

Abstract

Plant diseases are a major threat for global production of cereal crops. Nucleotide-binding domain and leucine-rich repeats containing (NLR) proteins in plants and animals mediate intracellular pathogen sensing. Plant NLRs typically detect specific pathogen effectors and trigger immune responses that are often linked to a localized host cell death. The *Mildew Locus A (Mla)* disease resistance genes in barley and wheat can detect diverse fungal pathogens that belong to different phyla. In the barley host population, the *Mla* disease resistance locus has undergone extensive functional diversification and encodes numerous allelic NLRs. Each *Mla* allele confers an isolate-specific resistance against the biotrophic ascomycete *Blumeria graminis* forma specialis *hordei* (*Bgh*) by detecting avirulence effectors (*AVR_{aS}*), which are sequence-unrelated (Lu et al., 2016).

How MLA alleles can specifically recognize sequence-unrelated AVR_A effectors was unclear, until recently, our group reported the identification of multiple powdery mildew AVR_A – barley MLA pairs that argued for a direct recognition mechanism (Saur et al., 2019). This thesis contributed to this study, by describing the isolation of the *Bgh* effectors *AVR_{a9}*, *AVR_{a10}* and *AVR_{a22}*, which encode small fungal peptides with an N-terminal secretion signal that are recognized by the corresponding MLA9, MLA10 and MLA22 receptors, respectively. AVR_{A10}/AVR_{A22} are effector alleles that do not show any sequence-relatedness to other *Bgh* avirulence effectors. *AVR_{a10}* and *AVR_{a22}* alleles are maintained as a balanced polymorphism in the pathogen population. Co-expression experiments in yeast suggest a direct interaction of matching AVR_A effector and MLA receptor pairs in the absence of other plant proteins.

In this study, I further characterized the recognition mechanism of the AVR_{A10}/AVR_{A22} alleles by the MLA10 and MLA22 receptors. Domain swap experiments between MLA10 and MLA22 show that the leucine-rich repeat (LRR) domain is a major determinant for effector recognition specificity. I identified residues in the allelic effectors AVR_{A10} and AVR_{A22}, which are responsible for MLA10- or MLA22- specific recognition, respectively. In summary, this study sheds light into a recognition mechanism of fungal effectors by a diversified immune receptor of a cereal crop. In the future, this knowledge could be applied to design synthetic resistance genes against fungal cereal crop pathogens.

Zusammenfassung

Pflanzenkrankheiten sind eine Bedrohung für die weltweite Getreideproduktion. Nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing (NLR) Proteine in Pflanzen und Tieren vermitteln die Erkennung von Pathogenen. Pflanzliche NLRs können spezifisch Pathogeneffektoren detektieren und lösen Immunreaktionen aus, die häufig mit einem lokalisierten Wirtszelltod einhergehen. Das NLR Resistenzgen *Mildew Locus A (Mla)* in Gerste und Weizen kann diverse Pilzpathogene erkennen, die unterschiedlichen Phyla angehören. In der Wirtspopulation der Gerste ist der *Mla* Resistenzlocus extensiv funktionell diversifiziert und kodiert für zahlreiche MLA Allele. Jedes MLA Allel vermittelt eine spezifische Resistenz gegen verschieden Isolate des biotrophen Ascomyceten *Blumeria graminis* forma specialis *hordei* (*Bgh*), in dem es Avirulenz-Effektoren (AVR_A s) detektiert, die nicht sequenz-verwandt sind (Lu et al., 2016)

Wie MLA Allele nicht sequenz-verwandte AVR_A Effektoren spezifisch erkennen können, war unklar, bis unsere Gruppe kürzlich mehrere Mehltau AVR_A – Gerste MLA Paare identifizierte, die für einen direkten Erkennungsmechanismus sprechen (Saur et al., 2019). Diese Dissertation hat zu dieser Studie beigetragen, indem die *Bgh*-Effektorgene AVR_{a9} , AVR_{a10} und AVR_{a22} isoliert wurden; welche für kleine, pilzliche Peptide mit einem N-terminalen Sekretionssignal kodieren, die von den entsprechenden MLA9, MLA10 und MLA22 Rezeptoren erkannt werden. AVR_{A10} / AVR_{A22} sind Effektorallele, die keine Sequenzverwandtschaft zu anderen *Bgh*-Avirulenzeffektoren aufweisen. Die AVR_{A10} und AVR_{A22} Allele sind als balanzierter Polymorphismus in der Erregerpopulation konserviert. Ko-expressionsexperimente in Hefe lassen vermuten, dass MLA Rezeptoren korrespondierende AVR_A Effektoren durch eine direkte Interaktion in der Abwesenheit anderer pflanzlicher Proteine erkennen können.

In dieser Studie habe ich den Erkennungsmechanismus von AVR_{A10}/AVR_{A22} durch MLA10 und MLA22 weiter charakterisiert. Experimente zum Austausch von Rezeptordomänen zeigen, dass die leucine-rich repeat (LRR) Domäne die für die spezifische Effektorerkennung verantwortliche Determinante ist. Weiterhin konnte ich Aminosäurereste der allelischen Effektoren AVR_{A10} und AVR_{A22} identifizieren, die für die MLA10- und MLA22- spezifische Erkennung verantwortlich sind. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass diese

molekularbiologische Studie einen Einblick in einen wichtigen Erkennungsmechanismus von pilzlichen Effektoren durch einen diversifizierten Immunrezeptor aus Getreidepflanzen ermöglicht. In Zukunft könnte dieses Wissen genutzt werden, um neue Resistenzgene gegen Pilzpathogene für Getreide zu entwickeln.