

Author: DOROTĖJA VAITIEKŪNAITĖ

Dissertation title: Tree growth stimulation and pathogen growth inhibition using endophytic microorganisms

Science field: Forestry A 004

Scientific supervisor: dr. Vaida Sirgedaitė-Šėžienė, dr. Sigutė Kuusienė

Thesis defence day: 2023-09-07

ANNOTATION

Climate change is expected to increase outbreaks of pathogens and may potentially create locally unfavorable abiotic conditions for optimal forest growth, which poses one of the greatest challenges to forest health. Therefore, pathogen management and the improvement of tree growth conditions have to be improved. Using microbial-based biostimulants and biocontrol agents is an eco-friendly way to deal with pathogens and tree growth promotion.

A relatively novel niche to find beneficial microorganisms is the plant endosphere. Pedunculate oak (*Quercus robur* L.) endosphere is rarely researched, thus it was chosen as the source of endophytes (asymptomatic inhabitants of plant inner tissues) in this study. Oak endophytes (bacteria and fungi) were tested for plant growth-promoting traits and pathogen growth inhibition in vitro. Endophytic bacteria *Paenibacillus tundrae* was selected for in vitro growth promotion and secondary metabolism trials using model poplar (*Populus*) trees. Additionally, surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) was used for endophytic bacteria differentiation at within species level to speed up future research.

Results showed that *Q. robur* shares many of the same endophytic genera as other woody plants, even though some specific genera, such as *Delftia*, or specific species, such as *P. tundrae*, have not yet been isolated from the pedunculate oak itself. All isolates qualitatively exhibited at least three plant growth-promoting traits. For example, inorganic phosphate solubilization and phytohormone indol-3-acetic acid production were universal. Tested isolates also demonstrated significant radial growth inhibition against European forest pathogens (*Hymenoscyphus fraxineus*, *Phellinus tremulae*, *Heterobasidion annosum*, *Lophodermium seeditiosum*) in vitro. Bacteria *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas azotoformans*, and yeast *Meyerozyma guilliermondii* exhibited significant antagonistic properties against three out of four tested pathogens. *P. tundrae* was shown to positively impact *Populus* tree growth, specifically that of the root system. This

isolate also affected *Populus* metabolome, specifically positively impacting photosynthesis pigment concentration. Furthermore, SERS was effectively used to differentiate genetically homologous endophytic bacteria, leading to promising advances in endophyte research.

Overall, the results of this study suggest that pedunculate oaks possess an endomicrobiome rich with microorganisms, that exhibit beneficial properties, that could potentially lead to their use as biostimulants and biocontrol agents in forestry.

Autorius: DOROTĖJA VAITIEKŪNAITĖ

Disertacijos pavadinimas: Medžių augimo skatinimas ir patogenų augimo slopinimas naudojant endofitinius mikroorganizmus

Mokslo sritis: Miškotyra A 004

Mokslinis vadovas: dr. Vaida Sirgedaitė-Šežienė, dr. Sigutė Kuusienė

Gynimo data: 2023-09-07

ANOTACIJA

Tikėtina, kad dėl klimato kaitos padaugės patogenų protrūkių ir gali susidaryti nepalankios vietinės abiotinės sąlygos optimaliam miško augimui, o tai yra vienas didžiausių iššūkių miškų sveikatai. Tad reikia tobulinti patogenų valdymo metodus ir gerinti medžių augimo sąlygas. Mikroorganizmų pagrindu sukurtų biostimuliatorių ir biokontrolės agentų naudojimas yra ekologiškas būdas kovoti su patogenais ir skatinti medžių augimą.

Palyginti nauja niša, kurioje galima rasti naudingų mikroorganizmų, yra augalų endosfera. Paprastojo ąžuolo (*Quercus robur* L.) endosfera yra menkai tyrinėta, todėl šiame tyrime ji buvo pasirinkta kaip endofitų (asimptominių augalų vidinių audinių gyventojų) šaltinis. Buvo siekiama kokybiškai įvertinti ąžuolo endofitų (bakterijų ir grybų) augalų augimą skatinančias ir patogenų augimą slopinančias savybes *in vitro*. Endofitinė bakterija *Paenibacillus tundrae* buvo atrinkta *in vitro* augimo skatinimo ir poveikio antriniam metabolizmui tyrimams, naudojant modelinius tuopų (*Populus*) medžius. Be to, siekiant paspartinti būsimus tyrimus, vidurūšinei endofitinių bakterijų diferenciacijai buvo naudojama sustiprinto paviršiaus Ramano spektroskopija (SERS).

Rezultatai parodė, kad paprastas ąžuolas pasižymi tomis pačiomis endofitinių mikroorganizmų gentimis kaip ir kiti sumedėję augalai, nors kai kurios specifinės gentys, pavyzdžiui, *Delftia*, arba specifinės rūšys, pavyzdžiui, *P. tundrae*, dar nebuvo išskirtos iš paties paprastojo ąžuolo. Visi izoliatai pasižymėjo bent trimis augalų augimą skatinančiomis savybėmis. Pavyzdžiui, neorganinių fosfatų tirpinimas ir fitohormono indol-3-acto rūgšties gamyba buvo universalūs. Tirti izoliatai taip pat pasižymėjo reikšmingu Europos miškų patogenų (*Hymenoscyphus fraxineus*, *Phellinus tremulae*, *Heterobasidion annosum*, *Lophodermium seditiosum*) augimo slopinimu *in vitro*. Bakterijos *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas azotoformans* ir mielė *Meyerozyma guilliermondii* pasižymėjo reikšmingu antagonistiniu poveikiu trims iš keturių tirtų patogenų. *P. tundrae* teigiamai veikė tuopų, ypač jų šaknų sistemos augimą.

Šis izoliatas taip pat turėjo įtakos tuopų metabolizmui, t.y., teigiamai veikė fotosintezės pigmentų koncentraciją. Be to, SERS buvo efektyviai panaudotas genetiškai homologiškoms endofitinėms bakterijoms diferencijuoti – tai daug žadanti pažanga endofitų tyrimų srityje.

Taigi, šio tyrimo rezultatai rodo, kad paprastųjų ąžuolų endomikrobiome gausu naudingomis savybėmis pasižyminčių mikroorganizmų, kurie potencialiai galėtų būti naudojami kaip biostimuliatoriai ir biokontrolės agentai miškininkystėje.