

Summary

Root endophytic fungi of the order Sebaciniales establish mutualistic relationships with various plant species providing beneficial effects. Endophytic colonization of *Arabidopsis thaliana* by the beneficial root endophyte *Serendipita indica* is characterized by an initial biotrophic phase followed by a restricted host cell death-associated phase. However, the host signals and molecular pathways that limit *S. indica* colonization and govern symbiosis remain largely unknown. This study demonstrates that autophagy, a major cellular degradation pathway, is activated during *S. indica* colonization and is required to restrict fungal growth in Arabidopsis. Arabidopsis knockout (KO) mutants deficient in autophagosome formation are more susceptible to deoxyadenosine (dAdo), a cell death inducer produced by two secreted *S. indica* effectors at the onset of the cell death-associated phase. Impaired recovery in these mutants after dAdo treatment suggests that autophagy act as tolerance mechanism, mitigating dAdo-induced stress and restoring homeostasis. In the *atg5* autophagy mutant background, impaired dAdo uptake prevents dAdo-induced and symbiosis-mediated cell death. These findings suggest that autophagy-mediated pro-survival responses in the host are important for maintaining a balanced symbiotic interaction between *S. indica* and Arabidopsis.

This study also explores how changes in NADPH oxidase-mediated ROS production or disruptions in sulfur metabolism, affect fungal accommodation during the cell death-associated phase. *S. indica* colonization in sulfite oxidase-deficient mutants led to increased fungal growth, whereas the NADPH-oxidase double mutant impaired in RBOHD and

RBOHF activity did not affect colonization, highlighting the specificity of host signals that regulate fungal accommodation.

Together, these findings emphasize the complexity of the *S. indica* colonization, where nutritional factors, metabolic status and regulated cell death play critical roles.

Zusammenfassung

Endophytische Pilze der Ordnung Sebaciales gehen mutualistische Beziehungen mit verschiedenen Pflanzenarten ein. Die Kolonisierung von *Arabidopsis thaliana* durch den Wurzelendophyten *Serendipita indica* ist durch eine erste biotrophe Phase gekennzeichnet, gefolgt von einer mit reguliertem Wirtszelltod verbundenen Phase. Die Wirts-Signale und molekularen Wege, die die Kolonisierung durch *S. indica* einschränken und die Symbiose zwischen Wirt und Pilz regulieren, sind jedoch weitgehend unbekannt. Diese Studie zeigt, dass Autophagie, ein wichtiger zellulärer Abbauweg, während der Kolonisierung durch *S. indica* in der Wirtspflanze aktiviert wird und notwendig ist, um die Pilzkolonisierung zu begrenzen. Arabidopsis-Knockout-Mutanten, die in der Bildung von Autophagosomen defizient sind, sind anfälliger für Desoxyadenosin (dAdo), einen Zelltodinduktor, der von zwei sekretierten *S. indica*-Effektoren zu Beginn der Zelltod-assoziierten Phase produziert wird. Die beeinträchtigte Regeneration dieser Mutanten nach einer dAdo-Behandlung deutet darauf hin, dass die Autophagie als Toleranzmechanismus wirkt, der den dAdo-induzierten Zellstress mildert und die Homöostase wiederherstellt. Im *atg5*-Autophagie-Mutanten-Hintergrund verhindert eine beeinträchtigte dAdo-Aufnahme den dAdo-induzierten und Symbiose-vermittelten Zelltod. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Autophagie-vermittelte überlebensfördernde Wirtsreaktionen entscheidend für die Aufrechterhaltung einer ausgewogenen symbiotischen Interaktion zwischen *S. indica* und Arabidopsis sind.

In dieser Studie wurde auch untersucht, wie Veränderungen in der NADPH-Oxidase-

vermittelten ROS-Produktion oder Störungen des Schwefelstoffwechsels die Pilzakkommodation während der Zelltod-assoziierten Phase beeinflussen. Die Kolonisierung durch *S. indica* in sulfioxidase-defizienten Mutanten führte zu erhöhtem Pilzwachstum, während die Kolonisierung in der NADPH-Oxidase-Doppelmutante, die in der RBOHD- und RBOHF-Aktivität beeinträchtigt ist, nicht beeinträchtigt wurde, was die Spezifität der Wirtssignale zeigt, die die Pilzakkommodation regulieren.

Zusammengenommen betonen diese Ergebnisse die Komplexität der Kolonisierung von Pflanzen durch *S. indica*, bei der Ernährungsfaktoren, der Wirtsstoffwechselstatus und regulierter Zelltod eine entscheidende Rolle spielen.