

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Plant growth-promoting microbes impact on plant  
performance, resilience, and rhizosphere microbiome  
assembly**

Cátia Sofia Dias Pinto

**Mestrado em Biologia Evolutiva e do Desenvolvimento**

Versão Pública

Dissertação orientada por:  
Professora Doutora Eiko Kuramae  
Professora Doutora Cristina Cruz

## Acknowledgments

I would like to start my acknowledgments by thanking **Cristina Rotoni** for all the hard work she has done orienting and helping me to develop my master thesis and my lab skills. I'm grateful to her for providing me a great summer internship that made me decide to do my master thesis having her as a supervisor and friend.

Further, I would like to express my gratitude to my research supervisor Prof. Dr. **Eiko Kuramae** for accepting me in her group and giving me the opportunity to complete my Master's studies at NIOO working on different and interesting projects. I also would like to thank Prof. Dr. **Cristina Cruz** for acting as my internal supervisor and for her support.

I also want to thank **Marcio Leite** who helped a lot with the computational work, **Lina Chuan Wong** for helping me with the lab work, and all the other people from NIOO that made my stay very enjoyable by providing a supportive learning environment.

I am extremely grateful to my colleagues **Beatriz Portinha**, **Madalena Marques**, and **Filipa Manuel**. They were very supportive of me throughout my studies. We were helping each other to be happy and celebrating each other's achievements. They really showed how important it is to stick together.

This thesis would not have been possible without the patience of **Philip Ruppert**. Whether teaching me English or making me believe that everything is possible to be done. He took care of my dog as if it were his and gave all the support that I needed to make me believe that I am a 'strong independent woman' that can go wherever I want to go and do whatever I set my mind to. ♡

I also would like to thank **Flôr**. Even if it is impossible for her to understand this, she has been essential to making me feel at home wherever I am.

Last but not the least, I would like to thank my **family** for always being there for me, helping me with whatever I needed, and keeping me anchored to Portugal.

This report was written at the Microbial Ecology Department (ME) of the Netherlands Institute of Ecology (NIOO-KNAW, Wageningen, The Netherlands). All information contained within, such as materials, methods, and research data belong to NIOO-KNAW and cannot be (re)published without the consent of Prof. Dr. Kuramae responsible for this research.



## Resumo

Ao longo de milhões de anos os microrganismos e as plantas interagiram entre si. Combinando a capacidade de utilização da energia solar e do dióxido de carbono por parte das plantas, com a capacidade de utilização do substrato de forma eficiente por parte da microbiota, foi possível a transição das plantas da água para o solo. Desde então, as plantas e a sua microbiota têm vindo a coevoluir, sendo o microbioma considerado como uma extensão do material genético da planta. Contudo, a revolução da agricultura tem levado a progressivas alterações do ambiente agrícola alterando o decorrer da história evolutiva entre as plantas e os microrganismos.

O solo, as plantas e os microrganismos estão conectados, e têm impacto uns nos outros. A rizosfera é considerada como a mais dinâmica interface do planeta Terra, e parte dos organismos lá existentes poderão promover o crescimento e resiliência das plantas. Microrganismos Promotores do Crescimento de plantas (MPCP) é um grupo de microrganismos que promovem um efeito benéfico em plantas. Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCP) e Fungos Micorrizos Arbusculares (FMA) são dois exemplos de grupos que integram os MPCP.

A cultura de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) é economicamente muito importante em vários países. A sua longa história de cultivo levou a um processo de domesticação intensivo do crisântemo. Assim, as variedades comerciais diferem bastante da selvagem em várias características como o tamanho das flores. Porém, a qualidade das flores está dependente da presença de uma grande quantidade de nutrientes no solo. Desde modo e dado que os MPCP induzem a absorção de nutrientes, estes poderão ser uma boa ferramenta para substituir parte dos fertilizantes neste tipo de situações.

O sorgo (*Sorghum bicolor*) é uma cultura económica e socialmente importante, especialmente em zonas áridas onde é muitas vezes infestada por estriga (*Striga hermonthica*). A estriga é uma planta hemiparasita obrigatória que pode provocar perdas até 80-100% das colheitas, especialmente em países em desenvolvimento. MPCP poderão ser uma opção para a redução dos danos provocados por esta planta.

O trabalho experimental deste projeto foi dividido em três capítulos de acordo com o modelo de planta utilizado. No primeiro capítulo, foram isolados microrganismos (FMA e bactérias) a partir da rizosfera, endosfera e solo circundante de um parente selvagem de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*). Os isolados bacterianos foram submetidos a uma análise molecular e identificados. Os FMA e três dos isolados bacterianos (previamente selecionados de acordo com algumas características conhecidas por favorecerem o crescimento e resiliência de plantas) foram inoculados em cinco variedades comerciais de crisântemo para testar o seu impacto na performance de crescimento da planta em solo autoclavado e não autoclavado e no microbioma bacteriano da rizosfera das variedades testadas. Através da sequenciação dos isolados provenientes da rizosfera e endosfera do crisântemo selvagem foi possível verificar que na sua maioria eram microrganismos dos géneros *Bacillus* e *Pseudomonas*. Destes, os três isolados selecionados para os ensaios, dois pertenciam à espécie *Bacillus megaterium* e o outro à espécie *Pseudomonas savastanoi*. Os RPCP promoveram o número de nós e a biomassa da raiz das variedades comerciais de crisântemo em solo autoclavado. Por outro lado, o efeito dos FMA na biomassa da raiz foi dependente da variedade de crisântemo. Os ensaios para verificar a colonização radicular por parte dos FMA não evidenciaram colonização. Contudo, todos os inóculos tiveram impacto no microbioma bacteriano em todas as variedades comerciais. A predominância dos géneros *Bacillus* e *Pseudomonas* nos isolados recolhidos a partir do crisântemo selvagem, sugere que estas plantas selecionam microrganismos que as protegem contra patógenos e que promovem o seu crescimento. O impacto na performance de crescimento causado pela inoculação de RPCP e FAM em variedades comerciais de

crisântemo sugere uma alteração a nível da presença de fito-hormonas e um impacto no microbioma. Foi comprovado que houve um impacto no microbioma bacteriano com a inoculação dos vários MPCP.

No segundo capítulo, e de forma garantir a disponibilidade de FMA para ensaios futuros e, foi feita a propagação dos mesmos em milhete (*Panicum miliaceum*). Este ensaio foi feito em três ciclos. O inoculo de cada ciclo era proveniente do ciclo anterior. Em cada ciclo foi verificada a concentração de esporos de FMA e os respetivos tipos morfológicos. A proliferação de FMA em milhete foi bem-sucedida. Em todos os ciclos foram produzidos esporos havendo um aumento desta produção no último ciclo. Ademais, os dois tipos morfológicos de FMA encontrados na rizosfera do crisântemo selvagem foram encontrados em todos os ciclos de milhete.

Por fim, no terceiro capítulo, foi testado se FMA provenientes de crisântemo selvagem têm a capacidade de produzir um impacto na performance de crescimento e resiliência contra *Striga hermonthica*, uma planta parasita, em sorgo (*Sorghum bicolor*). Para isso, estes FMA foram inoculados em sorgo na presença e ausência de estriga e verificada a biomassa, a quantidade de água retida e o número de sementes de estriga germinadas. Foi encontrada colonização na raiz de sorgo por parte dos FMA, no entanto a estriga não demonstrou qualquer impacto neste processo. Os FMA e a estriga tiveram impacto na biomassa, na retenção de água e na resiliência do sorgo. No caso da biomassa da parte aérea da planta de sorgo, apenas estriga provocou impacto, tendo sido um impacto negativo no crescimento. No entanto, na raiz ambos os fatores interagiram entre eles sendo o controlo o que produziu mais biomassa radicular. O impacto da estriga na retenção de água foi bastante notório na raiz, aumentando os valores. A presença de estriga ou FMA levaram a um aumento da quantidade de água na raiz do sorgo. Por fim, a presença de FMA teve impacto na resiliência contra a estriga. A germinação das sementes da estriga teve uma redução de 59% na presença de FMA. Uma redução de sinais de necrose na presença de FMA e/ou estriga foi também identificada. Em sorgo foi identificada colonização por parte dos FMA provando que FMA não é restrito a nível de hospedeiro. A absorção de água por parte das plantas inoculadas com FMA foi mais elevada do que no controlo tal como era expectável, na presença de estriga este valor também foi mais elevado. A estriga deverá provocar stress aumentando a retenção de água ou tal como FMA aumentar a área de absorção e porosidade do solo produzindo o mesmo efeito. Estas mesmas plantas não mostraram sinais de necrose como aconteceu com o controlo, indicando que o aumento da retenção de água é importante para manter a planta saudável. Por fim, a redução da germinação de estriga de quase 60% demonstra que a inoculação contendo FMA originário de crisântemo selvagem poderá ser prejudicial ao desenvolvimento da estriga. FMA pode levar a este resultado através de um efeito diretamente na estriga, competindo pela absorção de nutrientes. Ou, reduzindo os estímulos recebidos pelas sementes da estriga evitando a sua germinação já que ambos respondem ao mesmo sinal. A redução desses estímulos pode ser obtida pelo bloqueio de comunicação entre as duas plantas. No entanto, mesmo com a redução da germinação de estriga, a performance de crescimento do sorgo não aumentou, portanto mais estudos são necessários para compreender estes mecanismos.

Neste estudo, foram observados resultados que poderão ser promissores. No entanto, é necessário aprofundar os conhecimentos nesta área de forma a entender como estas técnicas poderão ser aplicadas no campo. É imprescindível compreender como todo o microbioma é afetado pela inoculação de microrganismos originários de crisântemo selvagem e de que forma estas alterações impactam o crescimento e a resiliência das plantas.

Palavras-chave: microbioma, RPCP, FMA, crisântemo, estriga.

## Abstract

Interactions between microorganisms and plants have occurred for millions of years. Combining the capacity of light and CO<sub>2</sub> usage by the plants with the capacity of efficient substrate usage by their microbiota, the water-to-land-transition was possible. Since then, plants and plant microbiota have coevolved, and today, the microbiome is considered as an extension of the plant's genetic assembly. However, the agricultural revolution led to progressive alterations in habitat, crop managing practices, and breeding to promote crop production changing their evolutionary trajectory. Moreover, the trajectory of the co-evolution between crops and their microbiome is also changed. The soil, the plant, and the microorganisms are connected and impact each other. The rhizosphere is considered to be the most dynamic interface on Earth, and the microorganisms that exist there might promote plant growth and resilience. These microorganisms are referred to as Plant Growth-Promoting Microbes (PGPM), including Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF).

The experimental work is divided into three chapters according to the plant-model. In the first one, microorganisms (AMF and bacteria) were collected from a wild relative of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) was submitted for molecular analysis. Three of them (previously selected by plant growth-promoting traits) were inoculated on five chrysanthemum commercial cultivars to test their impact on plant performance and root microbiome assembly. AMF was also inoculated with the same propose. PGPR impacted the number of nodes and root biomass of commercial chrysanthemum cultivars. AMF affected the root biomass of cultivars of chrysanthemum cultivated in autoclaved and non-autoclaved soil. AMF root colonization was not found. All the treatments impacted the microbiome assembly in the tested commercial cultivars. Concluding, PGPR and AMF obtained from wild chrysanthemum impacted growth performance and microbiome assembly in five commercial cultivars.

In the second one, AMF collected from wild chrysanthemum were proliferated using millet (*Panicum miliaceum*) as a host in order to have an inoculum of two morphotypes. The two morphotypes of AMF spores were successfully multiplied in millet roots and sowing soil. Millet appeared as a good host for the propagation of AMF spores.

Lastly, in the third chapter, the same AMF were inoculated in sorghum (*Sorghum bicolor*) to test their impact on plant performance and resilience against *Striga hermonthica*, a parasitic weed. Sorghum growth performance and resilience were impacted by the presence of *S. hermonthica* and/or AMF in the soil. AMF root colonization on sorghum was observed and AMF treatments reduced *S. hermonthica* germination by 59%. However, the reduction of the germination of *S. hermonthica* seeds did not increase the sorghum growth performance, so more studies are needed to understand these mechanisms.

Promising results were found, but additional work is needed to understand how these inocula are best applied in the field and the mechanisms behind it. It is also necessary to comprehend how the entire microbiome is affected by the inocula and how these changes impact growth performance and resilience in both, chrysanthemum, and sorghum species.

Key-words: microbiome, PGPR, AMF, chrysanthemum, *Striga hermonthica*.

## References

- Adame-Alvarez, R. M., Mendiola-Soto, J, Heil M. (2014). Order of arrival shifts endophyte-pathogen interactions in bean from resistance induction to disease facilitation. *FEMS Microbiology Letters*, 355, 100(7).
- Armada, E., Leite, M. F., Medina, A., AzcónAzc, R., Kuramae, E. E. (2018). Native bacteria promote plant growth under drought stress condition without impacting the rhizomicrobiome. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(7). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy092>.
- Backer, R., Rokem, S., Ilangumaran G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., Smith, D. L. (2018). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9(1473). <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17 (8), 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Bonfante, P., Anca, I. A. (2009). Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Review of Microbiology*, 63, 363–383.
- Bonfante, P., Genus, A. (2010). Mechanisms underlying beneficial plant - Fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications*, 1 (48). <https://doi.org/10.1038/ncomms1046>.
- Bruno, J. F., Stachowicz, J. J., Bertness, M. D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(3), 119–125. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)00045-9).
- Callahan, B., McMurdie, P., Rosen, M., Han, A., Johnson, A., Holmes, S. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- Chen, M., Arato, M., Borghi, L., Nouri, E., Reinhardt, D. (2018). Beneficial Services of Arbuscular Mycorrhizal Fungi - From Ecology to Application. *Frontiers in plant science*, 9(1270). <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01270>
- Chen, S., Waghmode, T. R., Sun, R., Kuramae, E., Hu, C., Liu, B. (2019). Root-associated microbiomes of wheat under the combined effect of plant development and nitrogen fertilization. *Microbiome*, 7(136). <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0750-2>.
- Cipriano, M. A. P., Lupatini, M., Lopes-Santos, L., da Silva, M. J., Roesch, L. F. W., Destéfano, S. A. L., ... Kuramae, E. E. (2016). Lettuce and rhizosphere microbiome responses to growth promoting *Pseudomonas* species under field conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(12), 1–13. <https://doi.org/10.1093/femsec-fiw197>.
- Clark, J. S., Nemergut, D., Seyednasrollah, D., Turner, P. J., Zhang, S. (2017). Generalized joint attribute modeling for biodiversity analysis: median-zero, multivariate, multifarious data. *Ecological Monographs*, 87(1), 34-56. <https://doi.org/10.1002/ecm.1241>.
- Cordovez, V., Dini-Andreote, F., Carrión, V. J., Raaijmakers, J. M. (2019). Ecology and Evolution of Plant Microbiomes. *Annual Review of Microbiology*, 73(1), 69–88. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062524>.
- Cruz, A. F., Ishii, T. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungal spores host bacteria that affect nutrient biodynamics and biocontrol of soilborne plant pathogens. *Biology Open*, 1, 52–57. <https://doi.org/10.1242/bio.2011014>.

- Da Silveira, A. P. D., Lima, A. M. L. P. (1996). Influência De Diferentes Espécies De Fungo Micorrízico Arbuscular No Desenvolvimento Do Crisântemo. *Bragantia, Campinas*.
- Escudero-Martinez, C., Bulgarelli, D. (2019). Tracing the evolutionary routes of plant–microbiota interactions. *Current Opinion in Microbiology*, 49, 34–40 Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.09.013>.
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., Nogueira, D. A. (2011). Experimental designs: um pacote R para análise de experimentos. *Revista da Estatística da UFOP*, 1, 1-9.
- Hargreaves, S. K., Williams, R. J., Hofmockel, K. S. (2015) Environmental Filtering of Microbial Communities in Agricultural Soil Shifts with Crop Growth. *PLoS ONE*, 10(7): e0134345. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134345>.
- Hoeven, A. P. (1987) Chrysanthemum production in the Netherlands. *Acta Horticulturae* 197.
- Kiers, E. T., Duhamel, M., Beesetty, Y., Mensah, J. A., Franken, O., Verbruggen, E., ... Bücking, H. (2011). Reciprocal Rewards Stabilize Cooperation in the Mycorrhizal Symbiosis. *Science*, 333(6044), 880–882.
- Kuramae, E. E., Derksen, S., Schlemper, T. R., Dimitrov, M. R., Costa, O. Y. A., da Silveira, A. P. D. (2020). Sorghum Growth Promotion by *Paraburkholderia tropica* and *Herbaspirillum frisingense*: Putative Mechanisms Revealed by Genomics and Metagenomics. *Microorganisms*, 8(5), 725. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050725>.
- Kuramae, E. E., Gamper, H. A., Van Veen, J. A., Kowalchuk, G. A. (2011). Soil and plant factors driving the community of soil-borne microorganisms across chronosequences of secondary succession of chalk grasslands with neutral pH. *FEMS Microbiology Ecology*, 77(2), 285-294. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01110.x>.
- Kuramae, E. E., Hillekens, R. H. E., De Hollander, M., Van der Heijden, M. G. A., Van den Berg, M., Van Straalen, N. M., Kowalchuk, G. A. (2013). Structural and functional variation in soil fungal communities associated with litter bags containing maize. *FEMS Microbiology Ecology*, 84(3), 519-531. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12080>.
- Lenzemo, V. W. (2004). The tripartite interaction between Sorghum, *Striga hermonthica*, and arbuscular mycorrhizal fungi. *Tropical Resource Management Papers*, 55.
- Li, X., Jousset, A., de Boer, W., Carrión, V. J., Zhang, T., Wang, X., Kuramae, E. E. (2019). Legacy of land use history determines reprogramming of plant physiology by soil microbiome. *The ISME Journal*, 13, 738–751. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0300-0>.
- López Ráez, J., Shirasu, K., Foo, E. (2017). Strigolactones in Plant Interactions with Beneficial and Detrimental Organisms: The Yin and Yang. *Trends in Plant Science*, 22(6), 527-537.
- Lupatini, M., Korthals, G. W., De Hollander, M., Janssens, T. K. S., Kuramae, E. E. (2017). Soil microbiome is more heterogeneous in organic than in conventional farming system. *Frontiers in Microbiology*, 7(2064). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02064>.
- Lupatini, M., Korthals, G. W., Roesch, L. F. W., Kuramae, E. E. (2019). Long-term farming systems modulate multi-trophic responses. *Science of the Total Environment*, 646, 480–490. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.323>.

- Lupatini, M., Suleiman, A. K. A., Jacques, R. J. S., Pylro, V. S., van Veen, J. A., Kuramae, E. E., Roesch, L. F. W. (2019). Moisture is more important than Temperature for Assembly of Both Potentially Active and Whole Prokaryotic Communities in Subtropical Grassland. *Microbial Ecology*, 77(2), 460-470. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1310-1>.
- Ma, H. kun, Pineda, A., Hannula, S. E., Kielak, A. M., Setyarini, S. N., Bezemer, T. M. (2019). Steering root microbiomes of a commercial horticultural crop with plant-soil feedbacks. *Applied Soil Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103468>.
- mMa, Y. P., Chen, M.-M., Wei, J.-X., Zhao, L., Liu, P.-L., Dai, S.-L., Wen, J. (2016). Origin of Chrysanthemum cultivars - Evidence from nuclear low-copy LFY gene sequences. *Biochemical Systematics and Ecology*, 65, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.02.010>.
- Mahmoud, B. A., Hamma, I. L., Abdullahi, S., Adamu, Y. (2013). Common *Striga* control methods in Nigeria: A review. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 3(9), 26-29.
- Masteling, R., Lombard, L., de Boer, W., Raaijmakers, J. M., Dini-Andreote, F. (2019). Harnessing the microbiome to control plant parasitic weeds. *Current Opinion in Microbiology*, 49, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.09.006>.
- Moretti, L. G., Cruciol, C. A. C., Bossolani, J. W., Momesso, L., Garcia, A., Kuramae, E., Hungria, M. (2020). Bacterial consortium and microbial metabolites increase grain quality and soybean yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, in press. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00263-5>.
- Moretti, L. G., Cruciol, C. A. C., Kuramae, E. E., Bossolani, J. W., Moreira, A., Costa, N. R., Alves, C. J., Pascoaloto, I. M., Rondina, A. B. L., Hungria, M. (2020). Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield. *Agronomy Journal*, 112(1), 418–428. <https://doi.org/10.1002/agj2.20010>.
- Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A., Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, 32, 429–448. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.005>.
- Nxele, X., Klein, A., Ndimba, B. K. (2017). Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in Sorghum plants. *South African Journal of Botany*, 108, 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.11.003>.
- Obilana, A.T., Ramaiah, K.V. (1992). *Striga* (witchweeds) in Sorghum and Millet: knowledge and future research needs. *Sorghum and Millets diseases: a second world review*, 187-201.
- Othira, J. O., Wachira, F. N., Onek, L. A. (2012). Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in protection of maize (*Zea mays* L.) against witchweed (*Striga hermonthica* Del Benth) infestation. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 4(3), 37–44. <https://doi.org/10.5897/JABSD12.007>.
- Karagoz, F. P. & Dursun, A. (2019). Assessment of Different PGPR Formulations as a Biological Fertilizer in Cultivation of Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*). *Frontiers in Environmental Microbiology*, 5(2), 48. <https://doi.org/10.11648/j.fem.20190502.12>.
- Pérez-Jaramillo, J. E., Mendes, R., Raaijmakers, J. M. (2016). Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology*, 90(6), 635–644. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0337-7>.



- Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., Van Der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11, 789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rozpadek, P., Domka, A. M., Nosek, M., Wazny, R., Jedrzejczyk, R. J., Wiciarz, M., & Turnau, K. (2018). The role of strigolactone in the cross-talk between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Mucor* sp. *Frontiers in Microbiology*, 9(441). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00441>.
- Sansinenea E. (2019) *Bacillus* spp.: As Plant Growth-Promoting Bacteria. *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms*, 11, 225-237. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3\\_11](https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3_11)
- Schlemper, T. R., Dimitrov, M. R., Silva Gutierrez, F. A. O., van Veen, J. A., Silveira, A. P. D., Kuramae, E. E. (2018). Effect of *Burkholderia tropica* and *Herbaspirillum frisingense* strains on Sorghum growth is plant genotype dependent. *PeerJ*, 6(e5346). <https://doi.org/10.7717/peerj.5346>.
- Schlemper, T. R., Leite, M. F. A., Lucheta, A. R., Shimels, M., Bouwmeester, H. J., van Veen, J. A., Kuramae, E. E. (2017). Rhizobacterial community structure differences among Sorghum cultivars in different growth stages and soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(8). <https://doi.org/10.1093/femsec/fix096>.
- Schlemper, T. R., van Veen, J. A., Kuramae, E. E. (2018). Co-variation of bacterial and fungal communities in different Sorghum cultivars and growth stages is soil dependent. *Microbial Ecology*, 76, 205-214. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1108-6>.
- Shilpa, S., Minakshi, Kaushal, R., Chauhan, A. (2018). Characterization of efficient plant growth promoting rhizobacteria associated with chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 1547–1554.
- Silva, F. S. B., Yano-Melo, A. M., Brandão, J. A. C., Maia, L. C. (2005). Sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi using Tris-CHI buffer in addition to nutrient solutions. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36(4), 327–332. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822005000400004>.
- Silvana, V. M., Carlos, F. J., Lucía, A. C., Natalia, A., & Marta, C. (2020). Colonization dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in *Ilex paraguariensis* crops: Seasonality and influence of management practices. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 183–188. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.03.017>
- Smith, M. E., Facelli, J. M., Cavnano, T. R. (2018). Interactions between soil properties, soil microbes and plants in remnant-grassland and old-field areas: a reciprocal transplant approach. *Plant and Soil*, 433(1–2), 127–145. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3823-2>.
- Sugiura, Y., Akiyama, R., Tanaka, S., Yano, K., Kameoka, H., Marui, S., Saito, M., Kawaguchi, M., Akiyama, K., & Saito, K. (2020). Myristate can be used as a carbon and energy source for the symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(41), 25779–25788. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006948117>.
- Suleiman, A. K. A., Lourenço, K. S., Pitombo, L., Mendes, L. W., Roesch, L. F. W., Pijl, A. S., do Carmo, J. B., Cantarella, H., Kuramae, E. E. (2018). Recycling organic residues in agriculture impacts soil-borne microbial community structure, function and N<sub>2</sub>O emissions. *Science of the Total Environment*, 631-632, 1089-1099. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.116>.

- Uroz, S., Courty, P. E., Oger, P. (2019). Plant Symbionts Are Engineers of the Plant-Associated Microbiome. *Trends in Plant Science*, 24, 905–916. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.06.008>.
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., Piche, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and environmental microbiology*, 64(12), 5004–5007. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.5004-5007.1998>.
- Wang, Y., Wang, M., Li, Y., Wu, A., Huang, J. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nitrogen acquisition of *Chrysanthemum morifolium* under salt stress. *PLoS ONE*, 13(4).
- Wei, Z., Gu, Y., Friman, V. P., Kowalchuk, G. A., Xu, Y., Shen, Q., Jousset, A. (2019). Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health. *Science Advances*, 5(9), 759–784. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw0759>.
- Wickham H (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4. <https://ggplot2.tidyverse.org>.