierte Gene (DEGs), die mit Sprossverzweigung und Hormonregulation zusammenhängen. Die Studie untersuchte auch potenzielle Gene, die an der Erkennung von Nachbarpflanzen beteiligt sind, und betont das komplexe Zusammenspiel von Lichtsignalen, Photorezeptoren, Transkriptionsfaktoren, Hormonen und Zuckern bei Konkurrenzreaktionen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass intraspezifische Konkurrenz bei *Arabidopsis thaliana* zu erheblichen Reduktionen im vegetativen Wachstum, in der Sprossverzweigung und im reproduktiven Erfolg führt. Unterirdische Interaktionen sind die Haupttreiber des Wettbewerbsstresses, wobei Lichtsignale und hormonelle Faktoren, insbesondere SLs, ebenfalls eine bedeutende Rolle spielen. Diese Forschung erweitert unser Verständnis der Pflanzendynamik bei Konkurrenz und liefert wertvolle Erkenntnisse zur Optimierung der Pflanzenleistung in dicht bepflanzten Umgebungen.