



**HAL**  
open science

# Evaluation et gestion des potentialités microbiennes du sol pour l'amélioration de la tolérance du caroubier aux contraintes hydriques

Hamza Khassali

► **To cite this version:**

Hamza Khassali. Evaluation et gestion des potentialités microbiennes du sol pour l'amélioration de la tolérance du caroubier aux contraintes hydriques. Sciences agricoles. Université Montpellier; Université Cadi Ayyad (Marrakech, Maroc). Faculté des sciences Semlalia, 2020. Français. NNT : 2020MONTG052 . tel-03329633

**HAL Id: tel-03329633**

**<https://theses.hal.science/tel-03329633>**

Submitted on 31 Aug 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Ecophysiologie et adaptation des plantes

École doctorale GAIA

Unité de recherche [Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes]

En partenariat international avec [Faculté des Sciences Semlalia, MAROC]

## Evaluation et gestion des potentialités microbiennes du sol pour l'amélioration de la tolérance du caroubier aux contraintes hydriques

Présentée par Hamza KHASSALI

Le 16 Décembre 2020

Sous la direction de Yves PRIN  
et Lahcen OUAHMANE

Devant le jury composé de

Mr. Yedir OUHDOUCH, Professeur d'enseignement supérieur, Université Cadi Ayyad, Marrakech	Président
Mr. Mohamed FARISSI, Professeur habilité, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal	Rapporteur
Mr. Thierry HEULIN, Directeur de recherche DR1, CNRS, Cadarache, Saint-Paul-Lez-Durance	Rapporteur
Mme. Sophie GAUDRIAULT, Directrice de recherche DR2, INRA, Montpellier	Examinatrice
Mr. Hervé SANGUIN, Chercheur, Cirad, Montpellier	Invité
Mr. Alex BAUMEL, Maître de conférences, Université Aix-Marseille, Marseille	Invité
Mr Yves PRIN, Chercheur, Cirad, Montpellier	Directeur
Mr. Lahcen OUAHMANE, Professeur habilité, Université Cadi Ayyad, Marrakech	Directeur



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER

*“Your dream doesn’t have an expiration date. Take a deep breath and try again.”*

*Kathy WITTEN*

*Je dédie ce travail*

### **À MON TRÈS CHER PÈRE**

*Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme. En témoignage de toutes ses années de sacrifices, de sollicitudes, d'encouragements et de prières.*

### **À MA TRÈS CHÈRE MÈRE**

*Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifices. Ta prière et tes bénédictions m'ont été d'un grand réconfort et ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

### **À MES SŒURS IMANE, MERYEM, SALMA ET ASSIYA**

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement à vous, Puisse Allah vous protéger, garder et renforcer notre fraternité. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

## REMERCIEMENTS

---

Le grand merci, c'est à Dieu, le puissant qui m'a aidé à réaliser ce travail.

Le présent travail a été réalisé dans le cadre du PHC « Partenariat Hubert Curien Toubkal » programme de coopération bilatérale franco-marocain, le programme ANR « DYNAMIC » Décryptage des réseaux symbiotiques au sein des agro-écosystèmes méditerranéens à caroubier, et le projet BARaCa « Optimisation écologique des interactions biotiques pour l'amélioration de la résistance au stress hydrique du caroubier (*Ceratonia siliqua*) ».

Je tiens à remercier mes directeurs de thèse en la personne de M. Yves PRIN et M. Lahcen OUAHMANE, pour la qualité de leur encadrement, leur disponibilité, leur dévouement et leur confiance. Vos remarques et consignes ont été du plus grand intérêt. J'ai bénéficié d'un très bon encadrement et de précieux conseils qui m'ont permis de mener ce travail à terme dans les meilleures conditions possibles.

Je tiens à remercier mon encadrant, Hervé SANGUIN, pour ses efforts et sa compréhension, son dévouement et ses qualités humaines qui resteront pour moi un exemple, soyez assuré de ma profonde reconnaissance. Cette thèse est le fruit d'une collaboration de trois années riches d'enseignements, de rigueur, de précision, que de qualités que je tenterai de conserver tout au long de ma carrière.

J'adresse tous mes remerciements à Monsieur Alex BAUMEL, pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'il m'a prodigués. C'est un honneur pour moi d'avoir pu bénéficier de ses compétences scientifiques et humaines.

Un très grand merci à Estelle TOURNIER, pour son aide dans mes premiers pas dans le monde moléculaire, l'extraction d'ADN, PCR...

Mr. Frédéric MAHÉ, pour son aide des plus précieux, en particulier pour l'analyse de nos métadonnées. Un grand merci du fond du cœur.

Mes remerciements s'adressent aussi naturellement et, en particulier, à mes rapporteurs, mes examinateurs et, en général, à l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté de donner leurs appréciations finales. C'est un honneur pour moi de vous avoir parmi les membres de mon jury.

Je tiens aussi à remercier Monsieur Robin DUPONNOIS, Directeur du LSTM et Madame Claire NEEMA, Directrice de l'UMR BGPI, qui m'ont accueilli au sein de leur laboratoire.

Je remercie tous les membres permanents et non-permanents du LSTM, (Laboratoires des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes) qui de près ou de loin ont participé à avancer et finaliser ce mémoire. Merci pour les conseils, les services et échanges tant au niveau scientifique que technique. J'ai passé 3 années (trop courtes) très agréables, grâce à vous. Difficile de tous vous citer tant vous avez été nombreux et je vous prie de m'excuser auprès de tous ceux que je n'ai pas nommés mais que je n'ai pas oublié. J'exprime toute ma gratitude à Souhir SOUSSOU, pour tous les beaux moments, et le covoiturage gratuit, à Naima REZKALLAH, pour ses conseils, et ses repas toujours délicieux durant le Ramadan, à Alexandre GEOFFROY, pour les moments de rigolade, et un remerciement spécial à Christine LE ROUX, pour sa sympathie, et ses nombreuses invitations culturelles et culinaires. Merci aussi à Nathalie CLAUDÉ et Cathy MORTIER, pour leur aide dans les tâches administratives parfois compliquées mais qui ont toujours su trouver les bonnes solutions.

Je remercie également toutes les personnes du Laboratoire de Biotechnologie Microbienne, Agrosiences et Environnement (BioMAgE), avec qui j'ai eu beaucoup de plaisir à travailler. En premier lieu, son responsable Mohamed HAFIDI pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire et pour sa sympathie. Un très grand merci pour tout. Un grand merci également aux autres chercheurs pour leurs aides et leurs conseils, spécialement Elmostapha OUTAMAMAT, pour son accompagnement dans les manip d'extraction des spores et le dénombrement. Je remercie tous les membres du laboratoire dont j'ai eu le plaisir de croiser la route et qui ont largement contribué au bon déroulement de mes 3 années de thèse.

Je voudrais également remercier toutes les personnes de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Marrakech, en la personne de Mohamed Najib AL FEDDY, le coordinateur de l'unité de recherche sur la protection des plantes, pour ses efforts, sa sympathie et pour les moments de convivialité. Je tiens également à remercier Mohammed BOUSKOUT, Issam JADRANE, Lamy JELDI, Meriem ZAARAOUA, Hasna SAMMAMA et Soukaina RAZZOUK, avec lesquels j'ai partagé des moments professionnels inoubliables et de très agréables moments de partages conviviaux.

Merci à toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à ce travail de thèse.

## Résumé

---

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), est une constituante majeure de l'écosystème méditerranéen, jouant un rôle culturel et industriel important dans le pourtour méditerranéen. Cependant, ces dernières décennies connaissent un déclin du taux de réussite des plantations de caroubiers, notamment en condition d'irrigation limitante. La conservation de cette espèce est donc fortement dépendante de notre capacité à améliorer sa résistance face à l'aggravation des périodes de sécheresse. L'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires, a été proposée comme une stratégie prometteuse pour améliorer la tolérance du caroubier face à la sécheresse. Cependant, les mycorhizes ne représentent qu'une partie du microbiote bénéfique pour la croissance des plantes, et les cortèges microbiens natifs, par exemple associés aux plantes pionnières de l'habitat du caroubier, pourraient représenter des sources microbiennes bénéfiques pour la survie du caroubier face au changement climatique.

Les objectifs de ce travail sont (1) la caractérisation du microbiote du sol dans différents habitats associés au caroubier au Maroc, et la détermination de leur spécificité en lien avec les composantes végétales, (2) d'évaluer leur impact sur la croissance et résistance du caroubier en utilisant ces sols comme bio-inoculants. Les hypothèses sont (1) que le microbiote du sol est structuré au sein d'un habitat par la diversité floristique associée et que (2) les spécificités du microbiote du sol et des racines sont des déterminants majeurs de la croissance du caroubier et de son niveau de résistance à la sécheresse.

Les résultats ont montré une prédominance des actinobactéries, protéobactéries et ascomycètes dans deux habitats majeurs du caroubier, marquée par des divergences fonctionnelles entre le Nord et le Sud. L'utilisation comme bio-inoculant de microbiotes du sol associés à différentes composantes végétales des habitats à caroubier a montré des performances similaires entre le microbiote natif du caroubier et ceux associés à l'orge et au genêt blanc. Par contre, le microbiote natif du caroubier a conféré une faible résistance face à des conditions de sécheresse, à l'inverse de celui provenant du pistachier lentisque. Les performances de croissance en condition non limitante en eau pourraient être liés à l'action conjointe de mycorhizes et de rhizobia, alors que la résistance à la sécheresse semble être conférée principalement par l'action de champignons endophytes de type DSE (dark septate endophytes), et potentiellement de mycorhizes. Le pistachier lentisque apparaît comme une cible prometteuse pour améliorer la résistance des caroubiers à la sécheresse en développant l'ingénierie de microbiotes naturels (transplantation de microbiotes du sol ou gestion des microbiotes du sol par couvert végétal).

**Mots clés :** Caroubier, compromis, inoculation, microbiota, mycorhize, sécheresse

## Abstract

---

The carob tree (*Ceratonia siliqua* L.), is a major component of the Mediterranean ecosystem, playing an important cultural and industrial role in the Mediterranean area. However, in recent decades the success rate of carob tree plantations has been declining, particularly under limited irrigation conditions. The conservation of this species is therefore highly dependent on our ability to improve its resistance to the worsening of drought periods. The use of arbuscular mycorrhizal fungi has been proposed as a promising strategy to improve the tolerance of the carob tree to cope with drought. However, mycorrhizae represent only a part of the beneficial microbiota for plant growth, and native microbial communities, for example associated with pioneer plants in the carob tree habitat, could represent beneficial microbial sources for the survival of the carob tree in a climate change context.

The objectives of this work are (1) to characterise the soil microbiota in different habitats associated with the carob tree in Morocco, and to determine their specificity in relation to the major plant components, (2) to assess their impact on the growth and resistance of the carob tree by using these soils as bio-inoculants. The hypotheses are (1) that the soil microbiota is structured within a habitat by the associated floristic diversity and (2) that the specificities of the soil and root microbiota are major determinants of the growth of the carob tree and its level of resistance to drought.

The results showed a predominance of actinobacteria, proteobacteria and ascomycetes in two major carob tree habitats, characterised by functional divergences between North and South. The use as a bio-inoculant of the soil microbiota associated with different plant components of carob habitats has shown similar performances between the native carob microbiota and those associated with barley and white broom. By contrast, the native carob microbiota conferred little resistance to drought conditions, unlike that of the lentisk tree. Growth performance in non-water-limiting conditions could be linked to the joint action of mycorrhizae and rhizobia, while the improvement in drought resistance seems to be conferred mainly by the action of DSE (dark septate fungal endophytes), and potentially to mycorrhizae. The lentisk tree could be a promising target for improving carob tree resistance to drought by developing natural microbiote engineering (transplanting soil microbiotes or soil microbiote management by plant cover).

**Key-words** : Carob tree, drought, inoculation, microbiota, mycorrhizae, trade-off



تعتبر شجرة الخروب (سيراتونيا سيليكيا)، مكونا أساسيا للنظام الإيكولوجي للبحر الأبيض المتوسط، بحيث تلعب دورا بيئيا وصناعيا مهما جدا، إلا أنه في الآونة الأخيرة، نسبة نجاح زراعة هذا الأخير، أصبح ضعيفا، خاصة في ظروف ري صعبة. لهذا أصبح الحفاظ على هذا النوع ضرورة تعتمد بشكل كبير على مدى قدرتنا في تحسين مقاومة الخروب في مواجهة الجفاف. في هذا السياق، تم إقتراح الفطريات الجذرية الداخلية كإستراتيجية واعدة لتحسين مقاومة الخروب للإجهاد المائي، إلا أن هاته الأخيرة، ليست سوى جزءاً من الميكروبيوم النافع لنمو النباتات. على سبيل المثال، الميكروبيوم المحلي لبعض النباتات والتي ترتبط بشكل طبيعي مع الخروب، يمكن أن تشكل خزان من الميكروبيوم النافع من أجل مقاومة الخروب للتغيرات المناخية.

تتمثل أهداف هذا العمل في (1) وصف الميكروبيوم المرتبط بجذور النباتات المرتبطة طبيعيا مع الخروب، وتحديد خصوصيتها فيما يتعلق بمكونات النباتات، (2) لتقييم تأثيرها على نمو ومقاومة الخروب باستخدامها كلقاح طبيعي. الفرضيات، هي (1) أن الميكروبيوم المتواجد في التربة يحدد بشكل كبير من خلال تنوع النباتات المصاحبة له، وأن (2) خصوصيات الميكروبيوم المتواجد في التربة والجذور هي المحدد الرئيسي في نمو شجرة الخروب و مقاومته للجفاف.

أظهرت النتائج المحصل عليها، هيمنة كل من أكتينوباكثيريا، بروتوباكثيريا و أسكوميسيتيس في موثلين رئيسيين للخروب، مع تباين وظيفي واضح بين الشمال والجنوب. كما أظهر استخدام ميكروبيوم التربة المرتبط بمختلف النباتات نتائج مشابهة بين الميكروبيوم الأصلي لشجرة الخروب وبين الميكروبيوم المرتبط بالشعير والرتم. في المقابل، فإن الميكروبيوم الأصلي لشجرة الخروب لم يمنح مقاومة جيدة لظروف الجفاف، على عكس الميكروبيوم المرتبط بالضررو. يمكن ربط أداء نمو الخروب في حالة الري الجيدة، بالعمل المشترك للفطريات الجذرية الداخلية والريزوبيا، بينما مقاومة الجفاف ترجع أساساً إلى فطريات وربما الفطريات الجذرية الداخلية. يمكن إعتبار الضررو هدف واعد لتحسين مقاومة أشجار الخروب للجفاف من خلال العمل على الميكروبيوم الطبيعي الخاص به.

الكلمات المفتاحية : شجرة الخروب، ميكروبيوم، الميكوريز، الإجهاد المائي

# Sommaire

---

Introduction générale .....	30
Chapitre I Synthèse bibliographique .....	35
Résumé .....	36
Introduction.....	37
I. Réponse des plantes au déficit hydrique .....	40
1. Flux d'eau et résistance au déficit hydrique .....	41
2. Régulations hormonales des plantes au déficit hydrique .....	42
II. Mécanismes d'action des champignons mycorhiziens impliqués dans la modification du statut hydrique de la plante .....	44
1. Transpiration et photosynthèse .....	44
2. Régulation hormonale .....	46
3. Contrôle de la croissance racinaire et aérienne .....	47
4. Régulation des transferts d'eau.....	48
III. Potentiel et limitation des champignons mycorhiziens arbusculaires pour l'ingénierie écologique en condition de déficit hydrique .....	57
Conclusion et perspectives.....	59
Chapitre II Les communautés bactériennes et fongiques du sol diffèrent dans leur importance comme indicateur microbien des habitats marocains à caroubier .....	60
Résumé .....	61
Introduction.....	63
I. Materials and methods .....	64
1. Study sites and soil sampling .....	64
2. DNA extraction, gene amplification and sequencing .....	64
3. Data processing.....	65
4. Statistics .....	66
II. Results.....	67
1. Global composition of belowground microbiota.....	67
2. Habitat-related microbiota taxa .....	69
3. Soil properties-related microbial taxa .....	74
4. Plant-related microbiota taxa.....	75
5. Characteristics of <i>Glomeromycota</i> community .....	75
III. Discussion .....	79
Conclusion .....	82
Chapitre III Rôle différentiel des mycorhizes et de champignons endophytes de type DSE dans les compromis croissance-résistance à la sécheresse chez le caroubier .....	83

Résumé .....	84
Introduction.....	86
I. Materials and Methods.....	88
1. Study site and soil sampling.....	88
2. Carob growth experiments .....	88
3. Carob growth, nutrition, physiology and mycorrhizal parameters .....	89
4. DNA extraction, gene amplification, sequencing.....	90
5. Data processing.....	91
6. Statistics .....	91
II. Results.....	93
1. Characterisation of soil-based bio-inoculants (SoBIOs).....	93
2. Impact of SoBIOs on carob growth (WATER).....	95
3. Impact of SoBIOs on carob drought resistance (WATER vs DROUGHT).....	96
4. Impact of SoBIOs on root microbiota features (WATER) .....	99
5. Impact of drought on root microbiota features (WATER vs DROUGHT) .....	104
III. Discussion .....	109
Conclusion .....	112
Conclusion générale et perspectives.....	113
Références bibliographiques.....	113
Annexe.....	144

## Liste des figures

---

<b>Figure I.</b> Localisation des deux habitats (nord « Rif » et sud « Ourika ») sélectionnés pour l'étude .....	34
<b>Figure I.1.</b> Les stratégies de réponse (esquive, évitement, tolérance et recouvrement) des plantes au déficit hydrique. Figure modifiée à partir de (Chen et al., 2016). .....	40
<b>Figure I.2.</b> Effet des CMA dans la résistance des plantes au stress hydrique .....	45
<b>Figure II.1.</b> Phylum level distribution of (A) bacterial and (B) fungal communities among plant species from the South and North habitats .....	68
<b>Figure II.2.</b> Microbiota structure analysis from plant species of the North (red) and South (blue) habitats .....	70
<b>Figure II.3.</b> Principal component analysis of soils collected under different plant species from North and South habitats based on soil properties .....	74
<b>Figure II.4.</b> Comparison of (A) bacterial and (B) fungal community membership (Venn diagram analysis) among <i>C. siliqua</i> and <i>P. lentiscus</i> from both the North and South habitats. ....	76
<b>Figure II.5.</b> <i>Glomeromycota</i> genus distribution among plant species from the North and South habitats. ....	77
<b>Figure II.6.</b> Bipartite interaction network formed by <i>Glomeromycota</i> (genus taxonomic level; lower boxes) and major plants species (upper boxes) in the North (A) and South (B) habitats .....	78
<b>Figure III.1.</b> Flowchart of experimental procedures from the sampling of native soils from South Moroccan carob habitats to the setup of carob growth experiments inoculated with native soils (SoBio) under WATER (no water deficiency) and DROUGHT (water deficiency) conditions .....	89
<b>Figure III.2.</b> Hierarchical clustering analysis of native soils based on the OTUs composition of the bacterial (A) and fungal (B) communities .....	94
<b>Figure III.3.</b> Box plots for growth and mycorrhizal parameters measured on five months old carob plantlets under no stress conditions .....	96
<b>Figure III.4.</b> Comparison of carob growth, physiology and mycorrhizal colonisation inoculated with different SoBIOs under WATER and DROUGHT conditions. Principal component analysis of the 10 main carob parameters. (A) Top panel indicate each carob individual and colours the type of SoBIO. The individuals are grouped by SoBIO origin and WATER or DROUGHT conditions .....	97
<b>Figure III.5.</b> Plot interaction effect between WATER and DROUGHT conditions considering the use of SoBIOs for shoot height (A), root collar diameter (B), shoot dry weight (C), root dry weight (D), root / shoot ratio (E), mycorrhizal arbuscular content (F) and vesicular content (G), total chlorophyll (H), relative water content (I) and stomatal conductance (J). ....	98
<b>Figure III.6.</b> non-metric multidimensional scaling (nMDS) analysis of (A) bacterial and (B) fungal community structures under WATER conditions .....	100
<b>Figure III.7.</b> Volcano plots illustrating the differences in carob root bacterial OTU patterns associated with different SoBIOs compared with that associated with the native <i>C. siliqua</i> SoBIO used as reference (WATER condition) .....	102

**Figure III.8.** Volcano plots illustrating the differences in carob root fungal OTU patterns associated with different SoBIOs compared with that associated with the native *C. siliqua* SoBIO used as reference (WATER condition) ..... 103

**Figure III.9.** Distribution of root bacterial (A-B) and fungal (C-D) richness and diversity of carob seedlings inoculated with SoBIOs. The water status is indicated in dark blue for WATER and pale blue for DROUGHT. .... 104

**Figure III.10.** non-metric multidimensional scaling (nMDS) analysis of (A) bacterial and (B) fungal community structures under DROUGHT condition..... 105

**Figure III.11.** Volcano plots illustrating the differences in carob root bacterial OTU patterns associated with different SoBIOs compared with that associated with the native *C. siliqua* SoBIO used as reference (DROUGHT condition) ..... 107

**Figure III.12.** Volcano plots illustrating the differences in carob root fungal OTU patterns associated with different SoBIOs compared with that associated with the native *C. siliqua* SoBIO used as reference (DROUGHT condition) ..... 108

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau I.1.</b> Coûts / bénéfices entre les champignons mycorhiziens arbusculaires et les plantes .....	39
<b>Tableau I.2.</b> Liste d'expérimentations utilisant des CMA (avec ou sans co-inoculation avec des bactéries rhizosphériques) pour évaluer la réponse des plantes au stress hydrique .....	50
<b>Table II.1.</b> List of microbial indicator taxa associated with the North or South habitats.....	71

## Sommaire des annexes

---

<b>Figure I.S1.</b> Caroubier multi-centenaire dans une parcelle agricole (Raguza, Sicile) .....	145
<b>Figure I.S2.</b> Aire de répartition du caroubier (adapté d'après Quézel and Médail, 2003) ....	146
<b>Table II.S1.</b> Alphadiversity characteristics of soil microbiota associated with major plant species of North and South carob habitats.....	149
<b>Table II.S2.</b> Soil physico-chemical characteristics related to plant species .....	150
<b>Table II.S3.</b> Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with Moroccan carob habitats <sup>(1)</sup> .....	151
<b>Table II.S4.</b> Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with Moroccan carob habitats <sup>(1)</sup> .....	153
<b>Figure II.S1.</b> Comparison of (A,B) bacterial and (C,D) fungal community membership (Venn diagram analysis) among plant species from (A,C) North and (B,D) South carob habitats. For each venn category, the number of OTUs is indicated. VG, <i>Vachellia gummifera</i> ; CA, <i>Cistus albidus</i> ; CS, <i>Ceratonia siliqua</i> ; GA, <i>Globularia alypum</i> ; LD, <i>Lavandula dentata</i> ; PL, <i>Pistacia lentiscus</i> ; RM, <i>Retama monosperma</i> .....	155
<b>Figure II.S2.</b> Mycorrhizal spore density in soils associated with plant species in North and South carob habitats. Vg, <i>Vachellia gummifera</i> ; Ca, <i>Cistus albidus</i> ; Cs, <i>Ceratonia siliqua</i> ; Ga, <i>Globularia alypum</i> ; Ld, <i>Lavandula dentata</i> ; Pl, <i>Pistacia lentiscus</i> ; Rm, <i>Retama monosperma</i> .....	156
<b>Figure II.S3.</b> Endomycorrhizal species isolated from the different plant soils associated with <i>C. siliqua</i> in south and north of Morocco .....	157
<b>Figure II.S4.</b> The dominant endomycorrhizal morphotypes isolated from the different plant soils associated with <i>C. siliqua</i> in south and north of Morocco.....	158
<b>Figure II.S5.</b> Endomycorrhizal species isolated from the different plant soils associated with <i>C. siliqua</i> in Ourika valley (Morocco).....	159
<b>Figure II.S6.</b> The dominant endomycorrhizal morphotypes isolated from the different plant soils associated with <i>C. siliqua</i> in Ourika valley (Morocco).....	160
<b>Figure II.S7.</b> Mycorrhizal roots of <i>C. siliqua</i> representing different structures: vesicles (V), hyphae (H), arbuscules (A) and spores (S).....	161
<b>Figure III.S1.</b> Hierarchical clustering analysis of native soils based on the phylum composition of the bacterial (A) and fungal (B) communities. The native soils were sampled under six plant species ( <i>C. siliqua</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>R. monosperma</i> , <i>G. alypum</i> , <i>H. vulgare</i> , <i>V. faba</i> ) representative of natural carob habitats and carob-based traditional agrosystems (A). Relative abundance of microbial taxa at the phylum level were log <sub>10</sub> transformed before clustering (Euclidean distance, Ward's method). Heatmaps were split in 3 soil origin clusters and 3-4 microbiota clusters. ....	162
<b>Figure III.S2.</b> Membership analysis of soil bacterial OTUs among SoBIOs from six origins <i>C. siliqua</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>R. monosperma</i> , <i>G. alypum</i> , <i>H. vulgare</i> , <i>V. faba</i> .....	163
<b>Figure III.S3.</b> Membership analysis of soil fungal OTUs among SoBIOs from six origins, <i>C. siliqua</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>R. monosperma</i> , <i>G. alypum</i> , <i>H. vulgare</i> , <i>V. faba</i> .....	164

<b>Figure III.S4.</b> Taxonomic composition of bacterial community at (A) the phylum and (B-F) genus levels for each SoBIO origin, <i>C. siliqua</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>R. monosperma</i> , <i>G. alypum</i> , <i>H. vulgare</i> , <i>V. faba</i> .....	165
<b>Figure III.S5.</b> Taxonomic composition of fungal community at (A) the phylum and (B-F) genus levels for each SoBIO origin, <i>C. siliqua</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>R. monosperma</i> , <i>G. alypum</i> , <i>H. vulgare</i> , <i>V. faba</i> .....	166
<b>Figure III.S6.</b> Heatmap of Spearman Rho correlations among the 23 main carob measured in WATER condition. The number in each square correspond to R estimated by Spearman correlation. White square indicates no significant correlation ( $P > 0.05$ ). SH, shoot height (SH); RCD, root collar diameter; NL, number of leaves; NLF, number of leaflets; SFW, shoot fresh weight; SDW, shoot dry weight; RFW, root fresh weight; RDW, root dry weight; RDW_SDW, root / shoot ratio; SRN, secondary root number; TRA, total root area; PRL, primary root length; RWC, relative water content; GLW gradual loss of water; COND, stomatal conductance; CHL_A, chlorophyll A; CHL_B, chlorophyll B; T_CHL, total chlorophyll content; MS, membrane stability; MY_F, mycorrhizal colonization frequency; MY_I, mycorrhizal colonization intensity; MY_AC, mycorrhizal arbuscular content; MY_VC, mycorrhizal vesicular content.....	167
<b>Figure III.S7.</b> Taxonomic composition of carob root bacterial community at (A) the phylum and (B-F) genus levels associated with SoBIO origins, <i>C. siliqua</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>R. monosperma</i> , <i>G. alypum</i> , <i>H. vulgare</i> , <i>V. faba</i> .....	168
<b>Figure III.S8.</b> Taxonomic composition of carob root fungal community at (A) the phylum and (B-F) genus levels associated with SoBIO origins, <i>C. siliqua</i> , <i>P. lentiscus</i> , <i>R. monosperma</i> , <i>G. alypum</i> , <i>H. vulgare</i> , <i>V. faba</i> .....	169
<b>Figure III.S9.</b> Estimation of selection rate of bacterial (A-F) taxa in the carob roots from the SoBIOs; <i>C. siliqua</i> (A), <i>P. lentiscus</i> (B), <i>R. monosperma</i> (C), <i>G. alypum</i> (D), <i>H. vulgare</i> (E), <i>V. faba</i> (F). For each category, the number and percentage of OTUs are indicated.....	170
<b>Figure III.S10.</b> Estimation of selection rate of bacterial (A-F) taxa in the carob roots from the SoBIOs; <i>C. siliqua</i> (A), <i>P. lentiscus</i> (B), <i>R. monosperma</i> (C), <i>G. alypum</i> (D), <i>H. vulgare</i> (E), <i>V. faba</i> (F). For each category, the number and percentage of OTUs are indicated.....	171
<b>Table III.S1.</b> Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with Moroccan carob habitats <sup>(1)</sup> .....	172
<b>Table III.S2.</b> Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with Moroccan carob habitats <sup>(1)</sup> .....	174
<b>Table III.S3.</b> Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with carob roots without water stress <sup>(1)</sup> .....	176
<b>Table III.S4.</b> Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with roots without water stress <sup>(1)</sup> .....	179
<b>Table III.S5.</b> Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with carob roots under water stress condition <sup>(1)</sup> .....	181
<b>Table III.S6.</b> Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with carob roots under water stress condition <sup>(1)</sup> .....	184



## Liste des publications

---

Article 1 :

**H. Khassali**, A. Baumel, F. Mahé, E. Tournier, P. Tisseyre, Y. Prin, L. Ouahmane, H. Sanguin, 2020. The belowground bacterial and fungal communities differed in their significance as microbial indicator of Moroccan carob habitats. *Ecological indicators* 114, 106341. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106341> (**publié**).

Article 2 :

**H. Khassali**, A. Baumel, F. Mahé, E. Tournier, P. Tisseyre, Y. Prin, L. Ouahmane, H. Sanguin, 2020. Differential implication of mycorrhiza and dark septate endophytes in growth-drought resistance trade-offs in carob trees. *New phytologist* (**en cours de préparation**).

## Liste des communications

---

### **5èmes Journées Francophones des Mycorhizes (06/2018) Dunkerque/France**

**Hamza Khassali**, Alex Baumel , Frédéric Mahé, Estelle Tournier, Yves Prin , Lahcen Ouahmane , Hervé Sanguin. Evaluation des performances d'inoculums microbiens natifs pour l'optimisation des itinéraires culturaux du caroubier. (**communication orale**).

### **11ème édition du Printemps de Baillarguet (06/2019) Montpellier/France**

**Hamza Khassali**, Alex Baumel , Frédéric Mahé, Estelle Tournier, Yves Prin , Lahcen Ouahmane , Hervé Sanguin. La tolérance au stress hydrique du caroubier peut elle s'expliquer par la composition de son microbiote racinaire ? (**communication orale**).

### **5èmes Journées Francophones des Mycorhizes (06/2018) Dunkerque/France**

Pierre Tisseyre, **Hamza Khassali**, Alexandre Geoffroy, Estelle Tournier, Christine Le Roux, Stefano La Malfa, Magda Bou Dagher-Kharrat, *et al.* Caractéristiques biotiques et abiotiques des agro-écosystèmes méditerranéens à base de caroubiers le long d'un gradient climatique Nord-Sud. (**communication affichée**).

### **Sféologie2018 (10/2018) Rennes/France**

Frédéric Mahé, Pierre Tisseyre, Estelle Tournier, **Hamza Khassali**, Christine Le Roux , Alexandre Geoffroy, Pascal Mirleau, *et al.* What are the ecological drivers of symbiotic

microbiome assemblages? The case of an antic affair between an iconic Mediterranean fruit tree and its symbiotic microbiome. (non participation, **communication affichée**).

**3èmes Harlan International Symposium (06/2019) Montpellier/France**

Hervé Sanguin, Frédéric Mahé, Lahcen Ouahmane, **Hamza Khassali**, Estelle Tournier, Pierre Tisseyre, Alexandre Geoffroy, *et al.* In the intimacy of an old Mediterranean affair between a fruit tree and a microbiota: perspectives in conservation and agroecology. (non participation, **communication orale**).

**International Phytobiomes Conference (12/2018) Montpellier/France**

Hervé Sanguin, Frédéric Mahé, Lahcen Ouahmane, Pierre Tisseyre, Estelle Tournier, **Hamza Khassali**, Christine Le Roux, *et al.* The human-driven impacts on a long-term affair between an iconic Mediterranean fruit tree and its microbiome. (non participation, **communication affichée**).

## Liste des abréviations

---

**ABA** : Abscisic Acid (Acide Abscissique)

**AMF** : Arbuscular Mycorrhizal Fungi

**ANR** : Agence Nationale de la Recherche

**BB** : *Bituminaria bituminosa*

**BGPI** : Biologie et génétique des interactions plante-parasite

**BioMAgE** : Biotechnologie Microbienne, Agrosiences et Environnement

**BSA** : Bovine serum albumin

**C** : Carbone

**CA** : *Cistus albidus*

**CAC** : Capacité Au Champ

**CaCO<sub>3</sub>** : Carbonate de Calcium

**CEC** : Capacité d'Echange Cationique

**CK** : Cytokinines

**Cm** : Centimètre

**CMA** : Champignons Mycorhiziens Arbusculaires

**COND** : Stomatal Conductance

**CS** : *Ceratonia siliqua*

**d'NTP** : désoxyriboNucléotide Tris-Phosphate

**DES** : Dark Septate Endophytes

**Df** : Degrees of Freedom

**DNA** : Deoxyribonucleic acid (Acide DésoxyriboNucléique)

**DSI** : Dissimilarity Index

**ECM** : Ectomycorhize

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**FC** : Field Capacity

**G** : Gramme

**GA** : *Globularia alypum*

**GRSP** : Glomalin-Related Soil Proteins

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Hydrogen peroxide (Le peroxyde d'hydrogène)  
**HC** : Hierarchical Clustering  
**HCL** : Acide Chlorhydrique  
**HOMOVA** : Homogeneity of Molecular Variance  
**HV** : *Hordeum vulgare*  
**INRA** : Institut national de la recherche agronomique  
**ITS** : Internal Transcribed Spacer ou espaceur intergénique transcrit  
**K** : Potassium  
**Kg** : Kilogramme  
**KOH** : Hydroxyde de potassium  
**LD** : *Lavandula dentata*  
**LSTM** : Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes  
**M** : Mètre  
**Mg** : Milligramme  
**Mg<sup>2+</sup>** : Magnésium  
**MIP** : Major Intrinsic Proteins  
**MI** : Millilitre  
**Mm** : Millimètre  
**Mn<sup>2+</sup>** : Manganèse  
**MPa** : Mégapascal  
**MSI** : Membrane Stability Index  
**MY\_AC** : Mycorrhizal Arbuscular Content  
**MY\_VC** : Mycorrhizal vesicular Content  
**N** : Azote  
**ND** : Not Defined  
**NM** : Northern Morocco  
**NMDS** : Non-Metric Multidimensional Scaling  
**NS** : Non Significant  
**OM** : Organic matter

**OTU** : Operational Taxonomic Unit

**P** : Phosphore

**PCA** : Principal Component Analysis

**PCR** : Polymerase Chain Reaction (Réaction de Polymérisation en Chaîne)

**PERMANOVA** : Permutational Multivariate Analysis of Variance

**PGPR** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria

**PH** : Potentiel Hydrogène

**PHC** : Partenariat Hubert Curien

**PL** : *Pistacia lentiscus*

**P-VALUE** : Probability value

**PVPP** : Polyvinylpyrrolidone

**RCD** : Root Collar Diameter

**RDW** : Root Dry Weight

**RDW\_SDW** : Root/Shoot ratio

**RM** : *Retama monosperma*

**RNA** : Ribonucleic acid

**RPM** : Rotation Par Minute

**RWC** : Relative Water Content

**SDW** : Shoot Dry Weight

**SH** : Shoot Height

**SLs** : Strigolactones

**SM** : Southern Morocco

**SoBIO** : Soil-Based-Bio-Inoculant

**T\_CHL** : Total Chlorophyll Content

**Taq** : *Thermus aquaticus*

**UMR** : Unité mixte de recherche

**VB** : *Vicia faba*

**VG** : *Vachellia gummifera*

**XIP** : X Intrinsic Proteins

## Glossaire

---

**Ajustement osmotique** : est un mécanisme effectif de résistance à la sécheresse dans une stratégie de bas potentiel hydrique de la plante. Il joue un rôle dans l'adaptation des plantes à la déshydratation, principalement par le maintien de la turgescence et la protection de fonctions cellulaires. Source : (Blum, 2017).

**Aquaporine** : est une classe de protéines membranaires, exprimées au niveau des membranes plasmiques dans de nombreux types de cellules impliquées dans le transport des fluides. Source : (Verkman, 2002).

**Conductance stomatique** : est la mesure du flux de vapeur d'eau sortant (ou de dioxyde carbone CO<sub>2</sub> entrant) d'une feuille à travers ses stomates. Généralement exprimée en mmol/m<sup>2</sup>/s. Source : (Pietragalla and Pask, 2012).

**Essence forestière** : terme forestier correspondant à l'espèce botanique d'un arbre. Qui présente un intérêt en sylviculture, ces espèces peuvent être autochtones ou exotiques. Source : (Rajemison, 2013).

**Glomaline** : une glycoprotéine produite par les champignons mycorhiziens arbusculaires, mesurée de manière opérationnelle dans les sols en tant que protéine du sol liée à la glomaline (GRSP), il est fortement corrélé avec la stabilité des agrégats du sol. Source : (Rillig, 2004a).

**Habitat** : représente un environnement écologique occupé et habité par un ensemble des êtres vivants et leurs interactions et l'ensemble des éléments physiques ou chimiques dans un écosystème. Source : <https://www.aquaportail.com/definition-887-habitat.html>.

**Potentiel hydrique** : est une mesure de l'avidité en eau d'un compartiment biologique. Le potentiel hydrique noté  $\Psi$  représente donc le potentiel de l'eau à quitter un compartiment donné. Et suivant les lois de la thermodynamique, l'eau se déplace toujours en descendant le gradient de potentiel hydrique : « H sol > H racine > H tige > H feuille > H air. Source » : (Bertrand, 2009).

**Résistance** : c'est la combinaison d'un ensemble des processus génétiques, protéiques, métaboliques qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production. Source : (Hsissou, 1994).

**Stress hydrique** : situation dans laquelle la demande en eau dépasse les ressources en eau disponibles, ce qui limite le fonctionnement de la plante. Source : (Farooq et al., 2009).

**Symbiose** : Association biologique, durable et réciproquement profitable, basé sur la coexistence régulière entre deux organismes vivants. Source : (Smith and Read, 2009).

**Tolérance** : est l'aptitude de la plante à surmonter une dégradation de son état hydrique et supporter des niveaux de déficit hydrique élevés, mais n'autorise que la survie, donc l'attente de conditions favorables pour reprendre la croissance. Source : (Vartanian and Lemée, 1984).

**Unité taxonomique opérationnelle moléculaire (en anglais Operational Taxonomic Unit OTU)** : représente un organisme (individu), un groupe taxonomique (par exemple une espèce ou à un genre), un groupe avec des relations évolutives non définies qui partagent un ensemble de caractères observés. Dans le cas des analyses moléculaires, une OTU est un regroupement de séquences nucléiques basées par exemple sur leur similarité. Cette standardisation internationale permet de comparer des données moléculaires à l'échelle de populations ou de communautés mais elle n'a pas forcément une signification biologique. Différents types de regroupements sont actuellement proposés. Un seuil de 97% de similarité est couramment utilisé en microbiologie. Source : [http://www.drive5.com/usearch/manual/otu\\_definition.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/otu_definition.html).

## Introduction générale

La durabilité des écosystèmes et agrosystèmes méditerranéens est fortement menacée par l'accélération des pressions climatiques et anthropiques (Cramer et al., 2018; Thiébaud and Moatti, 2016). Les changements climatiques affectent notamment la disponibilité des ressources en eau, avec une raréfaction des ressources en eau et un allongement des périodes de sécheresse (Polade et al., 2014). Les conséquences au niveau des plantes sont une augmentation des situations de déficit hydrique, facteur majeur limitant leur croissance et développement. Le déficit hydrique est estimé comme la cause principale de perte au niveau des cultures, dépassant celles causées par l'ensemble des agents pathogènes (Gupta et al., 2020).

Les plantes terrestres sont en situation de déficit hydrique lorsque la quantité d'eau transpirée par les feuilles excède celle absorbée par leurs racines. Pour répondre à cette contrainte, les plantes disposent de plusieurs stratégies impliquant de nombreuses fonctions phénologiques, morphologiques, physiologiques et moléculaires (**chapitre I**). Cependant, la capacité des plantes à résister au déficit hydrique varie beaucoup suivant les espèces végétales, notamment vis-à-vis de l'intensité et la durée du stress. Par conséquent, le changement climatique devrait induire dans le temps des modifications importantes de la dynamique des communautés végétales par remplacement des espèces, modification de leur abondance locale et parfois par extinction des espèces les plus vulnérables (Bussotti et al., 2014).

Dans le cas des plantes cultivées, plusieurs stratégies ont été mises en place pour améliorer la réponse des plantes au stress hydrique. La sélection et l'amélioration génétique des plantes reste la piste privilégiée, avec parmi les cibles les plus prometteuses les voies de signalisation hormonales en raison notamment de leur rôle dans l'osmorégulation (contrôle de la pression osmotique et transpiration) et la croissance et architecture des racines (exploration du sol pour les ressources en eau) (Gupta et al., 2020; Khan et al., 2018). Cependant, la sélection et l'amélioration génétique sont des processus longs et coûteux pouvant se révéler insuffisants face à des changements environnementaux rapides. L'amélioration des interactions avec des microorganismes bénéfiques, notamment au niveau racinaire constitue un champ d'investigation plus récent mais très prometteur (de la Fuente Cantó et al., 2020).

Les racines des plantes hébergent une grande diversité de microorganismes (microbiote) jouant un rôle crucial dans la croissance et la santé des plantes, ainsi que dans la dynamique des communautés végétales (Bever et al., 2012; Bulgarelli et al., 2015; de la Fuente Cantó et al.,



2020; Hardoim et al., 2015; Mendes et al., 2013). Le microbiote racinaire résulte principalement d'un processus de sélection en deux étapes, avec une première sélection de taxa microbiens du sol à la rhizosphère puis de la surface racinaire à l'intérieur des racines (Bulgarelli et al., 2013). Une acquisition directe des microorganismes à partir de la graine ou de la phyllosphère semble possible mais peu démontrée (Mitter et al., 2017; Shade et al., 2017). Néanmoins une transmission verticale entre différents endosphères dans du cas de plantes clonales a été mis en évidence (Vannier et al., 2019, 2018).

Des interactions complexes se mettent en place entre la plante et le microbiote racinaire pour faire face à des épisodes de sécheresse, avec des modifications à court terme des interactions permettant d'accroître la résistance des plantes à la sécheresse, et des modifications sur le long terme pouvant préfigurer de réponses plus efficaces lors de nouveaux épisodes de sécheresse (de Vries et al., 2020). Les performances d'un microbiote dans des conditions hydriques optimales peuvent ou non être affectées dans un contexte de déficit hydrique (Porter et al., 2019). Parmi les différentes composantes du microbiote racinaire, les champignons, notamment les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA), semblent jouer un rôle plus important que les bactéries dans la résistance des plantes au déficit hydrique (Porter et al., 2019). Les CMA sont largement étudiés pour leur rôle dans les transferts d'eau entre le sol et la plante et l'amélioration de la résistance des plantes au stress hydrique (**Chapitre I**). Néanmoins, des impacts neutres ou négatifs sont parfois observés (Andreo-Jimenez et al., 2019; Sendek et al., 2019). La variabilité des effets des CMA peut être intrinsèque aux CMA (diversité, composition, ordre de colonisation, ...) (Thonar et al., 2014; Werner and Kiers, 2015), à la génétique de la plante (Martín-Robles et al., 2018), mais aussi aux interactions avec d'autres membres du microbiote (Bournaud et al., 2018; Rillig et al., 2014; Svenningsen et al., 2018). De ce constat, les stratégies d'ingénierie écologique basées sur l'utilisation d'inoculum mono-souche peuvent se révéler peu efficace, expliquant en partie leur faible acceptation dans les pratiques agricoles. D'autres contraintes sont avancées allant de la formulation à la survie et la dispersion du microorganisme introduit (Hart et al., 2018; Rodriguez and Sanders, 2015; Sessitsch et al., 2019).

Dans le présent travail, nous avons utilisé un modèle d'étude original pour décrypter le rôle du microbiote racinaire dans la résistance des plantes à la sécheresse, le caroubier (*Ceratonia siliqua* L., Leguminosae) et son microbiote. Le caroubier est une composante importante des forêts thermophiles du bassin méditerranéen, largement exploité et domestiqué depuis l'antiquité pour l'alimentation humaine et animale (Battle and Tous, 1997; Ramón-Laca and

Mabberley, 2004; Zohary, 2002). La production mondiale de caroube (fruit du caroubier) est estimée à 145.000 tonnes (FAO, 2018), et est principalement localisé dans quelques pays du pourtour Méditerranéen. Le Maroc est actuellement le deuxième producteur avec presque 22.000 tonnes de caroubes produites (FAO, 2018). Au Maroc, le caroubier est caractérisé par une grande diversité d'habitats (semi-naturel, vergers, systèmes agroforestiers traditionnels) et une grande amplitude climatique du nord au sud du pays (Baumel et al., 2018). Il est considéré comme une source de revenus stables pour la population locale, et participe au développement de l'économie régionale et nationale (Sbay, 2008). Le caroubier apparaît aussi comme un modèle clé pour développer des programmes performants d'afforestation/restauration des terres marginales (Domínguez et al., 2010; Manaut et al., 2015). Sa présence dans une large diversité d'habitats Méditerranéens ainsi que sa relative résistance aux carences nutritives et hydriques, fait du caroubier un modèle clé pour une agriculture et une production alimentaire durable. Alors que le caroubier est une des espèces cibles du programme gouvernemental de développement de l'agriculture marocaine initié en 2008 (<http://www.maroc.ma/fr/content/plan-maroc-vert>), la production et les terres exploitées par le caroubier ont diminués de 7 et 25% respectivement, entre les années 2000 et 2018 (FAO, 2018), Les raisons de ce déclin sont en partie des limitations dans l'organisation de la filière, qui au niveau du territoire peut s'expliquer par une politique de conservation et gestion des agroécosystèmes à caroubier peu efficace (utilisation des terres, désertification, urbanisation), ainsi qu'à l'échec de programmes d'afforestation en raison d'une forte mortalité lors des plantations. En plus de son intérêt écologique et économique pour le Maroc, le choix de travailler sur le caroubier a aussi été motivé (1) par le manque de programmes portant sur l'amélioration de la résistance des arbres au stress hydrique, en comparaison des investissements mis en place pour l'amélioration de la nutrition minérale et de la résistance à des ravageurs et pathogènes (Mercado-Blanco et al., 2018), et (2) par la nécessité d'acquérir de nouvelles connaissances sur la réponse des espèces dioïques face aux modifications de leur environnement dues aux changements climatiques (Hultine et al., 2016).

Les travaux présentés dans le mémoire de thèse ont été articulés autour d'un objectif majeur qui est la caractérisation des liens entre la composition du microbiote associé au caroubier dans son milieu naturel et la valeur adaptative du caroubier en terme de compromis performance / résistance afin de tenir compte de l'incertitude lié au changement climatique ; favoriser la performance au détriment de la résistance peut avoir de lourdes conséquences pour la culture de plantes pérennes à longue durée de vie comme le caroubier. Grâce à des cultures

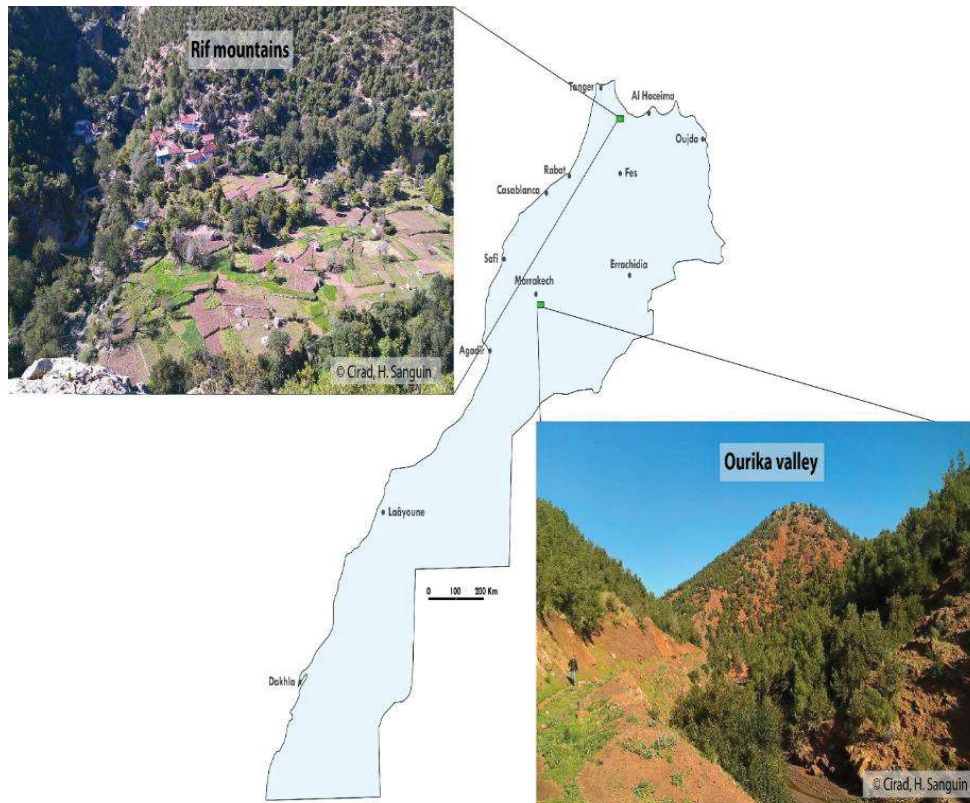
expérimentales de jeunes plantules de caroubier et l'analyse par metabarcoding du microbiote associées aux racines de caroubier nous avons proposé l'hypothèse principale selon laquelle le microbiote naturellement associé au caroubier devrait être le plus efficace pour améliorer sa croissance et sa résistance dans un contexte de déficit hydrique. Pour tester cette hypothèse, des sols natifs de plusieurs espèces végétales naturellement associés au caroubier et connus pour leur importance écologique dans les habitats de caroubier au nord et au sud du Maroc (**Figure I**) ont été échantillonnés et caractérisés (**Chapitre II**). L'objectif étant de déterminer les potentialités microbiologiques au sein des habitats à caroubier. Les sols des habitats de caroubier dans le sud du Maroc ont ensuite été privilégiés en raison d'une proportion plus élevée de microorganismes présentant des propriétés bénéfiques vis-à-vis de stress abiotiques (**Chapitre II**), et testés comme bio-inoculants microbiens sur le caroubier dans des conditions non limitantes en eau ou de sécheresse (**Chapitre III**).

Ce mémoire de thèse sera présenté sous la forme de trois chapitres :

Le premier chapitre « **Rôle des champignons endomycorhiziens dans la résistance des plantes au déficit hydrique** » est une synthèse bibliographique qui a pour objectif de présenter un état de l'art des connaissances acquises sur le rôle des champignons mycorhiziens arbusculaires dans la résistance des plantes face au déficit hydrique.

Le second chapitre « **Les communautés bactériennes et fongiques du sol différent dans leur importance comme indicateur microbien des habitats marocains à caroubier** » est une évaluation de la diversité du microbiote du sol associé à différentes espèces végétales caractéristiques d'habitats à caroubier, dans deux régions du Maroc 'sud' et 'nord'. Ce travail a fait l'objet d'un article intitulé « **The belowground bacterial and fungal communities differed in their significance as microbial indicator of Moroccan carob habitats** » publié dans le journal Ecological indicators (<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106341>).

Le troisième chapitre « **Rôle différentiel des mycorhizes et des champignons endophytes du type DSE dans les compromis croissance-résistance à la sécheresse chez le caroubier** » présente une expérimentation en conditions contrôlées, dans laquelle nous avons testé l'efficacité de différents inoculums natifs d'habitats à caroubier, dans l'amélioration de la croissance du caroubier et de sa résistance à des conditions limitantes en eau. Ce travail fera l'objet d'un article intitulé « **Differential implication of mycorrhiza and dark septate endophytes in growth-drought resistance trade-offs in carob trees** » pour une soumission au journal New Phytologist.



**Figure I.** Localisation des deux habitats (nord « Rif » et sud « Ourika ») sélectionnés pour l'étude.

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

---

### **Rôle des champignons endomycorhiziens dans la résistance des plantes au déficit hydrique**

## Résumé

Les plantes sont exposées à une multitude de contraintes environnementales limitant leur productivité et leur croissance. Le déficit hydrique constitue l'une des contraintes les plus importantes, avec d'ores et déjà une pression accrue en raison des changements climatiques. Pour faire face à ces contraintes, les plantes disposent de plusieurs stratégies leur permettant de modifier l'acquisition et l'utilisation des ressources en eau. Ces différentes stratégies diffèrent suivant les espèces végétales mobilisant une large gamme de processus physiologiques. Cependant, ces processus peuvent se révéler insuffisant suivant l'intensité et la durée du stress hydrique. Afin de pallier ce problème, la majorité des plantes ont développé au cours de leur évolution une association symbiotique avec des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) qui leur ont permis d'optimiser leur réponse face au déficit hydrique. Les CMA permettent à la plante de modifier son statut hydrique par une amélioration de l'absorption de molécules d'eau via son réseau d'hyphes mais aussi en modifiant directement la physiologie de plante.

Le présent chapitre est une synthèse bibliographique visant à (1) présenter les différentes stratégies développées par les plantes pour répondre à des modifications de ressources en eau, (2) détailler les différents modes d'action des CMA dans la régulation du statut hydrique des plantes, (3) fournir un état des lieux des différentes stratégies mises en place pour décrypter les effets des CMA dans la réponse des plantes au stress hydrique et (4) exposer les perspectives de l'utilisation des CMA en ingénierie écologique pour optimiser la réponse des plantes face à la sécheresse.

## Introduction

Les plantes disposent de plusieurs stratégies pour faire face à un stress hydrique se traduisant par des modifications phénologiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires. Cette capacité de réponse intrinsèque au stress hydrique est cependant variable suivant les espèces végétales et leur évolution (Bezerra-Neto et al., 2019; Kooyers, 2015; Pittermann, 2010). Les plantes ont aussi développé au cours de leur évolution différents types d'interaction avec des champignons dits mycorhiziens leur permettant entre autres d'adapter leur nutrition hydrique lors de variations du régime hydrique jusqu'à la mise en place d'une résistance lors du stress hydrique prolongé (Augé, 2001).

La symbiose mycorhizienne résulte d'une association durable basée sur des échanges réciproques entre les racines des embryophytes et certaines espèces de champignons appartenant aux phylums des *Basidiomycota* et *Ascomycota* et le sous-phylum des *Glomeromycotina*. La structure symbiotique se nomme communément mycorhize et est le lieu des échanges entre les deux partenaires (Smith and Read, 2009). La symbiose mycorhizienne est une innovation cruciale clé dans l'évolution et l'adaptation des plantes aux milieux terrestres. Elle permet aux plantes de mieux s'adapter à leur environnement, notamment dans des écosystèmes présentant un déficit hydrique et/ou nutritionnel, certaines espèces végétales ne pouvant croître normalement sans ce partenaire fongique (Gobat et al., 2003). On distingue généralement 4 principaux types : les endomycorhizes à arbuscules (72 % des plantes vasculaires), les ectomycorhizes (2%), les endomycorhizes orchidoïdes (10%) et les endomycorhizes éricoïdes (1,5 %) (Brundrett and Tedersoo, 2018). Les deux premiers types d'associations mycorhiziennes constituent les symbioses les plus étudiées :

- Les champignons ectomycorhiziens (ECMs), qui se répartissent au sein des Ascomycètes et des Basidiomycètes, développent un manteau fongique et un réseau de Hartig autour des cellules végétales racinaires. Dans cette association, le champignon ne pénètre pas à l'intérieur des cellules de l'hôte.

- Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) ou endomycorhiziens, appartiennent aux *Glomeromycota* (Gloméromycètes). Ils réalisent une colonisation intracellulaire des cellules végétales racinaires en formant des structures arbusculaires au sein des cellules. Cette symbiose est la plus ancienne (Brundrett and Tedersoo, 2018) et la plus répandue dans les écosystèmes naturels et cultivés (Tedersoo and Nara, 2010).

La symbiose avec des CMA sera l'objet central de cette synthèse bibliographique et nous examinerons les récentes avancées sur les mécanismes par lesquels les mycorhizes peuvent améliorer la résistance des plantes au déficit hydrique, et ouvrant des pistes d'application basées sur l'utilisation du potentiel des CMA dans l'environnement ou en agriculture.

Les CMA sont considérés comme des éléments clés dans les processus biologiques régissant la durabilité et le fonctionnement des écosystèmes (Gianinazzi et al., 2010; Read and Perez-Moreno, 2003; Rillig et al., 2019). Cette association symbiotique plante/champignon est généralement perçue comme exclusivement bénéfique sous estimant la réalité de l'interaction basée sur un équilibre coûts / bénéfices (Fitter, 1991); **Tableau I.1**). Les coûts / bénéfices les plus évidents dans la symbiose mycorhizienne concernent le statut nutritif des deux partenaires (**Tableau I.1**). En effet, les CMA mobilisent et acheminent des nutriments (Ex : N, P, K...) ainsi que des ressources en eau jusqu'à la plante (Smith and Read, 2009), et en retour la plante fournit au champignon une source d'énergie sous forme de sucres (Smith and Read, 2009). Les mécanismes mis en jeu par le CMA dans les transferts d'eau et la régulation de la réponse des plantes au stress hydrique restent cependant moins caractérisés que ceux impliqués dans les transferts de nutriments. Les CMA jouent aussi un rôle important dans la succession végétale (Rillig, 2004a) et la structuration du sol (Rillig and Mummey, 2006), ainsi que dans l'amélioration de la résistance des plantes face aux agressions des pathogènes ou à des toxines du sol (Akhtar and Siddiqui, 2008; Miransari, 2011a) (**Tableau I.1**).

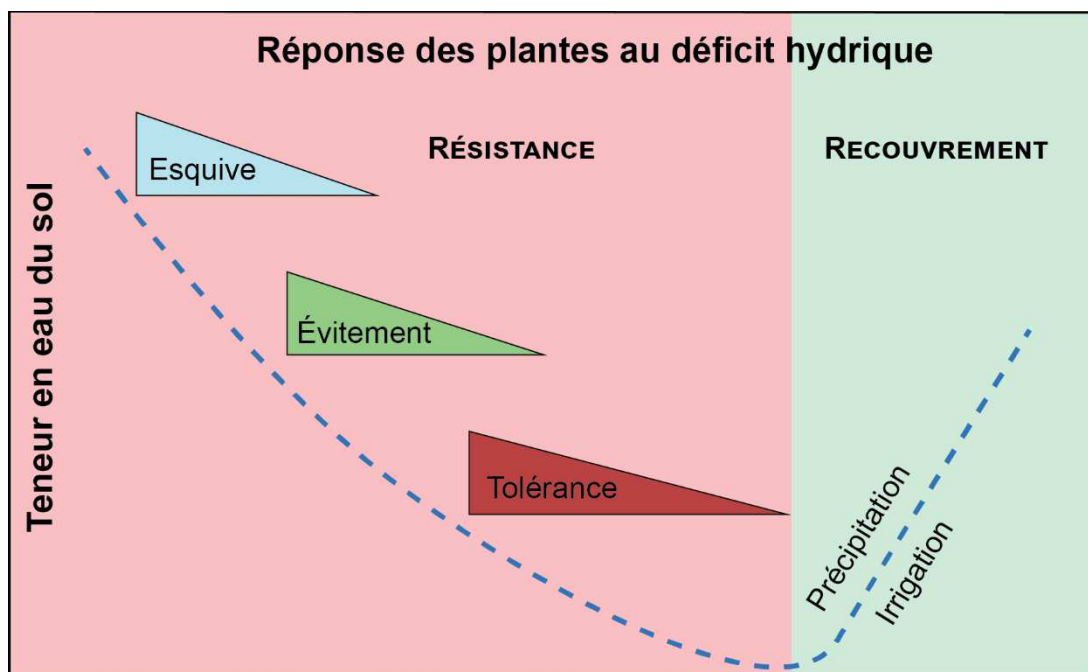


**Tableau I.1.** Coûts / bénéfices entre les champignons mycorhiziens arbusculaires et les plantes

	<b>Plante</b>	<b>CMA</b>
<b>Bénéfices</b>	Améliore l'absorption des nutriments (Smith and Read, 2009)	Fournis des composés carbonés directement assimilables (Smith and Read, 2009)
	Améliore la production des phytohormones (Basu et al., 2018)	Améliore la germination des spores et la ramification des hyphes germinatives (Nagahashi and Douds, 2000)
	Améliore la résistance face aux agressions des pathogènes (Basu et al., 2018)	
	Améliore la résistance au stress abiotiques (hydrique, salin, toxines de sol, température et froid) (Begum et al., 2019)	
<b>Coûts</b>	Utilisation de 5 à 20% du carbone fixé par photosynthèse (Douds et al., 2000)	Le statut nutritif de la plante peut empêcher l'arrivée de nouveaux CMA (Fitter, 2006)
	Augmentation du coût énergétique avec la colonisation par des CMA tricheur (Fitter, 2006; Redman et al., 2001)	
	Mycorhization peut induire une inhibition de l'initiation de nouvelles racines (Redman et al., 2001)	
	Rare induction de maladies dépendante de l'espèce de CMA associé (Redman et al., 2001)	

# I. Réponse des plantes au déficit hydrique

Le déficit hydrique est détecté par la plante lorsque la réserve utile en eau est atteinte (c'est-à-dire la différence entre l'humidité à la capacité au champ et l'humidité au point de flétrissement permanent), et que la plante doit puiser dans ses réserves. Pour faire face à cette contrainte, les plantes disposent de plusieurs stratégies pour survivre face à des variations de disponibilité en eau. Ces différentes stratégies diffèrent selon l'espèce végétale, l'intensité, et la durée des changements de régime en eau, et reposent sur la capacité de la plante à modifier ses mécanismes d'acquisition de l'eau, ainsi, qu'à maintenir les fonctions physiologiques de ses organes (Morgan, 1984). Ces stratégies de réponse vont de la résistance (l'esquive, l'évitement et la tolérance) jusqu'au recouvrement post-stress (**Figure I.1**).



**Figure I.1.** Les stratégies de réponse (esquive, évitement, tolérance et recouvrement) des plantes au déficit hydrique. Figure modifiée à partir de (Chen et al., 2016).

L'esquive ou l'échappement, correspond à la capacité de la plante d'accomplir son cycle de croissance lors de périodes favorables (tel est le cas par exemple des éphémérophytes dans les régions désertiques). Les stades de développement les plus sensibles (germination, floraison, fructification...) se réalisent à des périodes où les risques de stress sont moins forts, ce qui

permet à la plante de ne pas subir directement les contraintes hydriques (Yıldırım and Kaya, 2017).

L'évitement correspond à la capacité de la plante à traverser des périodes de stress en privilégiant la limitation de la perte en eau, avec évitement des phénomènes de déshydratation des tissus. Les pertes d'eau peuvent être atténuées par plusieurs mécanismes commençant par le contrôle de la transpiration à travers la régulation stomatique, la diminution du rayonnement absorbé grâce à l'enroulement des feuilles et la réduction de la surface foliaire. Au niveau morphologique, la plante va augmenter sa croissance racinaire, afin de prospecter des couches de sol plus profondes, à la recherche de réserves d'eau (Luo, 2010).

La tolérance à la sécheresse est l'aptitude de la plante à surmonter une dégradation de son état hydrique et supporter des niveaux de déficit hydrique élevés, en diminuant le potentiel hydrique, en maintenant la turgescence par l'ajustement du potentiel osmotique et la réduction de la taille des cellules. Elle comprend également la capacité d'élimination des substances nocives par l'accumulation des solutés compatibles tels que la proline (Luo, 2010).

Le recouvrement post-stress fait référence à la capacité de récupération de la plante après une période de sécheresse sévère par réparation des tissus endommagés et le réajustement du métabolisme (Schneider et al., 2019). Ce processus peut pendre quelques jours à quelques semaines (Brodribb et al., 2010), voire plusieurs mois à plusieurs années (Zeppel et al., 2008).

Ses différentes stratégies de réponse au déficit hydrique nécessitent l'intervention d'une gamme importante de processus et mécanismes. Nous détaillerons deux grands types de processus, les flux d'eau et la régulation hormonale.

## **1. Flux d'eau et résistance au déficit hydrique**

Les plantes peuvent contrôler le stress hydrique à court et à long terme par plusieurs mécanismes, dont la modification des voies d'entrée et sortie d'eau par ajustement de l'abondance et activité des aquaporines (Maurel and Chrispeels, 2001). Les aquaporines font partie de la famille des protéines intra-membranaires MIP (Major Intrinsic Proteins), identifiées initialement du fait de leur abondance dans les membranes cellulaires. Cette famille regroupe un nombre important de gènes chez les plantes. Par exemple, il existe 35 gènes chez *Arabidopsis thaliana* (Johanson et al., 2001), 31 chez *Zea mays* (Chaumont et al., 2001) et 33

chez *Oryza sativa* (Sakurai et al., 2005). Les aquaporines sont des canaux à eau présents dans la plupart des cellules, dont l'expression et l'activité peuvent être très dynamiques sur des pas de temps extrêmement brefs (minutes, voire même secondes). Elles peuvent réguler la conductivité hydraulique et augmenter de 10 à 20 fois la perméabilité à l'eau des membranes (Javot and Maurel, 2002; Maurel and Chrispeels, 2001). Les aquaporines contribuent à la réponse des plantes au déficit hydrique, mais les mécanismes restent encore peu caractérisés (Maurel et al., 2008).

## **2. Régulations hormonales des plantes au déficit hydrique**

Les hormones végétales agissent à faible dose et peuvent circuler rapidement au sein de la plante pour modifier son état physiologique. Ces phytohormones jouent un rôle majeur dans la croissance et le développement des plantes, mais leur régulation apparaît aussi comme centrale dans la résistance des plantes à différents stress environnementaux comme le stress hydrique (Peleg and Blumwald, 2011). Quatre types de phytohormones sont principalement impliqués dans la signalisation en réponse à un stress hydrique, l'acide abscissique (ABA), les cytokinines (CKs), l'éthylène et les strigolactones (SLs). Elles sont notamment impliquées dans la régulation de l'ouverture et fermeture des stomates (Schachtman and Goodger, 2008), mais aussi dans l'interaction avec les CMA (Pozo et al., 2015) (détaillé dans le chapitre suivant). Les SLs interagissent avec plusieurs phytohormones pour la régulation du développement des plantes (contrôle de la taille des plantes, contrôle de la ramification...), et notamment avec l'ABA lors d'un stress hydrique (Wang et al., 2019). Les SLs sont l'un des principaux facteurs contrôlant les concentrations en ABA et/ou leur voie de signalisation (Ferrero et al., 2018). Ces deux hormones sont toutes deux issues de la voie de biosynthèse des caroténoïdes (Matusova et al., 2005) et interviennent dans la stratégie d'évitement, qui suppose à la fois de minimiser les pertes en eau et d'optimiser l'absorption de l'eau.

L'ABA est une phytohormone centrale dans le maintien du fonctionnement de la plante en situation de stress (Yu and Jiang, 2009). C'est la phytohormone la plus étudiée dans les cas de stress abiotiques, notamment hydrique (Peleg and Blumwald, 2011). Lorsqu'un stress hydrique est détecté par les racines au contact d'une zone du sol desséché (Pirzad et al., 2011), la synthèse d'ABA est alors induite dans les racines (Li and Assmann, 2009) et rejoint les parties aériennes via les vaisseaux du xylème (Rodríguez-Gamir et al., 2010). Ce processus prend place avant

que l'abaissement du potentiel hydrique du sol n'entraîne de changement notable du potentiel hydrique foliaire par la régulation des flux calciques impliqués dans la stimulation d'ouverture et de fermeture stomatique (Kim et al., 2010). Ceci suggère que l'ABA, qui contrôle la fermeture stomatique des feuilles, est un signal racinaire permettant de réduire la transpiration lors d'un déficit hydrique (Li and Assmann, 2009).

Les SLs sont une famille d'hormones végétales découvertes récemment (Dun et al., 2009). Elles sont plurifonctionnelles et interviennent dans plusieurs processus physiologiques chez la plante, comme l'inhibition de la ramification, la sénescence des feuilles et l'architecture du système racinaire (Ruyter-Spira et al., 2013). Lors d'un stress hydrique, les SLs vont notamment contrôler la fermeture des stomates via le signal ABA (Ha et al., 2014; Y. Zhang et al., 2018). L'éthylène est une phytohormone gazeuse. Ce gaz est synthétisé par la plupart des organes végétaux, mais sa biosynthèse augmente lors d'étapes critiques du développement, comme par exemple lors de maturations des fruits, la sénescence des différents organes des plantes, mais également en réponse à des variations de l'environnement. Dans le cas du stress hydrique, l'éthylène est associé à un retard de croissance et à la formation des cheveux racinaires (Potters et al., 2009).

Les CKs sont reconnues pour promouvoir la division et la différenciation cellulaire. Elles sont principalement synthétisées dans les racines, puis transportées par le xylème. Les CKs permettent de retarder la sénescence et peuvent jouer un rôle dans le développement des racines en réponse au stress hydrique. Ainsi, dans le ralentissement du développement des feuilles. Elles interviennent dans d'autres processus de résistance au stress hydrique (Alvarez et al., 2008), notamment via une redistribution des ressources nutritives chez la plante (Peleg et al., 2011) ou en affectant le processus de la photosynthèse/photorespiration (Rivero et al., 2009). La résistance globale d'une plante au stress hydrique est donc le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production (Hsissou, 1994). Cependant, ces processus peuvent se révéler insuffisants suivant l'intensité et la durée du stress hydrique, et d'importants bouleversements indirects sont observés chez la plante comme la réduction des échanges gazeux (Ahmadizadeh et al., 2011), de l'activité photosynthétique (Yuan et al., 2004), la diminution de l'alimentation minérale (Zarik et al., 2016) et de la croissance végétative (Zarik et al., 2016), mais aussi son interaction avec les CMA.

## II. Mécanismes d'action des champignons mycorhiziens impliqués dans la modification du statut hydrique de la plante

Les champignons mycorhiziens peuvent agir à deux niveaux sur le statut hydrique de la plante, son alimentation hydrique d'une part et sa résistance au stress hydrique d'autre part, deux aspects sensiblement différents mais difficiles à appréhender (Sánchez-Díaz and Honrubia, 1994). De plus, il est très complexe de dissocier l'effet de la symbiose mycorhizienne sur l'alimentation hydrique de l'alimentation minérale (Finlay, 2008). Dans le but d'évaluer l'effet de la symbiose mycorhizienne sur le statut hydrique d'une plante hôte, de nombreuses études basées sur l'inoculation de CMA ont été menées dans des conditions limitantes ou non-limitantes en eau au regard de la plante testée (**Tableau I.2**). Ces expérimentations, détaillées dans la suite de la synthèse, soulignent le rôle de la symbiose mycorhizienne dans la capacité de réponse des plantes à des variations de régime hydrique, mais aussi la variabilité de l'intensité et du type de réponse. L'amélioration de la capacité de réponse des plantes mycorhizées au stress hydrique par rapport aux plantes non-mycorhizées, s'expliquent par la régulation de 4 mécanismes principaux schématisés dans la **Figure I.2**: 1- sécrétion hormonale (ABA, SLs), 2- transpiration et respiration, 3- exploration du sol grâce aux hyphes des CMA, 4- flux d'eau via les aquaporines fongiques.

### 1. Transpiration et photosynthèse

La transpiration via la mesure de la conductance stomatique est le paramètre le plus suivi avec la biomasse dans les expérimentations visant l'évaluation de l'impact de la mycorhization sur la résistance des plantes au stress hydrique (**Tableau I.2**). La fermeture des stomates (diminution de la conductance stomatique) est une réponse généralement observée chez les plantes lors du stress hydrique. Néanmoins, une absence de différences des taux de conductance stomatique entre les traitements mycorhizés et non mycorhizés peut être observée (Ruiz-Lozano et al., 2016). L'absence de différences peut être due à plusieurs biais expérimentaux comme une durée de stress ou des conditions de lumières non adaptées pour les mesures de la conductance stomatique ou la faible efficacité symbiotique de la souche utilisée.



## STRESS HYDRIQUE

SANS SYMBIOSE MYCORHIZIENNE

AVEC SYMBIOSE MYCORHIZIENNE

↑↑↑  
Transpiration

Photosynthèse +++

Fermeture des stomates +

↓ ↓ ↓  
Transpiration

Photosynthèse ++

Fermeture des stomates +++

Rhizosphère

Mycorhizosphère

Activation des aquaporines racinaires ++

Sécrétion hormonale

-ABA +

-Strigolactones +

Meilleure exploration de sol par le mycélium

Flux et passage de l'eau via les aquaporines fongiques

Activation des aquaporines racinaires +++

Sécrétion hormonale

-ABA +++

-Strigolactones +++

Figure I.2. Effet des CMA dans la résistance des plantes au stress hydrique.

En condition de stress hydrique, la mycorhization a un effet sur la photosynthèse. Deux paramètres principaux permettent d'estimer le niveau de photosynthèse, la teneur en chlorophylle et l'activité photosynthétique. Une augmentation de l'activité photosynthétique a été observée chez la tomate (Quiroga et al., 2017; Ruiz-Lozano et al., 2016), le maïs (Bárzana et al., 2012; Quiroga et al., 2017), et la laitue (Ruiz-Lozano et al., 2016) lorsque la plante cible était mycorhizée. Ces résultats ont été observés pour plusieurs espèces de champignons mycorhiziens. Chez le pois chiche (Hashem et al., 2019), la tangerine (Q. S. Wu et al., 2006) et le rosier de damas (Abdel-Salam et al., 2017), la mycorhization a entraîné une augmentation des teneurs en chlorophylle, favorisant donc les processus photosynthétiques.

## 2. Régulation hormonale

Comme décrit précédemment (**I.2**), les phytohormones jouent un rôle central dans la réponse des plantes au stress hydrique (Peleg and Blumwald, 2011), mais leur action s'étend bien au-delà de la régulation des processus physiologiques de la plante. En effet, les phytohormones sont impliquées dans l'établissement de la symbiose mycorhizienne. La reconnaissance par les deux partenaires, végétales et fongiques, de signaux moléculaires contenus dans les exsudats racinaires et fongiques constitue la première étape de l'établissement de la symbiose mycorhizienne. Plusieurs composés, dont les phytohormones, contenus dans les exsudats racinaires sont capables de stimuler la germination des spores, d'induire une ramification des hyphes et de modifier l'activité métabolique du CMA (Nagahashi and Douds, 2000) (**Tableau I.1**). Les SLs sont capables d'induire à de très faibles concentrations la ramification des hyphes germinatives chez différentes espèces fongiques (*Gigaspora margarita*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora rosea*), mais aussi de stimuler la germination des spores de *Rhizophagus irregularis* et de *Glomus claroideum* (Besserer et al., 2006). L'ABA augmente la fréquence et l'intensité de la colonisation racinaire par les mycorhizes (Herrera-Medina et al., 2007; Ludwig-Müller, 2010). Réciproquement, la présence du champignon dans les racines engendre des variations de concentration de différentes phytohormones végétales dont l'ABA (Herrera-Medina et al., 2007; Martín-Rodríguez et al., 2016). L'augmentation des concentrations d'ABA est généralement corrélée positivement avec la présence de champignons mycorhiziens chez de nombreuses cultures annuelles comme le maïs (Quiroga et al., 2017) et la luzerne (Goicoechea et al., 1997), mais aussi des cultures pérennes comme le citronnier épineux (Zhang et al., 2019).



L'augmentation des teneurs en ABA induite par la présence des CMA peut avoir par conséquent des répercussions importantes sur les processus physiologiques comme la transpiration et la photosynthèse via la fermeture des stomates (voir **I.2**). Néanmoins, cette relation entre l'induction de l'augmentation des teneurs en ABA via le CMA et la régulation de l'ouverture des stomates n'est pas toujours démontrée. C'est le cas chez la tomate et la laitue inoculées avec *Rhizophagus irregularis*, où une augmentation des teneurs en ABA chez les plantes mycorhizées a été observée, notamment dans le cas d'un stress hydrique très sévère, mais les différences dans les taux de conductance stomatique n'était pas significative entre les deux traitements (mycorhizé et non mycorhizé) (Ruiz-Lozano et al., 2016). La régulation des niveaux d'ABA via la mycorhization dans le cas d'un stress hydrique a été cependant démontrée chez différents modèles de plantes cultivées comme le maïs (*Zea mays*) (Quiroga et al., 2017), la laitue (*Lactuca sativa*) et la tomate (*Solanum lycopersicum*) (Ruiz-Lozano et al., 2016). Les plantes mycorhizées ont montré des taux d'ABA et de conductance stomatique plus élevés au moment du stress par rapport aux plantes non mycorhizées (Quiroga et al., 2017; Ruiz-Lozano et al., 2016). Cependant, dans la majorité des études référencées dans le **Tableau I.2**, la régulation des niveaux d'ABA par la mycorhization reste un paramètre peu évalué. La prise en compte de ce paramètre de façon plus systématique pourrait pourtant permettre de décrypter plus finement la réponse de la plante à la mycorhization, notamment dans des situations où le fonds génétique des plantes est différent. Chez le maïs, il a par exemple été montré que les génotypes de maïs sensibles et tolérants au déficit hydrique présentaient des réponses sensiblement différentes à la mycorhization, notamment concernant la régulation de la conductance stomatique (Quiroga et al., 2017).

### **3. Contrôle de la croissance racinaire et aérienne**

Le suivi de la biomasse notamment aérienne suite à l'inoculation de CMA est l'un des paramètres les plus évalués. Une large gamme des paramètres de croissance, aérienne (hauteur, biomasse aérienne, diamètre au collet, nombre des feuilles et folioles...) et racinaire (longueur racinaire, biomasse racinaire, ramification...), ainsi que le ratio entre la biomasse aérienne et fongique sont généralement mesurés dans les expérimentations d'inoculation mycorhizienne sous condition de stress hydrique (**Tableau I.2**). Pour une vaste majorité des paramètres, un effet bénéfique des champignons mycorhiziens sur la croissance est observé en condition de

stress hydrique (**Tableau I.2**), e.g. la hauteur (Oyewole et al., 2017; Q. S. Wu et al., 2006; Zhang et al., 2019), la longueur racinaire (Abdelmoneim et al., 2014; Essahibi et al., 2017; Hashem et al., 2019), la surface foliaire (Ansari et al., 2016; Elhindi et al., 2017) et la biomasse sèche aérienne et racinaire (Zhao et al., 2015). Ces effets bénéfiques sont observés chez le cyprès de l'atlas et le caroubier dans des conditions de stress sévères allant jusqu'à 25 % de la capacité au champ (CAC) (Essahibi et al., 2017; Zarik et al., 2016). Dans la plupart des cas, les plantes mycorhizées sous stress hydrique ont une croissance aérienne et racinaire plus importante que celles des plantes non mycorhizées (Augé, 2001). Cependant, on observe une variabilité dans la réponse pour certains paramètres suivant l'espèce de CMA. Par exemple, l'inoculation par *Rhizophagus intraradices* a montré un effet positif significatif sur la croissance de la partie aérienne et racinaire de palmiers, mais pas *Funneliformis mosseae*. La différence de réponse pourrait s'expliquer par une colonisation plus importante des racines par *R. intraradices* (46%) que *F. mosseae*), et donc une augmentation des zones d'échanges (arbuscules), ou de stockage (vésicules). La plus grande capacité de certaines espèces de CMA à développer leur réseau mycélien et donc à augmenter la zone de sol explorée peut-être aussi une cause de variabilité de la réponse de la plante au sein des agro-écosystèmes (Baslam et al., 2014).

#### **4. Régulation des transferts d'eau**

Dans un contexte de déficit hydrique, les CMA vont exercer un effet temporisateur sur les ressources en eau disponibles pour la plante en stockant les molécules d'eau dans les parties extra-matricielle et racinaires et en les diffusant progressivement à la plante (Müller et al., 2017). De par l'augmentation de 100 à 1000 fois de l'interface d'échange sol / racines via leur réseau mycélien (Fortin et al., 2016), les CMA vont être en capacité d'accéder à des réserves d'eau présentes dans des pores du sol inaccessible aux racines et donc augmenter les flux d'eau. Les CMA vont aussi intervenir sur l'alimentation hydrique des plantes en modifiant la conductivité hydraulique des racines entre autres par l'activation spécifique d'aquaporines de plantes (Yooyongwech et al., 2016). La voie de signalisation de l'ABA est de nouveau au cœur de la régulation de la synthèse et/ou de l'activité des aquaporines par les CMA (Ruiz-Lozano et al., 2009). La conséquence directe de ce mécanisme est une augmentation du potentiel hydrique et des teneurs en eau dans les feuilles et les racines (Aroca et al., 2008a; Bárzana et al., 2012; Quiroga et al., 2017; Ruiz-Lozano et al., 2006).

Plus récemment, l'importance des aquaporines fongiques a aussi été suggérée comme un facteur majeur de l'alimentation hydrique des plantes (Maurel and Plassard, 2011). Les aquaporines fongiques sont regroupées en 4 groupes distincts : le groupe I comprend les aquaporines orthodoxes, qui assurent le transport de l'eau, le groupe II comprend les aqua-glycéroprotéines qui assurent le transport de molécules neutres, le groupe III comprend les aquaporines facultatives fongiques, qui assurent le transport de l'eau et des molécules neutres, et le groupe IV comprend les XIPs fongiques (fungal X Intrinsic Proteins) qui assurent le transport de l'eau (Xu et al., 2013). Ces aquaporines fongiques seraient impliquées dans l'alimentation hydrique, le transport des nutriments et dans la régulation osmotique lors de la symbiose avec les plantes (Xu et al., 2013). Ces protéines ont aussi des effets bénéfiques sur le champignon en agissant sur la pression osmotique, le maintien de la perméabilité à l'eau, la résistance à certains stress abiotiques lors de la sporulation, et sur le contrôle de la turgescence (Dietz et al., 2011). Les spécificités fonctionnelles des aquaporines fongiques restent cependant peu caractérisées, et leur diversité peu explorée chez les champignons mycorhiziens, notamment les CMA (Li et al., 2013; Xu et al., 2013).

Le potentiel hydrique et les teneurs relatives en eau sont parmi les paramètres les plus affectés lors d'un stress hydrique, et les CMA jouent un rôle majeur dans la régulation de ces deux paramètres. L'évaluation de la réponse au stress hydrique d'essences forestières (cyprès de l'atlas et caroubier) a montré un impact négatif global sur les teneurs relatives en eau (TRE) et le potentiel hydrique. Cependant, des teneurs en eau plus importantes étaient observées pour les plants mycorhizés comparés aux plants non mycorhizés, et ce quel que soit le régime hydrique (Essahibi et al., 2017; Zarik et al., 2016). De même dans le cas de cultures annuelles (Soja), le potentiel hydrique était négativement impacté chez les plantes non mycorhizées et mycorhizées, mais dans une moindre mesure dans le cas de ces dernières (Porcel and Ruiz-Lozano, 2004). La présence de CMA permettait aux plantes soumises à un stress hydrique de maintenir un potentiel hydrique similaire à celui observé pour des plantes non mycorhizées non soumises au stress hydrique (Porcel and Ruiz-Lozano, 2004). Lors d'un stress hydrique, la symbiose mycorhizienne affecte probablement en premier lieu l'ajustement osmotique des racines (Wu and Xia, 2006), permettant un maintien d'un gradient favorable au passage de l'eau du sol aux racines. Cependant d'autres mécanismes interagissant entre eux peuvent aussi expliquer les effets observés, comme la signalisation hormonale (Aroca et al., 2008a), la conductance stomatique (Zhu et al., 2012), et la conductivité hydraulique (Augé, 2001).

**Tableau I.2.** Liste d'expérimentations utilisant des CMA (avec ou sans co-inoculation avec des bactéries rhizosphériques) pour évaluer la réponse des plantes au stress hydrique

Espèce végétale	Nature de l'inoculum <sup>(1)</sup>	Type d'inoculation <sup>(2)</sup>	Système expérimentale <sup>(3)</sup>	Status hydrique <sup>(4)</sup>	Références
<i>Trifolium alexandrinum</i>	<i>Glomus</i> spp. ; <i>Sclerocystis</i> spp.	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 30% CAC	(Meddich et al., 2000)
<i>Trifolium alexandrinum</i>	<i>R. irregularis</i> ; <i>F. mosseae</i>	Double	Environnement non contrôlé	ND	(Saia et al., 2014)
<i>Trifolium repens</i>	<i>P. putida</i> ; <i>Pseudomonas</i> sp. ; <i>B. megaterium</i> ; <i>F. constrictum</i> ; <i>F. coronatum</i> ; <i>C. claroideum</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple et complexe	Environnement contrôlé	100 ; 75% CAC	(Marulanda et al., 2009)
<i>Rosa damascena</i>	Complexe mycorhizien	Complexe	Environnement contrôlé	100 ; 75 ; 50 ; 25% CAC	(Abdel-Salam et al., 2017)
<i>Cupressus atlantica</i>	<i>R. manihotis</i> ; <i>R. aggregatus</i> ; <i>R. fasciculatus</i> ; <i>Acaulospora</i> sp.	Complexe	Environnement contrôlé	90 ; 75 ; 50 ; 25% CAC	(Zarik et al., 2016)
<i>Glycine max</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 70% CAC	(Porcel and Ruiz-Lozano, 2004)
<i>Glycine max</i>	<i>B. japonicum</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	100 ; 70% CAC	(Porcel et al., 2006)
<i>Glycine max</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>C. etunicatum</i> ; <i>B. japonicum</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	100 ; 85 ; 70 ; 60% CAC	(Aliasgharzad et al., 2006)
<i>Ceratonia siliqua</i>	<i>R. fasciculatus</i> ; <i>R. intraradices</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 25% CAC	(Essahibi et al., 2017)
<i>Ceratonia siliqua</i>	Complexe mycorhizien	Complexe	Environnement contrôlé	ND	(Boutasknit et al., 2020)
<i>Pelargonium graveolens</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple et Double	Environnement contrôlé	100 ; 75 ; 50% CAC	(Amiri et al., 2017)

Espèce végétale	Nature de l'inoculum <sup>(1)</sup>	Type d'inoculation <sup>(2)</sup>	Système expérimentale <sup>(3)</sup>	Status hydrique <sup>(4)</sup>	Références
<i>Phoenix dactylifera</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 25% CAC	(Baslam et al., 2014; Benhiba et al., 2015)
<i>Phoenix dactylifera</i>	<i>R. clarus</i> ; <i>G. deserticola</i> ; <i>F. monosporus</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 25% CAC	(Faghire et al., 2010)
<i>Phoenix dactylifera</i>	<i>F. monosporus</i> ; <i>R. clarus</i> ; <i>G. deserticola</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 25% CAC	(Meddich et al., 2015)
<i>Olea europaea</i>	<i>R. manihotis</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 25% CAC	(Fouad et al., 2014)
<i>Olea europaea</i>	Complexe mycorhizien	Complexe	Environnement contrôlé	95 ; 55% CAC	(Calvo-Polanco et al., 2016)
<i>Eleusine coracana</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>P. indica</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 60 ; 40% CAC	(Tyagi et al., 2017)
<i>Pistacia vera</i>	<i>C. etunicatum</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 50% CAC	(Abbaspour et al., 2012)
<i>Erythrina variegata</i>	<i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	-0.06 ; -1.20 ; -2.20 ; -3.40 Mpa	(Manoharan et al., 2010)
<i>Tagetes erecta</i>	<i>F. constrictum</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 75 ; 50 ; 25% CAC	(Asrar and Elhindi, 2011)
<i>Antirrhinum majus</i>	<i>G. deserticola</i>	Simple	Environnement contrôlé	80 ; 60 ; 40 ; 20% CAC	(Asrar et al., 2012)
<i>Citrus tangerine</i>	<i>G. versiforme</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 55% CAC	(Q. S. Wu et al., 2006)
<i>Citrus tangerine</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>F. geosporum</i> ; <i>G. versiforme</i> ; <i>C. etunicatum</i> ; <i>R. diaphanus</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 73% CAC	(Wu et al., 2007)
<i>Cicer arietinum</i>	<i>C. etunicatum</i>	Simple	Environnement contrôlé	-0,03 ; -0,6 ; -1,2 Mpa	(Sohrabi et al., 2012)

Espèce végétale	Nature de l'inoculum <sup>(1)</sup>	Type d'inoculation <sup>(2)</sup>	Système expérimentale <sup>(3)</sup>	Status hydrique <sup>(4)</sup>	Références
<i>Cicer arietinum</i>	<i>R. irregularis</i> ; <i>M. mediterraneum</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	75 ; 50 ; 25% CAC	(Oliveira et al., 2017)
<i>Zea mays</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	80 ; 60 ; 40% CAC	(Zhao et al., 2015)
<i>Zea mays</i>	<i>R. irregularis</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 60% CAC	(Quiroga et al., 2017)
<i>Zea mays</i>	<i>P. fluorescens</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple et double	Environnement non contrôlé	ND	(Ghorchiani et al., 2018)
<i>Zea mays</i>	<i>B. thuringiensis</i> ; complexe mycorhizien	Simple et double	Environnement contrôlé	100 ; 50% CAC	(Armada et al., 2015)
<i>Zea mays</i>	<i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	ND	(Abdelmoneim et al., 2014)
<i>Zea mays</i>	<i>C. etunicatum</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 55% CAC	(Zhu et al., 2012)
<i>Triticum durum</i>	<i>F. monosporus</i>	Simple	Environnement contrôlé	80 ; 40% CAC	(Al-Karaki and Clark, 1998)
<i>Triticum aestivum</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>C. etunicatum</i>	Simple	Environnement non contrôlé	ND	(Al-Karaki et al., 2004)
<i>Allium cepa</i>	<i>G. versiforme</i> ; <i>C. etunicatum</i> ; <i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	67, 61.6, 57.5% CAC	(Bolandnazar et al., 2007)
<i>Knautia arvensis</i>	<i>Glomus</i> sp.	Simple	Environnement contrôlé	55 ; 45 ; 35 ; 25% CAC	(Doubková et al., 2013)
<i>Ipomoea batatas</i>	<i>Glomus</i> sp ; <i>Acaulospora</i> sp.	Double	Environnement contrôlé	47.45 ; 17.5% CAC	(Yooyongwech et al., 2016)
<i>Lactuca sativa</i>	<i>G. deserticola</i> ; <i>R. fasciculatus</i> ; <i>C. etunicatum</i> ; <i>F. caledonium</i> ; <i>G. occultum</i> ; <i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	-0.04 ; -0.06 ; -0.10 ; -0.17 Mpa	(Ruiz-Lozano et al., 1995)

Espèce végétale	Nature de l'inoculum <sup>(1)</sup>	Type d'inoculation <sup>(2)</sup>	Système expérimentale <sup>(3)</sup>	Status hydrique <sup>(4)</sup>	Références
<i>Lactuca sativa</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i>	Double	Environnement contrôlé	100 ; 75 ; 50% CAC	(Baslam and Goicoechea, 2012)
<i>Lactuca sativa</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>P. mendocina</i>	Simple	Environnement contrôlé	-0.03 ; -0.3 Mpa	(del Mar Alguacil et al., 2009)
<i>Lactuca sativa</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 70% CAC	(Porcel et al., 2006)
<i>Lactuca sativa</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 75% CAC	(Aroca et al., 2008b)
<i>Lactuca sativa</i>	<i>F. coronatum</i> ; <i>R. intraradices</i> ; <i>C. claroideum</i> ; <i>F. constrictum</i> ; <i>F. geosporum</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 80% CAC	(Marulanda et al., 2003)
<i>Lactuca sativa</i> ; <i>Solanum lycopersicum</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 75 ; 55% CAC	(Ruiz-Lozano et al., 2016)
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 70% CAC	(Aroca et al., 2008a)
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>R. irregularis</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 60% CAC	(Sánchez-Romera et al., 2018)
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>F. geosporum</i> ; <i>C. etunicatum</i> ; <i>C. claroideum</i> ; <i>G. microaggregatum</i> ; <i>R. irregularis</i>	Complexe	Environnement non contrôlé	100 ; 50 ; 0% CAC	(Bakr et al., 2018)
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>R. irregularis</i> ; <i>V. paradoxus</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	100 ; 60% CAC	(Calvo-Polanco et al., 2016)
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>G. deserticola</i> ; <i>F. constrictum</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 50% CAC	(Duc et al., 2018)



Espèce végétale	Nature de l'inoculum <sup>(1)</sup>	Type d'inoculation <sup>(2)</sup>	Système expérimentale <sup>(3)</sup>	Status hydrique <sup>(4)</sup>	Références
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	70 ; 35% CAC	(Xu et al., 2018)
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	ND	(Chitarra et al., 2016)
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement non contrôlé	ND	(Subramanian et al., 2006)
<i>Zenia insignis</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i> ; <i>G. versiforme</i>	Simple et triple	Environnement contrôlé	75 ; 45% CAC	(Zhang et al., 2019)
<i>Eriobotrya japonica</i>	<i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 45% CAC	(Zhang et al., 2015)
<i>Poncirus trifoliata</i>	<i>G. versiforme</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 50% CAC	(Zou et al., 2017)
<i>Poncirus trifoliata</i>	<i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 55% CAC	(Huang et al., 2017; Liu et al., 2018, 2016)
<i>Poncirus trifoliata</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>G. occultum</i>	Simple	Environnement contrôlé	70 ; 50% CAC	(F. Zhang et al., 2018)
<i>Poncirus trifoliata</i>	<i>G. versiforme</i> ,	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 55% CAC	(Q.-S. Wu et al., 2006)
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	<i>R. irregularis</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 55 ; 35% CAC	(Xie et al., 2018)
<i>Coffea arabica</i>	<i>R. clarus</i> ; <i>C. etunicatum</i> ; <i>D. heterogama</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 80 ; 60 ; 40% CAC	(Moreira et al., 2018)
<i>Plukenetia volubilis</i>	<i>G. versiforme</i> ; <i>G. occultum</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	80 ; 40% CAC	(Tian et al., 2013)
<i>Cyclobalanopsis glauca</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	80 ; 40% CAC	(Zhang et al., 2014)
<i>Populus cathayana</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	90 ; 30% CAC	(Li et al., 2015)



Espèce végétale	Nature de l'inoculum <sup>(1)</sup>	Type d'inoculation <sup>(2)</sup>	Système expérimentale <sup>(3)</sup>	Status hydrique <sup>(4)</sup>	Références
<i>Sorghum bicolor</i>	<i>R. irregularis</i> ; <i>R. arabicus</i>	Simple	Environnement contrôlé	80 ; 35% CAC	(Symanczik et al., 2018)
<i>Sorghum bicolor</i>	<i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	ND	(Sun et al., 2017)
<i>Hordeum vulgare</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	70 ; 35% CAC	(Li et al., 2014)
<i>Sesamum indicum</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. irregularis</i>	Simple	Environnement non contrôlé	100 ; 70 ; 50% CAC	(Askari et al., 2019)
<i>Dracocephalum moldavica</i>	<i>M. yunnanensis</i> ; <i>C. etunicatum</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	100 ; 70 ; 40% CAC	(Ghanbarzadeh et al., 2019)
<i>Lavandula officinalis</i> ; <i>Rosmarinus officinalis</i> ; <i>Thymus vulgaris</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. irregularis</i>	Simple	Environnement non contrôlé	75 ; 50% CAC	(Pirzad and Mohammadzadeh, 2018)
<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>R. irregularis</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 35% CAC	(He et al., 2016)
<i>Linum usitatissimum</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i> ; <i>P. putida</i>	Simple et complexe	Environnement non contrôlé	ND	(Rahimzadeh and Pirzad, 2017)
<i>Linum usitatissimum</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 70 ; 40% CAC	(Ansari et al., 2016)
<i>Digitaria eriantha</i>	<i>R. irregularis</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 60% CAC	(Pedranzani et al., 2016)
<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement non contrôlé	80 ; 60 ; 40 ; 20% CAC	(Zardak et al., 2017)
<i>Sophora davidii</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>F. constrictum</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 25% CAC	(Gong et al., 2013)
<i>Cucumis melo</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>Glomus</i> spp.	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 80 ; 60 ; 40% CAC	(Cakmakci et al., 2017)

Espèce végétale	Nature de l'inoculum <sup>(1)</sup>	Type d'inoculation <sup>(2)</sup>	Système expérimentale <sup>(3)</sup>	Status hydrique <sup>(4)</sup>	Références
<i>Manihot esculenta</i>	<i>A. longula</i> ; <i>A. myriocarpa</i> ; <i>E. colombiana</i> ; <i>R. fasciculatus</i> ; <i>R. manihotis</i> ; <i>G. occultum</i> ; <i>D. heterogama</i>	Simple	Environnement contrôlé	ND	(Sieverding and Toro T., 1988)
<i>Citrullus lanatus</i>	<i>G. versiforme</i>	Simple	Environnement contrôlé	75 ; 30% CAC	(Mo et al., 2016)
<i>Ricinus communis</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	ND	(T. Zhang et al., 2018)
<i>Rosa hybrida</i>	<i>R. intraradices</i>	Simple	Environnement contrôlé	ND	(Piniol et al., 2005)
<i>Helianthus annuus</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>G. hoi</i>	Simple	Environnement non contrôlé	60 ; 40 ; 20% CAC	(Gholamhoseini et al., 2013)
<i>Oryza sativa</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>A. brasilense</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	100 ; 50 ; 25% CAC	(Ruíz-Sánchez et al., 2011)
<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>R. intraradices</i> ; <i>F. mosseae</i>	Simple	Environnement contrôlé	100 ; 70% CAC	(Porcel et al., 2005)
<i>Fragaria virginiana</i>	<i>F. mosseae</i> ; <i>F. geosporum</i>	Simple et double	Environnement contrôlé	100 ; 70% CAC	(Boyer et al., 2015)

(1) Le nom des CMA est adapté selon la classification de (Schüßler and Walker, 2010). Le nom des bactéries rhizosphériques est indiqué en gris.

(2) Simple, inoculation avec une souche ; Double, inoculation avec deux souches ; Complexe, inoculation avec 3 souches et plus

(3) Environnement contrôlé, pour toutes les expériences qui ont été effectuées sous conditions contrôlées, serre, chambre de culture, microcosme, mésocosme ; Environnement non contrôlé, concerne les expériences qui ont été effectuées dans le champ

(4) CAC, Capacité Au Champ ; Mpa, Mégapascal ; ND, Non Déterminé

### III. Potentiel et limitation des champignons mycorhiziens arbusculaires pour l'ingénierie écologique en condition de déficit hydrique

De par leur rôle dans l'amélioration de la nutrition hydrique des plantes, l'utilisation de CMA comme bio-inoculant dans les stratégies d'ingénierie écologique constitue une approche prometteuse pour améliorer la résistance des plantes à la sécheresse (Berruti et al., 2016; de Vries et al., 2020; Rodriguez and Durán, 2020), mais les évaluations au champ restent encore rares (**Tableau I.2**).

La majorité des applications au champ repose sur l'évaluation des performances d'une souche fongique ou d'un assemblage des souches sur l'amélioration du développement et de la survie d'une plante cible, la production en pépinières des combinaisons plante / CMA les plus efficaces, et leur transfert sur site (Verzeaux et al., 2017). Cette approche présente cependant plusieurs limitations, la faible efficacité symbiotique en condition naturelle de certaines souches introduites, leur faible persistance mais aussi leur dispersion, et leur impact environnemental sur le microbiote indigène (Hart et al., 2018; Rodriguez and Sanders, 2015). Dans le cas de l'évaluation des performances de ce type d'approche en condition de stress hydrique, trois limitations majeures sont observées. Premièrement, peu d'espèces végétales ont été évaluées. Parmi les études référencées dans le **Tableau I.2**, trois espèces végétales (*Solanum lycopersicum*, *Lactuca sativa* et *Zea mays*) concentrent 25% des évaluations. Deuxièmement, peu de travaux ont été menés jusqu'au transfert des plants mycorhizés sur site et très rare ont été les travaux menés directement sur site sans passer par une mycorhization préalable des plants en pépinières. Seulement 12% des travaux ont été menés au champ parmi les travaux présentés dans le **Tableau I.2**. Troisièmement, le nombre des espèces de CMA testées (25 espèces listées dans le **Tableau I.2**) est peu représentatif du nombre d'espèces connues, environ 300 espèces (Tedersoo et al., 2018). De plus, l'ensemble des espèces testées appartiennent quasi-exclusivement à la famille des *Glomeraceae* (**Tableau I.2** ; 84% des espèces). Une famille hébergeant principalement des champignons ayant une histoire vie de type rudéral (Chagnon et al., 2013), caractérisé par une production de spores précoce importante et un taux de croissance rapide, alors que d'autres familles pourraient sembler plus pertinentes à considérer dans un contexte de stress, comme la famille des *Acaulosporaceae* caractérisée par sa forte tolérance au stress abiotique, ou la famille des *Gigasporaceae* caractérisée par une forte densité de leur

réseau mycélien et donc dans les échanges nutritifs. Il convient aussi de citer que l'efficacité symbiotique des CMA diffèrent suivant les espèces et les hôtes. Une étude portant sur le manioc (*Manihot esculenta*) a démontré l'effet différentiel d'espèces de CMA suivant les conditions hydriques (Sieverding and Toro T., 1988). Sept espèces appartenant à trois familles (*Acaulosporaceae*, *Claroideoglomeraceae*, *Glomeraceae*) ont été évalué, mais alors que cinq des sept espèces de CMA testées montraient des effets bénéfiques en condition sans stress hydrique, seulement trois présentaient un bénéfice en condition de stress. Les espèces les plus efficaces en condition de non stress étaient celles les plus performantes en condition de stress hydrique, mais les paramètres affectés étaient différents. La variabilité d'efficacité symbiotique des CMA peut aussi être dû aux conditions édaphiques et à la capacité d'adaptation des CMA aux conditions environnementales (Johnson, 2010). Il apparaît donc plus pertinent d'utiliser des espèces natives adaptées aux conditions environnementales locales pour optimiser la réponse de la plante (Frew, 2020). Cependant, l'utilisation de souches de CMA provenant d'écosystèmes aux conditions pédoclimatiques extrêmes pourrait permettre de sélectionner des souches de CMA particulièrement adaptées à des conditions de stress environnementales (Rodriguez and Durán, 2020). Par exemple, l'inoculation de sorgho avec une souche de *Rhizophagus arabicus* issue d'un écosystème hyper-aride a permis une amélioration significative des paramètres physiologiques de la plante hôte, notamment en condition de stress hydrique, par rapport à ceux inoculés avec une souche de *Rhizophagus irregularis* issue d'un écosystème tempéré (Symanczik et al., 2018). Les perturbations importantes observées dans le fonctionnement de la symbiose plante-microorganismes dues aux processus d'amélioration et de sélection variétale (Porter and Sachs, 2020) sont donc très certainement amplifiées par le mode de production d'un grand nombre de cultures dans des zones pédoclimatiques non natives, avec pour conséquence majeure la perte probable de leurs symbiontes les plus efficaces.

Le fonctionnement des plantes est de plus fortement lié à la complexité des interactions entre la plante et une large diversité de microorganismes, notamment aux niveaux des racines des plantes (de la Fuente Cantó et al., 2020). De nombreuses interactions bénéfiques entre les CMA et les bactéries rhizosphériques ont été observées (Miransari, 2011b), mais la mise au point de bio-inoculant associant ces deux types de microorganismes pour améliorer la résistance des plantes au stress hydrique restent peu développée (**Tableau I.2**). De plus, le niveau de complexité des bio-inoculant reste limité à un nombre restreint d'espèces (**Tableau I.2**). Parmi les effets bénéfiques observés dans les interactions CMA / bactéries, les bactéries sont capables de synthétiser des molécules induisant une augmentation de la quantité des exsudats racinaires

et une modification de leur composition entraînant une activation des hyphes des CMA, et donc un taux de colonisation plus élevé (Barea et al., 2005). De plus, ces bactéries produisent des hormones végétales pouvant influencer directement l'établissement des CMA ainsi que la croissance des spores et des hyphes (Barea et al., 2005). Les CMA quant à eux peuvent sécréter des composés pouvant servir de source d'énergie pour la croissance des bactéries (Andrade et al., 1997). Il a été montré par exemple que l'effet bénéfique de l'inoculation de riz (*Oryza sativa*) avec une souche bactérienne *Azospirillum brasilense* n'était significative que lorsque le riz était mycorhizé avec le CMA *Glomus intraradices* (Ruíz-Sánchez et al., 2011). De même la co-inoculation de maïs avec *Pseudomonas fluorescens* et *Funneliformis mosseae* permettait une amélioration de la croissance, nutrition et rendement des plants de maïs supérieure à celle observé dans le cas des plants inoculé avec un seul des deux types de microorganismes (Ghorchiani et al., 2018).

## **Conclusion et perspectives**

Dans la nature, la croissance et santé des plantes sont souvent contraintes par une multitude de paramètres environnementaux. Le déficit hydrique constitue l'un des facteurs majeurs limitant la survie des plantes. Pour s'adapter à cette contrainte, ces dernières ont développé au cours de leur évolution différentes stratégies. Cependant, ces processus peuvent se révéler insuffisant suivant l'intensité et la durée du stress hydrique, notamment dans des sols perturbés par des intrants ou dans le cas d'installation des plantes dans un milieu non natif, dans lesquels les liens avec des organismes clés de leur croissance, les CMA, sont fortement perturbés.

Les CMA sont en effet des acteurs majeurs dans les interactions plante-microorganisme (Uroz et al., 2019), notamment dans le contrôle du statut hydrique de la plante hôte (Porter et al., 2019). Cependant, les effets bénéfiques de cette symbiose sont très variables, dépendant des espèces de CMA, de l'hôte, des conditions pédoclimatiques, mais aussi des interactions avec les autres membres du microbiote du sol. Le manque de compréhension de l'ensemble de ces paramètres et de leur interaction est un obstacle majeur pour le déploiement des stratégies en ingénierie écologique basée sur l'utilisation des CMA, et la levée de certains verrous techniques comme la formulation de bio-inoculant à haute complexité (Finkel et al., 2019; Herrera Paredes et al., 2018; Kehe et al., 2019), et leur évaluation dans des conditions in situ (Qiu et al., 2019; Roupael et al., 2018) constituent des pré-requis.

## Chapitre II

---

**Les communautés bactériennes et fongiques du sol diffèrent dans leur importance comme indicateur microbien des habitats marocains à caroubier**

## Résumé

L'optimisation de la réponse d'une espèce végétale au déficit hydrique ne peut se faire sans une connaissance approfondie des interactions que cette espèce établie au sein de son écosystème et la détermination des acteurs clés au sein de ces interactions. Les analyses de biodiversité sont un prérequis menant *in fine* à la mise en place de politiques efficaces de conservation des habitats. Cependant, ces enquêtes se limitent généralement à la biodiversité aérienne en sous estimant la biodiversité dans le sol, cette dernière étant pourtant un élément-clé du bon fonctionnement de la strate végétale, comme démontré dans le chapitre I.

Dans la présente étude, nous nous sommes donc intéressés à l'identification du microbiote du sol dans un des habitats emblématiques du pourtour méditerranéen, les habitats à caroubier. Paradoxalement à son écologie, le caroubier (*Ceratonia siliqua*) est fortement menacé par les changements climatiques et l'allongement des périodes de sécheresse en raison d'une stratégie d'évitement très consommatrice d'eau, contrairement à l'olivier (*Olea europea*) défini comme tolérant à la sécheresse.

Les sols associés à des caroubiers ainsi qu'à des plantes caractéristiques de son habitat ont été échantillonnés dans le sud et le nord du Maroc. Les résultats montrent une prédominance des actinobactéries, protéobactéries et ascomycètes, parmi lesquels seuls quelques genres microbiens étaient dominants, à savoir *Rubrobacter*, *Microvirga* (bactéries) et *Alternaria*, *Mortierealla* et *Fusarium* (champignons). L'analyse de la structure du microbiote a révélé une distinction significative entre le nord et sud pour les communautés bactériennes et fongiques, fortement associée à des propriétés spécifiques du sol (rapport C / N et contenus N-P-K, et CaCO<sub>3</sub>, respectivement). Ces différences sont accentuées par une représentativité différente d'indicateurs microbiens suivant leur règne et de divergences fonctionnelles se traduisant par une prédominance d'agents pathogènes fongiques dans le nord et des bactéries bénéfiques et tolérantes au stress dans le sud. Cependant, un microbiote commun de 138 OTU a été mis en évidence pour l'association *Ceratonia-Pistacia*, indicateur des zones boisées thermophiles méditerranéennes.

Le chapitre a fait l'objet d'un article publié dans le journal Ecological indicators :

**Hamza Khassali**, Alex Baumel, Frédéric Mahé, Estelle Tournier, Yves Prin, Lahcen Ouahmane, Hervé Sanguin, 2020. The belowground bacterial and fungal communities differed in their significance as microbial indicator of Moroccan carob habitats. 114, 106341. (<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106341>).

**Mots clés** : biodiversité, *Ceratonia siliqua*, indicateur microbien, metabarcoding, microbiote du sol



## Introduction

Carob tree (*Ceratonia siliqua* L., Leguminosae), an important component of Mediterranean thermophilous woodlands and traditional rural landscapes, are characterized by declining population levels (Rankou et al., 2017). The major causes are the high urbanization affecting the Mediterranean coasts where most carob populations are localized, and an abandon of traditional carob orchards in favor of other fruit sectors (Rankou et al., 2017; Talhouk et al., 2005). A phytosociological study of Mediterranean carob habitats highlighted their high floristic diversity, notably in the Western basin where the carob tree meets its maximum ecological gradient (Baumel et al., 2018). In addition to its ecological importance, carob habitat conservation could be of great importance for the future since carob tree is known for its tolerance to marginal soils (Correia and Martins-Loução, 2005; Ozturk et al., 2010) and for the nutritional quality of its fruits as functional food (Papaefstathiou et al., 2018; Stavrou et al., 2018).

The development of efficient habitat conservation policies and actions needs an integrative view of the biodiversity that sustains ecosystem functioning. However, shortfalls in knowledge are observed for belowground biodiversity in the Mediterranean basin (Cameron et al., 2019), whereas it constitutes, notably soil microbiota, the bedrock on which soil nutrient cycling, plant productivity and ecological succession are built (Bardgett and Van Der Putten, 2014; van der Heijden et al., 2008; Wagg et al., 2014). Moroccan semi-natural and traditional agrosystems have a pivotal role in the conservation of carob genetic resources by sheltering the main evolutionary lineages found in this tree (Viruel et al., 2020). Moreover, Moroccan carob habitats are divided into two main floristic groups related to distinct edaphic parameters, climatic conditions and biogeographic history. The North group is close to South Iberian and North African vegetations, and the South group is at the margin of the carob geographic range with a vegetation composed of species found nowhere else on carob habitats (Baumel et al., 2018).

The current study aims at identifying the belowground microbiota associated with carob trees and major plant components of Moroccan carob habitats. Indicator plant taxa associated with both the North and South habitats (*Pistacia lentiscus*), or mainly with North (*Cistus albidus*) or South (*Vachellia gummifera*, *Globularia alypum*) (Baumel et al., 2018) were selected. In addition, *Lavandula dentata* and *Retama monosperma* were selected for their known beneficial

properties on soil mycorrhizal potential (Hafidi et al., 2013; Manaut, 2015; Ouahmane et al., 2006b).

## **I. Materials and methods**

### **1. Study sites and soil sampling**

Two carob habitats representative of the floristic group 1 (*Asparago albi-Rhamnion oleoidis*) and 4 (*Senecio anteuphorbii-Arganion spinosae*) as defined in Baumel et al. (2018) were selected, localized respectively in North Morocco (the Rif, 35°17'55.1"N, 5°13'40.0"W), and South Morocco (the Ourika valley, High Atlas, 31°17'45"N, 7°42'36"W). Soil samples were collected in April 2017 in close contact with the roots of carob trees (*C. siliqua*) or six other plant species (*Vachellia gummifera* (Willd.) Kyal. & Boatwr. 1806; *Cistus albidus* L.; *Globularia alypum* L.; *Lavandula dentata* L.; *Pistacia lentiscus* L.; *Retama monosperma* Boiss. 1840) localized 2 m around carob trunks. For each plant species, 3–5 kg of soil samples at 20 cm depth from five individuals, mixed and sieved through a 2 mm mesh. The soil under *C. siliqua* and *P. lentiscus* were sampled in both sites, *L. dentata*, *C. albidus* in the North site, and *G. alypum*, *R. monosperma* and *V. gummifera* in the South site. All soil samples were stored at 4 °C before processing. Soil properties were determined by the Laboratory of soil analysis (INRA, Arras, France) (**Table II.S2, see the annexe, p 150**).

### **2. DNA extraction, gene amplification and sequencing**

Total DNA was extracted from 500 mg of soil using the FastDNA SPIN kit for soil (MP Biomedicals Europe, Illkirch, France) according to manufacturer's instructions. DNA purity was improved by adding 40 mg of Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) during the first step of DNA extraction, and an additional washing step with 5.5 M guanidine thiocyanate before the use of the washing buffer SEWS-M. DNA extractions were done in duplicate and stored at –20 °C for further analysis.

Amplification of a 16S rRNA gene sub-region and the internal transcribed spacer ITS2 were performed for bacterial and fungal communities, respectively. All amplification products were

analyzed using paired-end Illumina MiSeq sequencing ( $2 \times 300$  bp) performed by GetPlaGe (Genotoul, Castanet-Tolosan, France). The 16S was amplified by polymerase chain reaction (PCR) using the primers V3F (5'-TACGGRAGGCAGCAG-3') and V4R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') (Alm et al., 1996), and ITS2 with the primers ITS86F (5'-GTGAATCATCGAATCTTTGAA-3') (Turenne et al., 1999) and ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). The forward and reverse primers were modified prior to first round amplification by adding the adaptor sequences P5-1 (5'-ctttccctacacgacGCTCTTCCGATCT-3') and P7-1 (5'-ggagttcagacgtgtGCTCTTCCGATCT-3'), respectively, which are needed for the second PCR round. The first PCR round was carried out in a final volume of 25  $\mu$ l containing 1X Green GoTaq® Reaction Buffer (Promega, Charbonnières, France), 0.4  $\mu$ M of each primer, 200  $\mu$ M of each dNTP, 2  $\mu$ l of 1/100 DNA extract, and 1 unit of GoTaq® DNA Polymerase (Promega), with the following cycling conditions. The thermal cycling was carried out with a denaturation step of 94°C for 3 min; 20 cycles (16S) or 35 cycles (ITS2) of 94°C for 45 s, 55°C for 45 s, 72°C for 45 s; a final elongation step at 72°C for 10 min. To improve recovery and to limit PCR bias, six amplification products (three per DNA extract; two DNA per plant species) were pooled, evaporated using a vacuum concentrator and resuspended in 50  $\mu$ l of sterile water. Amplification products were single-multiplexed using a home-made 6 bp index added to the reverse primers with a second 12-cycle PCR using the forward primer P5-2 (5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTctttccctacacgac-3') and the reverse primer P7-2 (5'-CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGAT-index-GTGACTggagttcagacgtgt-3'). The resulting PCR products (*e.g.* for 16S amplification, P5-2 + P5-1 + V3F + 16SrDNA region + V4R + P7-1 + P7-2) were purified, spiked with PhiX (15%), and loaded onto the Illumina MiSeq cartridge according to the manufacturer's instructions.

### 3. Data processing

Illumina sequencing, base calling and demultiplexing were carried out using RTA v1.18.54, MCS 2.6 and bcl2fastq2.17. Paired reads were assembled with vsearch v2.11.0 (Rognes et al., 2016) using the command `fastq_mergepairs` and the option `fastq_allowmergestagger`. Primer clipping was performed with cutadapt v1.9 (Martin, 2011) allowing a 2/3-length partial match for forward and reverse primers. Only reads containing both primers were retained. The

expected error per read was estimated with vsearch's command `fastq_filter` and the option `eeout`. Each sample was then dereplicated, *i.e.* strictly identical reads were merged, using vsearch's command `derep_fulllength`, and converted to FASTA format. To prepare for clustering, the samples were pooled and further dereplicated with vsearch. Files containing per-read expected error values were also dereplicated to retain only the lowest expected error for each unique sequence.

Clustering, chimera detection and taxonomic assignment were performed as detailed in Maghnia et al. (2017). The ribosomal database SILVA v132 (Quast et al., 2012) and a custom version of the ITS database UNITE v7 (Kõljalg et al., 2013) were used for the bacteria and fungi, respectively. Up to that point, reads without primers, reads shorter than 32 nucleotides and reads with uncalled bases ("N") have been eliminated. To create the final OTU (Operational taxonomic Unit) table, additional filters were applied to keep only non-chimeric OTUs, with an expected error per nucleotide below 0.0002, OTUs containing more than 3 reads or seen in 2 samples. All 16S OTUs assigned to chloroplastic or mitochondrial sequences were excluded. Similarly, ITS OTUs not assigned to fungal reference sequences were excluded.

## 4. Statistics

Tables were transformed using the R tidyverse package version 1.2.1 (Wickham et al., 2019a) and the plots were generated using the R ggplot2 package version 3.0.0 (Wickham, 2009). Global rarefactions for microbiota data were performed, based on the samples with the smallest sizes, down to 6,340 reads per sample for 16S and 10,457 reads per sample for ITS with R vegan package version 2.5-2 (Oksanen et al., 2016) using the `rrarefy()` function.

Community structure analysis was performed either by hierarchical clustering (HC) using the `hclust()` function from the `stat` package (R Core Team, 2017) or nonmetric multi-dimensional scaling (NMDS) implemented in the `metaMDS()` function from the R package `vegan`. HC was based on the Ward's method and euclidean distances from community data standardized by the Hellinger method using the `decostand()` function from the R package `vegan`. NMDS was based on Bray-Curtis dissimilarity index. Significance in community structure differences was assessed using PERMANOVA in the `adonis()` function from the R package `vegan`. Multivariate

dispersion (HOMOVA) was estimated using the *betadisper()* function and *permutest()* as it can affect PERMANOVA results.

The variability of soil samples based on the abiotic parameters was estimated by principal component analysis (PCA) using the *dudi.pca()* function from the *ade4* package (Chessel et al., 2004). The correlations between the soil properties and principal components were estimated using *s.corcircle()* function from the package *ade4*. The best subset of soil properties with maximum (rank) correlation with the microbiota structure was estimated for bacterial and fungal communities using the *bioenv()* function from the R *vegan* package.

Community membership among plant species and between habitats were assessed using Venn diagram analysis with the R package *VennDiagram* version 1.6.20 (Chen, 2016). Because of their importance in plant ecology, the specificity of interactions between *Glomeromycota* taxa and plant species was evaluated and visualized using the *plotweb()* function from the R package *bipartite* version 2.11 (Dormann et al., 2009). The levels of nestedness (weighed NODF-based index) and specialisation (H2 index) were retrieved using the *networklevel()* function from the R package *bipartite*.

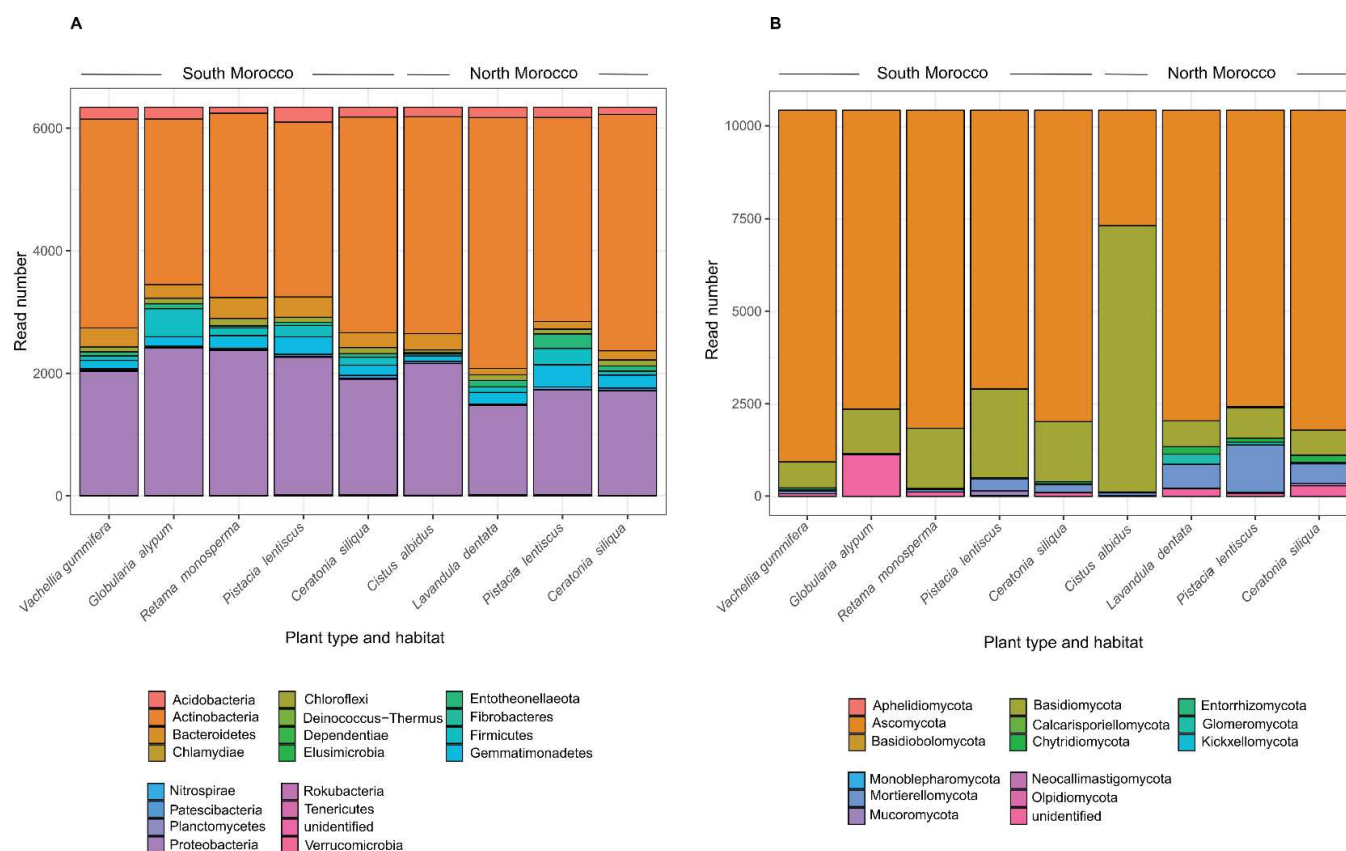
The significance of microbial taxa association with respect to habitat types (North and South), defined as microbial indicator, was determined using the indicator value (IndVal) index, as implemented in *multipatt()* function from the R package *indicspecies* version 1.7.6 (De Cáceres and Legendre, 2009). Two different probabilities were calculated, *i.e.* “A” (specificity), representing the probability of a sample to be defined by a habitat, given that the microbial taxa has been detected, and “B” (sensitivity) representing the probability of finding the microbial taxa in different samples characterized by a given habitat.

## II. Results

### 1. Global composition of belowground microbiota

Higher ranges of bacterial community richness ( $2,080 \pm 188$  OTUs) and diversity (shannon index  $6.7 \pm 0.2$ ) were observed when compared to the fungal community (richness  $647 \pm 209$  OTUs; shannon index  $4.1 \pm 0.9$ ) (Table II.S1, see the annexe, p149). Lower levels were

obtained for the fungal community in the South (richness  $557 \pm 169$  OTUs; shannon diversity  $3.7 \pm 0.3$ ) compared to the North (richness  $760 \pm 218$  OTUs; shannon diversity  $4.8 \pm 1.0$ ), but not for the bacteria (Table II.S1, see the annexe, p 149). The bacterial community was dominated by *Actinobacteria* (52% of sequences) and *Proteobacteria* (32%) (Figure II.1A; Table II.S3, see the annexe, p 151), and the fungal community by *Ascomycota* (71%), except for *C. albidus* (*Basidiomycota*, 69%) (Figure II.1B; Table II.S4, see the annexe, p 153). Only 1% of microbial OTUs were found in all samples, and 60% only in one sample. The most dominant bacterial OTUs (top 10% of most abundant; present in 2/3 of samples) belonged for 62% to *Actinobacteria* and 28% to *Proteobacteria* (Table II.S3, see the annexe, p 151) whereas the remaining 10% were split among seven other phyla. The most dominant fungal OTUs belonged mostly to *Ascomycota* (89%), *Mortierellomycota* (8%) and *Basidiomycota* (2%) (Table II.S4, see the annexe, p 153). The top genera (> 5%) were *Rubrobacter* and *Microvirga* for bacteria, and *Mortierella*, *Alternaria* and *Fusarium* for fungi, but a large part of sequences were not identified, 36% and 54%, respectively.

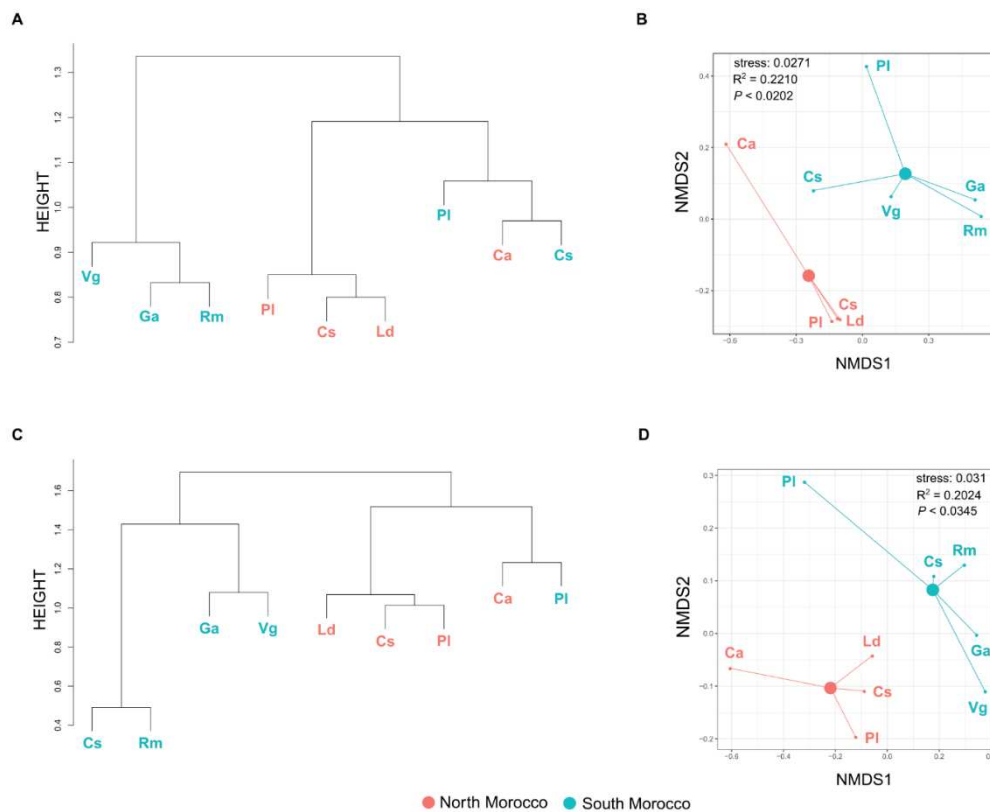


**Figure II.1.** Phylum level distribution of (A) bacterial and (B) fungal communities among plant species from the South and North habitats.

## 2. Habitat-related microbiota taxa

Microbiota structure analysis revealed a significant North/South pattern for the bacterial (**Figure II.2B**,  $P < 0.0202$ ) and fungal (**Figure II.2D**,  $P < 0.0345$ ) communities, with only 3% of bacterial OTUs and 20% of fungal OTUs shared between both habitats (**Figure II.S1, see the annexe, p 155**). However, HC and NMDS analyses revealed a higher similarity of bacterial community associated with *C. albidus* in the North (**Figure II.2A, 2B**) than with those associated with plant species in the South. To a lesser extent, the fungal community of *P. lentiscus* in the South was strongly dissimilar from those associated with the other plant species of the same habitat (**Figure II.2C, 2D**). Indicator species analyses revealed significant contrasted results between the North/South habitats and bacterial/fungal microbial taxa (**Table II.1**). The North was characterized by 17 fungal indicator taxa, notably *Pestalotiopsis*, *Pleurostoma*, *Spirosphaera*, and one bacterial taxa, whereas the South was characterized by 11 bacterial indicator taxa, notably *Kocuria* and *Naasia*, and no fungal indicator taxa (**Table II.1**). The functional assignment of the microbial indicators also showed functional divergences with a predominance of fungal pathogens in the North and stress-tolerant plant-beneficial bacteria in the South.





**Figure II.2.** Microbiota structure analysis from plant species of the North (red) and South (blue) habitats. Two methods were used to visualize the bacterial (A, B) and fungal OTU (C, D) community structures, hierarchical clustering (A, C) and non-metric multidimensional scaling (B, D). Vg, *Vachellia gummifera*; Ca, *Cistus albidus*; Cs, *Ceratonia siliqua*; Ga, *Globularia alypum*; Ld, *Lavandula dentata*; PI, *Pistacia lentiscus*; Rm, *Retama monosperma*. Differences in community structure between the North and South habitats were assessed by PERMANOVA.  $R^2$  and p-values from PERMANOVA are indicated on non-metric multidimensional scaling (B, D). Heterogeneity of data dispersion (HOMOVA) between North and South habitats were non-significant.



**Table II.1.** List of microbial indicator taxa associated with the North or South habitats

Locality	Taxonomic (genus) assignment	Functional assignment <sup>(1)</sup>	Probability <sup>(2)</sup> (A ; B )	Indicator value <sup>(3)</sup> (Indval.g)	p-value <sup>(4)</sup>
North Morocco	<b>Bacteria</b>				
	<i>Parafilimonas</i>	nd	1.00; 1.00	0.95	*
	<b>Fungi</b>				
	<i>Pestalotiopsis</i>	Plant pathogen / Endophyte	1.00; 1.00	1.00	**
	<i>Pleurostoma, Spirosphaera</i>	Undefined Saprotroph	1.00; 1.00	1.00	**
	<i>Purpureocillium</i>	Fungal parasite	0.97; 1.00	1.00	*
	<i>Cylindrosymposium</i>	Plant pathogen / Endophyte	0.97; 1.00	1.00	*
	<i>Geosmithia</i>	nd	0.97; 1.00	1.00	**
	<i>Dothiorella</i>	Plant pathogen / Endophyte	0.95; 1.00	0.97	*
	<i>Macrophomina</i>	Plant pathogen / Endophyte	0.93; 1.00	0.97	*
<i>Exophiala</i>	Animal pathogen	0.93; 1.00	0.97	*	

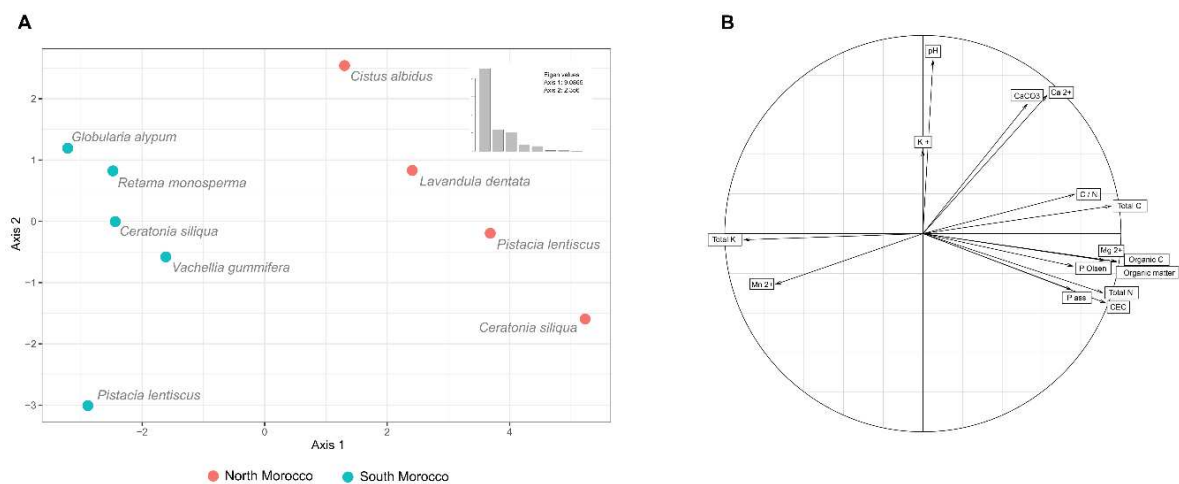
	<i>Lecanicillium</i>	Animal pathogen	0.87; 1.00	0.94	*
	<i>Calonectria, Kellermania</i>	Plant pathogen	1.00; 0.75	0.87	*
	<i>Malassezia, Phaeoacremonium</i>	Animal pathogen	1.00; 0.75	0.87	*
	<i>Ophionectria, Quadricrura</i>	Undefined Saprotroph	1.00; 0.75	0.87	*
	<i>Guttulispora</i>	nd	1.00; 0.75	0.87	*
<hr/>					
	<b>Bacteria</b>				
	<i>Kocuria</i>	PGPR, metal resistant, halotolerant	1.00; 1.00	1.00	**
	<i>Naasia</i>	nd	1.00; 1.00	1.00	**
	<i>Cellulomonas</i>	PGPR, nitrogen fixer, lignin degrading, halotolerant	0.98; 1.00	0.99	**
South Morocco	<i>Rhodocytophaga</i>	nd	0.94; 1.00	0.97	*
	<i>Rubellimicrobium, Geminicoccus</i>	Potential global stress tolerant	0.92; 1.00	0.96	**
	<i>Segetibacter</i>	nd	0.90; 1.00	0.95	*

<i>Rhodococcus</i>	PGPR, metal resistant, hydrocarbon degrading	0.88; 1.00	0.94	**
<i>Lautropia</i>	Potential hydrocarbon degrading	0.87; 1.00	0.93	*
<i>Myxococcus</i>	Plant pathogen antagonist, insoluble organic compound degrading	0.87; 1.00	0.93	*
Uncharacterized Beijerinckiaceae	nd	0.86; 1.00	0.93	*
<b>No significant fungal indicator</b>				ns

- 
- (1) For fungi, functional assignment was based on FUNGuild database (<http://www.funguild.org/>). For bacteria, traits related to plant pathogeny, plant-promoting effect, soil cycling or stress tolerance based on literature were indicated (Web of Science, TOPIC:*genus name* AND TOPIC:*soil*). nd, not defined. PGPR, Plant growth promoting rhizobacteria
- (2) Probability A indicates the specificity, *i.e.* the probability that a soil sample belongs to a given habitat given the fact that the taxa has been found. Probability B indicates the fidelity, *i.e.* the probability of finding the species in a soil sample belonging to a given habitat
- (3) Indval.g indicates the model of association used for the association test
- (4) Significance code. \*\*\*,  $P < 0.001$  ; \*\*,  $P < 0.01$  ; \*,  $P < 0.05$  ; ns,  $P > 0.05$

### 3. Soil properties-related microbial taxa

The North/South pattern observed for belowground microbiota is supported by the soil properties (Table II.S2, see the annexe, p 152), for which the main component of variance was organized between North and South (Figure II.3A) (Axis 1, 61% of total inertia; Axis 2, 15%). The differences were mainly explained by a higher global nutrient status in the North, with notably higher amount of organic matter and organic C (> 95% of relative contribution along axis 1). The South was, on the contrary, characterized by lower levels of all parameters measured, except for total K (> 80% of relative contribution along axis 1) (Figure II.3B). High pH levels were observed in both habitats, but intra-habitat variability was observed (> 75% of relative contribution along axis 2) (Figure II.3B). The analysis of the best correlation between a subset of soil properties and the microbiota structure highlighted the C/N ratio ( $r = 0.61$ ) for the bacterial community and the association of Total N, CaCO<sub>3</sub>, Olsen-P, K<sup>+</sup> and Total K ( $r = 0.52$ ) for the fungal community.



**Figure II.3.** Principal component analysis of soils collected under different plant species from North and South habitats based on soil properties. (A) Structuration of soil samples according to their physico-chemical characteristics. (B) Correlation circle indicating the contribution of each soil property in the structuration of soil samples.

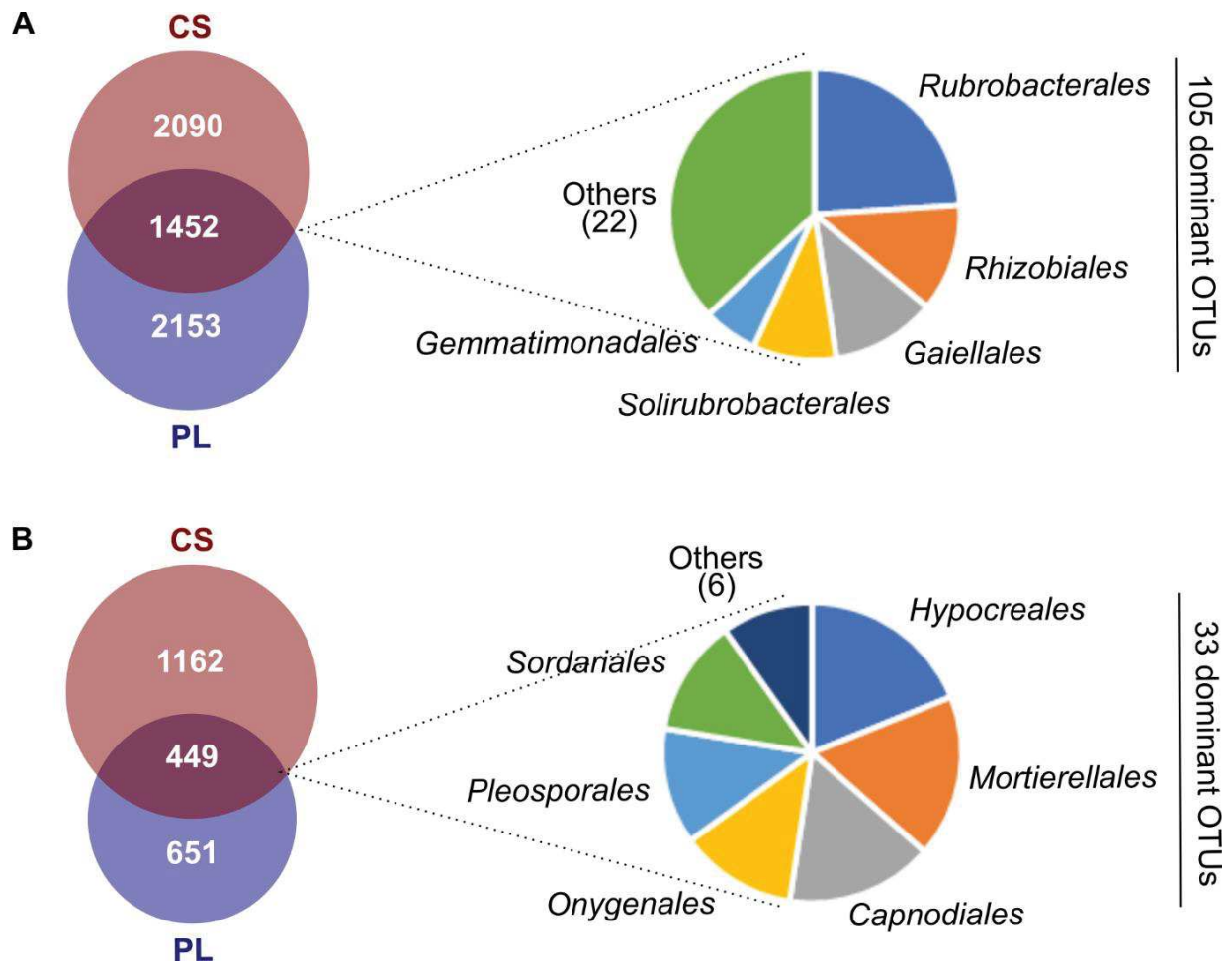
## 4. Plant-related microbiota taxa

In the North, the belowground microbiota associated with *P. lentiscus* and *L. dentata* showed the strongest similarity with *C. siliqua* (**Figure II.2B, 2D**). By contrast, the South was marked by divergences regarding the closest microbiota components between *C. siliqua* and the other plant species. The fungal community associated with *R. monosperma* in the South showed the strongest similarity with that of *C. siliqua* (**Figure II.2D**), whereas the most similar bacterial community of that of *C. siliqua* were *P. lentiscus* and *V. gummifera* (**Figure II.2B**). The *C. siliqua* -*P. lentiscus* association, one of the most frequent plant association in Moroccan carob habitats was more precisely analyzed, revealing a core microbiota of *ca.* 25% and 20% of the total bacterial and fungal OTUs, respectively (**Figure II.4**). The most dominant bacterial OTUs (top 10% of most abundant; present in all samples) constituting the core microbiota belonged mainly to deep-branching actinobacterial taxa, *Rubrobacter* (*Rubrobacteriales*), *Solirubrobacter* (*Solirubrobacter*), and one alphaproteobacterial taxa, *Microvirga* (*Rhizobiales*) (**Figure II.4A**). For the fungi, the most dominant OTUs were mainly assigned to *Fusarium* (*Hypocreales*), *Mortierella* (*Mortierellales*), *Chrysosporium* (*Onygenales*), *Alternaria* (*Pleosporales*), *Chaetomium* (*Sordariales*) (**Figure II.4B**). *Gaiellales* and *Capnodiales* were composed of unidentified taxa at the genus level.

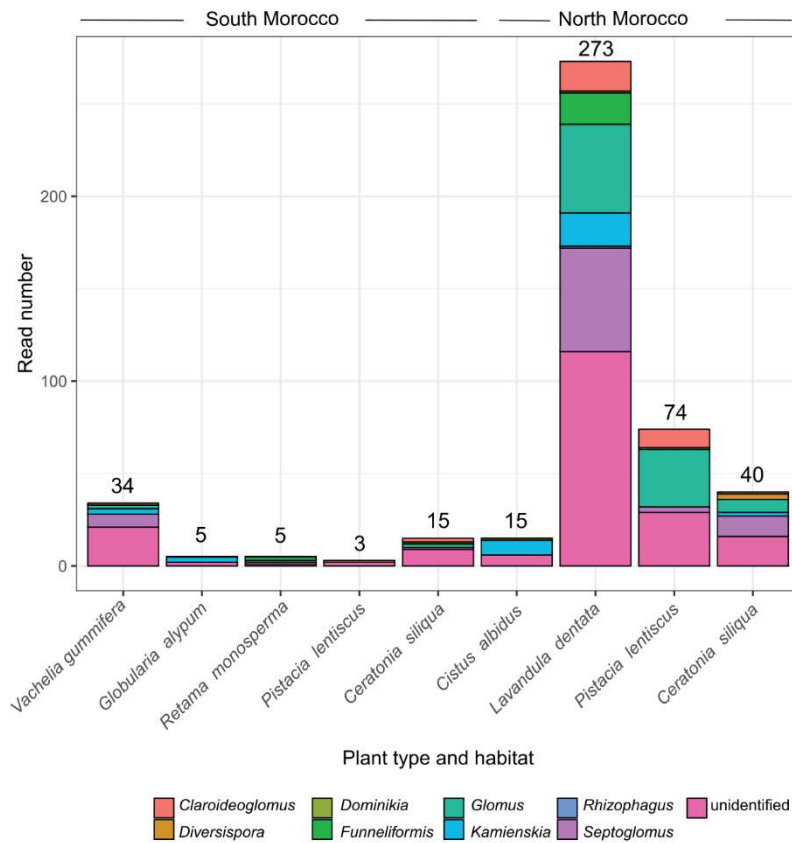
## 5. Characteristics of *Glomeromycota* community

The estimation of *Glomeromycota* abundance (read numbers) showed higher levels in the North (**Figure II.5**), notably for *L. dentata* (> 250 sequences), but no significant North/South pattern (PERMANOVA,  $R^2 = 0.19362$ ,  $P = 0.1217$ ) was observed. *Glomeromycota* accounted for 0.03% to 2.61% of the total soil fungal community depending on the habitat. The analysis of potential mycorrhizal networks at the habitat level between *Glomeromycota* (genus level) and plant species (**Figure II.6**) revealed a higher level of nestedness (weighted NODF-based index) in the North (49.6) compared to the South (29.3), but low levels of specialisation (H2 index), 0.14 and 0.20, respectively. In the North, three genera were associated with only one plant species, *Domonikia* with *P. lentiscus* and *Rhizophagus/Funneliformis* with *L. dentata*. In the South, *Domonikia* and *Rhizophagus* was not detected, and *Funneliformis* was associated with *R. monosperma*. *C. siliqua* was associated with the same *Glomeromycota* genera (*i.e.*

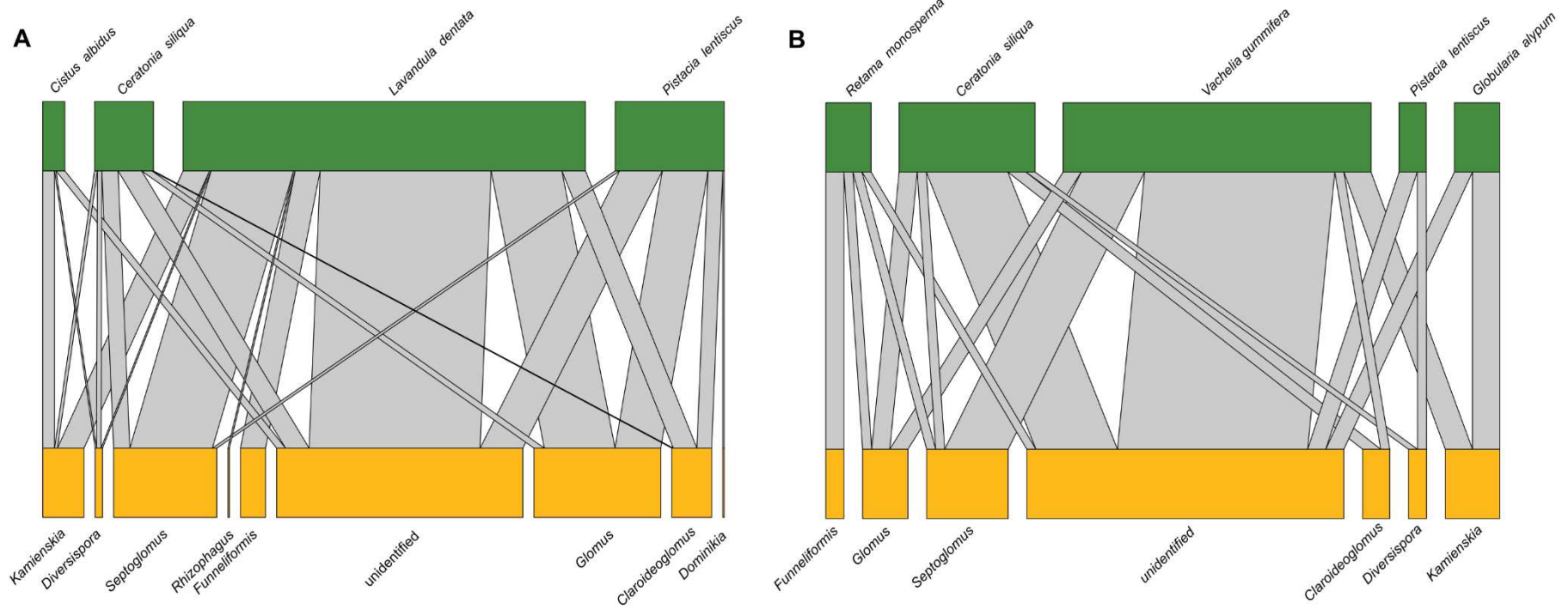
*Claroideoglomus*, *Diversispora*, *Glomus*, and *Septoglomus*), except for *Kamienskia* only in the North.



**Figure II.4.** Comparison of (A) bacterial and (B) fungal community membership (Venn diagram analysis) among *C. siliqua* and *P. lentiscus* from both the North and South habitats. For each venn category, the number of OTUs is indicated. Color pie charts represent the taxonomic distribution (order) of the most dominant OTUs (top 10% of most abundant; present in all samples) shared between the two plants. The category “Others” combines taxa representing < 5%. Cs, *Ceratonia siliqua*; Pl, *Pistacia lentiscus*.



**Figure II.5.** *Glomeromycota* genus distribution among plant species from the North and South habitats. The total number of sequences is indicated above each barplot.



**Figure II.6.** Bipartite interaction network formed by *Glomeromycota* (genus taxonomic level; lower boxes) and major plants species (upper boxes) in the North (A) and South (B) habitats.



### III. Discussion

The belowground microbiota is a major driver of plant diversity and ecosystem functioning (Graham et al., 2016; van der Heijden et al., 2008). Recent worldwide surveys revealed their tremendous diversity (Davison et al., 2015; Delgado-Baquerizo et al., 2018a; Egidi et al., 2019; Tedersoo et al., 2014), but also pinpointed the lack of data in some part of the world, e.g. southern Mediterranean regions like Morocco. The current study focused on the belowground microbiota associated with several plant species representative of Mediterranean thermophilous carob woodlands in Morocco. The plant species investigated had been mainly assessed for their mycorrhizal community, (Alguacil et al., 2011; Azcón-Aguilar et al., 2003; Ferrol et al., 2004; Manaut et al., 2015; Ouahmane et al., 2012; Torrecillas et al., 2014; Turrini et al., 2010) notably because of the role of mycorrhiza in ecosystem functioning (Banerjee et al., 2018; Gianinazzi et al., 2010; Qin et al., 2019; Rillig, 2004b). The *Glomeromycota* in particular are well known for their benefits (1) on plant productivity, (2) on tolerance to drought stress and resistance to pathogens, as well as (3) in the process of plant succession (Smith and Read, 2009). In contrast, only fragmentary data were available for the other belowground microbiota compartments.

The global composition of the belowground microbiota revealed in this study was congruent with worldwide surveys at the phylum levels (Delgado-Baquerizo et al., 2018a; Tedersoo et al., 2014), with *Actinobacteria*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Proteobacteria* and *Mortierellomycota* as the most dominant taxa. The rhizosphere of *C. albidus* was remarkably dominated by *Basidiomycota* when compared to other plant rhizospheres, probably due to its preferential association with ectomycorrhizal *Basidiomycota* (Comandini et al., 2006). Similarly to the patterns observed in worldwide surveys (Delgado-Baquerizo et al., 2018a; Egidi et al., 2019), only few OTUs were dominant, mostly belonging to *Ascomycota* (*Sordariomycetes* and *Dothideomycetes*), *Actinobacteria* (*Actinobacteria*, *Thermoleophilia* and *Rubrobacteria*) and *Proteobacteria* (*Alphaproteobacteria*). Amongst the plant species investigated in the current study, the two trees (*C. siliqua* and *P. lentiscus*) frequently associated in Mediterranean thermophilous woodlands (Baumel et al., 2018) shared 24% of OTUs, of which only 7% were dominant. *Rhizobiales*, a keystone alphaproteobacterial taxa in forest and woodland ecosystems (Banerjee et al., 2018), was the second most represented bacterial order among the dominant OTUs, as well as in the core microbiota between *C. siliqua* and *P. lentiscus*. The importance of *Rhizobiales* in carob functioning remains controversial. Indeed,

evidence of N-fixing bacteria in carob roots (El Idrissi et al., 1996) has been strongly questioned (Konate et al., 2007), and neither nodules or N-fixation were observed for field-grown carob trees (La Malfa et al., 2010). Nevertheless, potential N-fixing *Rhizobiales* belonging to *Microvirga* (Andrews and Andrews, 2017) appeared as predominant taxa in both carob habitats.

A significant North/South pattern was observed for the belowground microbiota, supported by differences in the soil properties. Soil properties are known as a major driver of belowground microbiota (Bastida et al., 2019; Delgado-Baquerizo et al., 2018b; Tedersoo et al., 2014) but specific soil properties differently affects bacterial and fungal communities. Soil pH has been described as shaping mostly the bacterial community structure, whereas soil nutrient status (C/N ratio, total N, total P) was more correlated with the fungal community structure (Lauber et al., 2008; Rousk et al., 2010). Soil pH is undoubtedly the best predictor of bacterial diversity and biomass (Griffiths et al., 2011; Karimi et al., 2018; Lauber et al., 2009), but it weakly contributed to the North/South pattern observed in the current study, due probably to a narrow pH range among soil samples, and rather explaining intra-habitat variabilities potentially related to differences in plant root exudates (Herz et al., 2018; Wang et al., 2016). In the current study, C/N ratio was the best predictor of bacterial community structure, whereas the highest correlation with the fungal community was obtained for N-P-K and CaCO<sub>3</sub> contents. The soil C/N ratio is rather highly correlated with fungal community structure (Lauber et al., 2008; Thomson et al., 2015), and has been previously described as one of the best predictors of fungal community structure in the Northern Moroccan forest (Maghnia et al., 2017). Nevertheless, the soil C/N ratio has been also reported as an important driver, though less significant than pH, of bacterial community structure (Griffiths et al., 2011), with an increasing significance for specific bacterial taxa (Karimi et al., 2018; Thomson et al., 2015). P content is generally one of the most significant soil nutrient parameters, though less significant than C/N ratio, correlated with fungal community structure (Lauber et al., 2008; Maghnia et al., 2017). On the contrary, few data is available regarding the contribution of calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>) content in the structure of fungal communities, but soil calcium content has been shown as a strong predictor at the global scale (Tedersoo et al., 2014).

A subset of habitat-related microbial indicators were characterized, emphasizing differences at the kingdom level, with a higher significance of fungal taxa to characterize the North habitat and bacterial taxa for the South habitat. In addition, functional divergences highlighted habitat-related microbial traits with mainly fungal plant/animal pathogens in the North, which may be related to more favorable climatic (higher humidity) and soil (Higher C-N-P) conditions in the

North, as suggested in Tedersoo et al. (2014). The South was on the contrary characterized by bacterial taxa with the ability to both resist to harsh conditions and promote plant growth, highlighting the potential importance of semi-arid environments as a reservoir of stress-tolerant plant-beneficial microorganisms, to be considered in future studies of Mediterranean belowground microbiota. The use of microbiota as species/compositional indicators of environmental factors have shown its reliability in various environmental and spatial scales (Bouffaud et al., 2016; Fortunato et al., 2013; Maghnia et al., 2017; Ritz et al., 2009; Stone et al., 2016) but remains one of the least studied indicator groups (Gao et al., 2015; Schloter et al., 2017).

Plant host species weakly contributed to microbiota structure compared to the soil properties, which is in accordance with previous observation in woodlands and grasslands (Bonito et al., 2014; Kuramae et al., 2011), but plant host effect appeared more important on the *Glomeromycota* community. Differences in the composition of *Glomeromycota* community related to plant host species as been widely shown in semi-arid ecosystems (Alguacil et al., 2011; Martínez-García et al., 2011; Sánchez-Castro et al., 2012). Nevertheless, the lack of a North/South pattern could be explained by the low number of *Glomeromycota* sequences retrieved, due, among other things, to the molecular approach used, *i.e.* a general fungal ITS marker sequencing rather than a *Glomeromycota*-specific 18S marker sequencing, which is known as a potential bias affecting the *Glomeromycota* abundance, diversity and composition (Berruti et al., 2017; Lekberg et al., 2018). *Glomeromycota* was abundant mostly in the rhizosphere of *L. dentata*, reaching 3% of the total fungal community, which supports the promoting effect of *L. dentata* on the soil mycorrhizal potential (Hafidi et al., 2013; Ouahmane et al., 2006a). The abundance of *Glomeromycota* in lavandula-associated soils corresponded to the top levels observed in soils using general fungal ITS marker sequencing (Clemmensen et al., 2015; Guo et al., 2019; Leff et al., 2015; Orgiazzi et al., 2012; Tedersoo et al., 2014). Benefits of mycorrhizal symbiosis were demonstrated on carob growth and drought stress tolerance (Essahibi et al., 2017; Manaut et al., 2015; Ouahmane et al., 2012), but different effects depending on *Glomeromycota* taxa was observed (Essahibi et al., 2017), highlighting the need to better characterize mycorrhizal partners of carob trees. The current results extended the range of *Glomeromycota* taxa previously described as associated with carob trees using older methodologies (Manaut et al., 2015), with notably the detection of *Diversispora* spp., expanding the potentialities of carob habitats as reservoir of mycorrhizal resources to improve carob afforestation strategies (Manaut et al., 2015). Nevertheless, a deeper investigation of

carob habitats and cross-compartment surveys (soils vs roots; Berruti et al., 2017; Varela-Cervero et al., 2015) are necessary to fully decipher the mycorrhiza community associated with carob trees.

## **Conclusion**

The current work provided new insights on rarely assessed belowground biodiversity of Moroccan carob habitats. Microbiota community structure appeared as a relevant variable to characterize carob habitat heterogeneity in addition to floristic diversity and soil properties. Taxonomy and function of bacteria and fungi differed in their significance to define the type of habitat, strengthening the need to survey both bacterial and fungal communities in biodiversity surveys, and highlighting different microbial reservoirs with functionalities of interest (PGPR, stress-tolerant bacteria, Mycorrhiza) for biotechnology developments.

## Chapitre III

---

**Rôle différentiel des mycorhizes et de champignons endophytes de type DSE dans les compromis croissance-résistance à la sécheresse chez le caroubier**

## Résumé

Le microbiote racinaire est un des facteurs clés de la croissance et de la santé des plantes, établissant des interactions complexes avec les plantes pour faire face à une grande diversité de stress abiotiques. La sécheresse est considérée comme l'un des plus graves stress abiotiques affectant la croissance de la végétation méditerranéenne et la productivité des cultures. Nous avons proposé de décrypter les caractéristiques du microbiote racinaire qui sous-tendent la résistance à la sécheresse chez le caroubier méditerranéen (*Ceratonia siliqua*), un modèle culturel et économique important dans le bassin méditerranéen, menacé par l'aggravation des périodes de sécheresse. Les sols échantillonnés sous des plantes connues pour leur importance écologique dans les habitats du caroubier ont été utilisés comme bio-inoculants (SoBIO) afin de générer différents microbiotes racinaires du caroubier. Les principales hypothèses sont que le compromis entre la croissance et la résistance à la sécheresse est déterminé par les caractéristiques du microbiote, et que le microbiote naturellement associé au caroubier devrait être le plus performant. Les résultats ont démontré les meilleures performances de croissance dans des conditions non limitantes en eau du SoBIO natif du caroubier et de deux SoBIO non natif du caroubier provenant de l'orge (*Hordeum vulgare*) ou du genêt blanc (*Retama monosperma*). Les performances de croissance les plus faibles ont été associées à de faibles niveaux de richesse et de diversité des microbiotes racinaires, mais l'inverse n'a pas été confirmé. L'association potentielle entre des mycorhizes et des rhizobia bénéfiques pourrait constituer les acteurs principaux de la croissance des plantes en l'absence de carence en eau. La sécheresse a faiblement affecté les caractéristiques du microbiote racinaire (richesse, diversité, structure), mais une faible résistance du caroubier inoculé avec SoBIO natif du caroubier a été démontrée. En revanche, le SoBIO provenant du lentisque (*Pistacia lentiscus*) a conféré le plus haut niveau de résistance à la sécheresse, et le meilleur compromis croissance-résistance à la sécheresse. De manière surprenante, le microbiote racinaire dérivé du SoBIO provenant du lentisque était le plus similaire à celui dérivé du SoBIO natif du caroubier, suggérant qu'un nombre limité de taxons entraînent des changements majeurs dans la réponse du caroubier, mettant en exergue l'importance d'endophytes fongiques de type DSE (dark septate fungal endophytes), en synergie potentielle avec des mycorhizes, pour faire face à la sécheresse.

Le chapitre fait l'objet d'un article en cours de préparation pour une soumission au journal *New phytologist* :

**Hamza Khassali**, Alex Baumel, Frédéric Mahé, Estelle Tournier, Yves Prin, Lahcen Ouahmane, Hervé Sanguin, 2020. Differential implication of mycorrhiza and dark septate endophytes in growth-drought resistance trade-offs in carob trees.

**Mots clés** : *Ceratonia siliqua*, compromis croissance / résistance, DSE, microbiote, mycorhize

## Introduction

Drought is considered as one of the most serious abiotic stress affecting Mediterranean vegetation growth and crop productivity (Allen et al., 2010; Peñuelas et al., 2001; Sofo et al., 2012). Loss in crop yield induced by drought has even been predicted as more important than all pathogens combined, with negative synergistic impacts between drought and disease (Desprez-Loustau et al., 2006; Gupta et al., 2020; Suzuki et al., 2014). Climate change will drastically limit water availability, requiring the yield improvement of rain-fed systems and a higher efficiency of irrigation systems to maintain the sustainability of freshwater resources and traditional landscapes (Malek et al., 2018). However, 75 % of water consumption is already used for agriculture in Mediterranean basin (Xiloyannis et al., 2012), and may rise > 20 % by 2100 (Wada et al., 2013). Among the promising alternatives, the deployment of ecological engineering based on soil biota has a great potential for agricultural sustainability (Bender et al., 2016). However, plant breeding and engineering programs remain the prime strategy to improve cultivated plant responses to drought (Gupta et al., 2020) whereas they may have resulted in a disruption of interactions between plants and beneficial microbiota (Porter and Sachs, 2020). Identifying microbiota promoting plant resistance to drought is a major issue for agricultural sustainability.

Plant functioning is dependent on a complex and diverse assembly of microbes living on or inside the plant tissue, named the plant microbiota (Bulgarelli et al., 2015; Vandenkoornhuysen et al., 2015), and root-associated microbiota play a fundamental role in plant growth and plant health (de la Fuente Cantó et al., 2020; Hardoim et al., 2015; Mendes et al., 2013). Complex feedbacks take place between plant and root-associated microbiota to cope with drought, with short-term interactions leading to plant drought tolerance, and long-term modifications in plant-microbiota interactions following a drought episode that may prefigure more efficient responses (de Vries et al., 2020). The efficiency of beneficial microbiota, notably arbuscular mycorrhizal (AM) fungi, was estimated to be higher in drought conditions (Porter et al., 2019; Rubin et al., 2017). However, drought strongly impacts soil and root-associated microbiota (Andreo-Jimenez et al., 2019; de Vries et al., 2018; Gao et al., 2020), potentially altering the role of microbiota members (Andreo-Jimenez et al., 2019; Sendek et al., 2019).

In this study, we used an original model to decipher the root microbiota features underpinning plant drought resistance, based on Mediterranean carob habitat characteristics and soil microbiota transplantation. The carob tree (*Ceratonia siliqua*) is a key cultural and economic



model in the Mediterranean basin largely cultivated for food and forage since the antiquity (Ramón-Laca and Mabberley, 2004; Zohary, 2002). It is considered as a drought avoider/water-spender (Gullo et al., 1986; Oliveira et al., 2011) contrary to the olive tree (*Olea europea*) and the lentisk tree (*Pistacia lentiscus*), defined as drought tolerant or with intermediate strategies, respectively. Consequently, the worsening of drought periods predicted for the Mediterranean basin (Polade et al., 2014; Thiébauld and Moatti, 2016) may particularly affect the survival of carob trees. The Mediterranean carob habitats are present along various ecological gradients, constituting an important ecological legacy to be exploited for identifying beneficial microbiota (Baumel et al., 2018; Khassali et al., 2020).

Based on microbial-stress interaction models proposed by Porter et al. (2019), we hypothesized that Mediterranean carob habitats might harbour drought-adapted soil microbiota with a high ecological role in the context of climate change, which may establish a positive synergy with drought and confer benefits having a greater contribution to plant performance in drought conditions, rather than a soil microbiota promoting plant performance under optimal water resource, but with less important role under drought, corresponding to a negative synergy. A growth-resistance trade-off should therefore be sought the most performant to cope with future uncertainties. In this ecological context, the soil/root microbiota naturally associated with carob is expected to be the most suitable to fit a positive synergy with drought due to a beneficial host-filtering effect. To address these two main hypotheses, native soils were sampled under a range of plants known for their ecological importance in carob habitats or in traditional carob-based agroecosystems, and used as bio-inoculants in carob growth experiments subjected to WATER or DROUGHT conditions. Native soil microbiota from South Moroccan carob habitats were selected because of (1) probable more efficient interactions with carob trees than commercial or exotic inoculants (Emam, 2016; Johnson et al., 2010; Maltz and Treseder, 2015), and (2) their higher proportion of stress-tolerant plant-beneficial microorganisms (Khassali et al., 2020). Parallel to the analysis of carob responses to SoBIOS in WATER and DROUGHT conditions, root microbiota was characterized to address its role in the growth-resistance trade-off.

# I. Materials and Methods

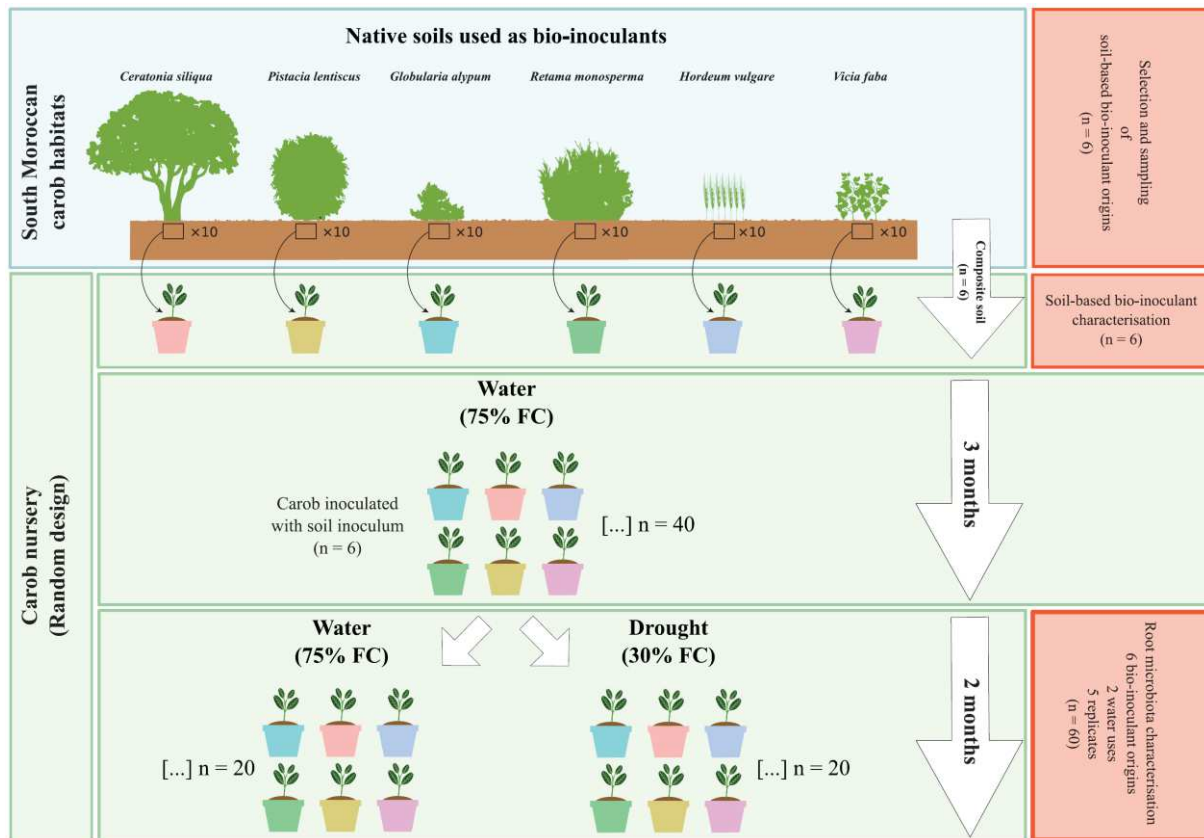
## 1. Study site and soil sampling

Soil samples were collected in April 2018 from the Ourika valley (High Atlas, Morocco) (31° 17' 45" N, 7° 42' 36" W) characterized by a semi-arid Mediterranean climate with hot and dry summers. In various representative habitats of the valley, six plants, including carob tree (*Ceratonia siliqua*), were selected as reservoirs of soil microbiota for the controlled experiments. *Pistacia lentiscus* is one of the most frequent plant associated with carob trees throughout the Mediterranean (Baumel et al., 2018), and *Globularia alypum* is frequent in Southern Moroccan carob tree habitats (Baumel et al., 2018). *Retama monosperma* was selected because of supposed facilitation processes with carob trees (Manaut, 2015). *Hordeum vulgare* and *Vicia faba* are two main cultures frequently observed in traditional farming in the Ourika valley associated with carob trees. For each plant species, 10 individuals were selected and *c.a* 1 kg of soil was collected near the plant roots (20 cm depth). Soil samples (10 kg for each plant species) were carefully mixed per plant species and sieved through a 2 mm mesh sieve, and stored at 4 °C before the use of soil subsample as microbial inoculant.

## 2. Carob growth experiments

Mature seeds of *C. siliqua* were collected from local populations all along the Ourika valley. Seeds were scarified and surface-disinfected with 96% concentrated sulfuric acid for 30 min, and transferred in distilled water for 48 h. Germinated seeds were transferred into 1-l pots filled with 600 g of a river sand/soil mixture (w/w), previously passed through a 2mm sieve and autoclaved, and supplemented with 100 g of soil subsample (hereafter named soil-based bio-inoculant, SoBIO). In total, 240 carob seedlings were grown during five months in a shadehouse under local environmental conditions (Safi, Morocco; 32/18 °C day/night temperature and a photoperiod of 16h). All seedlings were arranged in a randomized complete block design, with 40 replicates for each SoBIO and watered daily during three months to maintain 75 % of field capacity (FC). Two hydric conditions were then applied, (1) a WATER condition (no water deficiency) for which 75 % of FC was maintained for 3 months, and (2) a DROUGHT condition

(water deficiency) exposed to dry until soil water content reached 30% of FC for 2 months. The soil water status was monitored by daily weigh-ups, and readjustments were done when necessary to maintain the two hydric conditions. The flowchart of experimental procedures is illustrated in **Figure III.1**.



**Figure III.1.** Flowchart of experimental procedures from the sampling of native soils from South Moroccan carob habitats to the setup of carob growth experiments inoculated with native soils (SoBio) under WATER (no water deficiency) and DROUGHT (water deficiency) conditions.

### 3. Carob growth, nutrition, physiology and mycorrhizal parameters

Five-month-old carob seedlings were harvested to estimate plant growth, i.e. plant height, root collar diameter, number of leaves, leaflets number, root fresh weight, root dry weight, shoot fresh weight, shoot dry weight, secondary root number in the first 15 cm, total root area and primary root length. Plant nutrition was evaluated by measurement of phosphorus (P), potassium (K), nitrogen (N) and carbon (C) contents in leaf and roots (Platforms SAME [Multi-

Elemental Analyses Service] and AIS [Stable Isotope Analyses], UMR BPMP, Montpellier, France). A range of physiological parameters were measured to evaluate the carob response to drought. The relative water content (RWC) was estimated according (Rivero et al., 2018);  $RWC = (\text{fresh weight} - \text{dry weight}) / (\text{turgid weight} - \text{dry weight}) \times 100$ . The stomatal conductance ( $g_s$ ) was measured on youngest leaves from five different seedlings using a leaf porometer (SC-1 Leaf porometer, Decagon devices Inc, Meter group, USA), two hours after the light turned. The chlorophyll content (Chl) was evaluated as described by (Arnon, 1949);  $Chl_{(a+b)} = 8.02 OD_{663} + 20.20 OD_{645}$ . The membrane stability index (MSI) was estimated by measuring electrolyte leakage according to (Shanahan et al., 1990);  $MSI (\%) = [1 - (EC1/EC2)] \times 100$ . The water loss rate (WLR) was computed based on (Clarke and McCaig, 1982);  $WLR = (FW - W_{2h}/DW) \times (1/FS \times 120)$ .

Root mycorrhizal colonization was estimated by visual observation according to (Phillips and Hayman, 1970). Fresh fine roots were carefully washed with tap water, and cleared in 10% KOH at 90 °C for 2 hours. The roots were treated with 7.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 5 min, and then acidified in 1% HCl for 5 min. The cleared roots were stained with 8% of ink solution (Sheaffer® Skrip Black) in lactoglycerol (v/v) at 90 °C for 20 min. Twenty randomly selected fragments of each condition were used for microscopic observation to determine four mycorrhizal colonization parameters, the frequency (F%), the intensity (I %), the arbuscular intensity (A %) and vesicular intensity (V %) according to (Trouvelot et al., 1986);  $F \% = (\text{number of mycorrhized fragments} / \text{total number of observed fragments}) \times 100$ ;  $I \% = (95 n_5 + 70 n_4 + 30 n_3 + 5 n_2 + n_1) / (\text{total number of observed fragments})$ ;  $A \% = (100 m_{A3} + 50 m_{A2} + 10 m_{A1}) / 100$  ;  $V \% = (100 m_{V3} + 50 m_{V2} + 10 m_{V1}) / 100$ .

#### **4. DNA extraction, gene amplification, sequencing**

Characterization of bacterial and fungal communities were conducted on DNA extracted from soil-based bio-inoculants and carob roots. Total DNA was extracted either from 500 mg of soil-based bio-inoculant using the FastDNA SPIN kit for soil (MP Biomedicals Europe, Illkirch, France) or 50 mg of liquid nitrogen grounded roots using the FastDNA SPIN Kit (MP Biomedicals) according to manufacturer's instructions with some modifications. DNA purity was improved by adding 40 mg Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) during the first step of DNA extraction, and an additional washing step with 5.5 M guanidine thiocyanate before the use of

the washing buffer SEWS-M. DNA extractions were done in duplicate and stored at -20°C for further analysis.

Amplification of a 16S rRNA gene sub-region and the internal transcribed spacer ITS2 were performed for bacterial and fungal communities, respectively, as described in (Khassali et al., 2020). All amplification products were analyzed using paired-end Illumina MiSeq sequencing (2×250 bp) performed by Get-PlaGe (Genotoul, Castanet-Tolosan, France), as described in (Khassali et al., 2020).

## 5. Data processing

Illumina sequencing, base calling and demultiplexing were carried out using RTA v1.18.54.0, MCS 2.6.2.1 and bcl2fastq2.20. Paired reads were assembled with vsearch v2.14.1 (Rognes et al., 2016), and primer clipping was performed with cutadapt v1.11 (Martin, 2011). Clustering with swarm v3.0.0 (Mahé et al., 2015), post-clustering curation with lulu (Frøslev et al., 2017), chimera detection and taxonomic assignment as detailed in (Khassali et al., 2020). The ribosomal database SILVA v138 (Quast et al., 2012) and a custom version of the ITS database UNITE v8.2 (Kõljalg et al., 2013) were used for the bacteria and fungi, respectively.

## 6. Statistics

Tables were transformed using the R tidyverse package version 1.2.1 (Wickham et al., 2019b) and the plots were generated mainly using the R ggplot2 package version 3.0.0 (Wickham, 2016) associated with ggplot2 extension (see details below), and assembled using the R package patchwork version 1.0.1 (Pedersen, 2020).

Multivariate correlation analyses were performed to select a subset of the most representative carob parameters. Spearman correlations among plant growth, physiology and mycorrhizal parameters were estimated using the *cor()* function from the R package stats (R Core Team, 2018), and visualized as heatmaps using *ggcorrplot()* function from the R Package ggcorrplot version 0.1.3 (Kassambara, 2019). Principal components analysis (PCA) were performed using the *dudi.pca()* function from the R package ade4 (Chessel et al., 2004)

and visualized using *ggscatter()* from the R package *ggpubr* (Kassambara, 2020). The correlations among the different plant parameters and between the plant parameters and principal components were visualized using *fviz\_pca\_var()* function from the R package *factoextra* version 1.0.7 (Kassambara and Mundt, 2020).

The carob tree responses were analysed relatively to the average response of carob trees grown with the native carob SoBIO and under water condition used here as a reference. The data were normalized as following:  $\log(p/p.\text{carob.water})$ , where *p* is the individual value and *p.carob.water* the reference. The effect of SoBIOs under water condition were displayed with boxplots: according to data transformation positive or negative values indicate better or lesser performance relatively to the carob SoBIO. Linear regression models, using the *lm()* function from R package *stats*, tested the effect of hydric conditions and its interaction with SoBIO on each selected carob parameter. A significant positive or negative interaction effect indicates a positive or negative synergy between the drought and the SoBIO effects. As a growth decrease is expected under drought condition a positive synergy for the growth parameters will indicate a better resistance brought by a specific SoBIO. Summary and interaction plots between the water regimes and the type of SoBIO were performed using the *summ()* and *cat\_plot()* functions from R package *jtools* version 2.0.2 (Long, 2019).

Microbiota sequencing data were subjected to global rarefactions, based on the samples with the smallest sizes, down to 12,828 reads per sample for 16S and 1,711 reads per sample for ITS with R *vegan* package version 2.5-2 (Oksanen et al., 2019) using the *rrarefy()* function. Diversity (Shannon, inverse Simpson [1/D]), and richness (number of OTUs) were estimated using the R package *vegan*. Community structure analysis was performed either by hierarchical clustering (HC) using the *hclust()* function from the R package *stats* or nonmetric multi-dimensional scaling (NMDS) implemented in the *metaMDS()* function from the R package *vegan*. HC was based on the Ward's method and euclidean distances from community data standardized by the Hellinger method using the *decostand()* function from the R package *vegan*. NMDS was based on Bray-Curtis dissimilarity index from  $\log(1+x)$  transformed microbiota data. Significance in community structure differences was assessed using PERMANOVA in the *adonis()* function from the R package *vegan*. Multivariate dispersion (HOMOVA) was estimated using the *betadisper()* function and *permutest()* as it can affect PERMANOVA results.

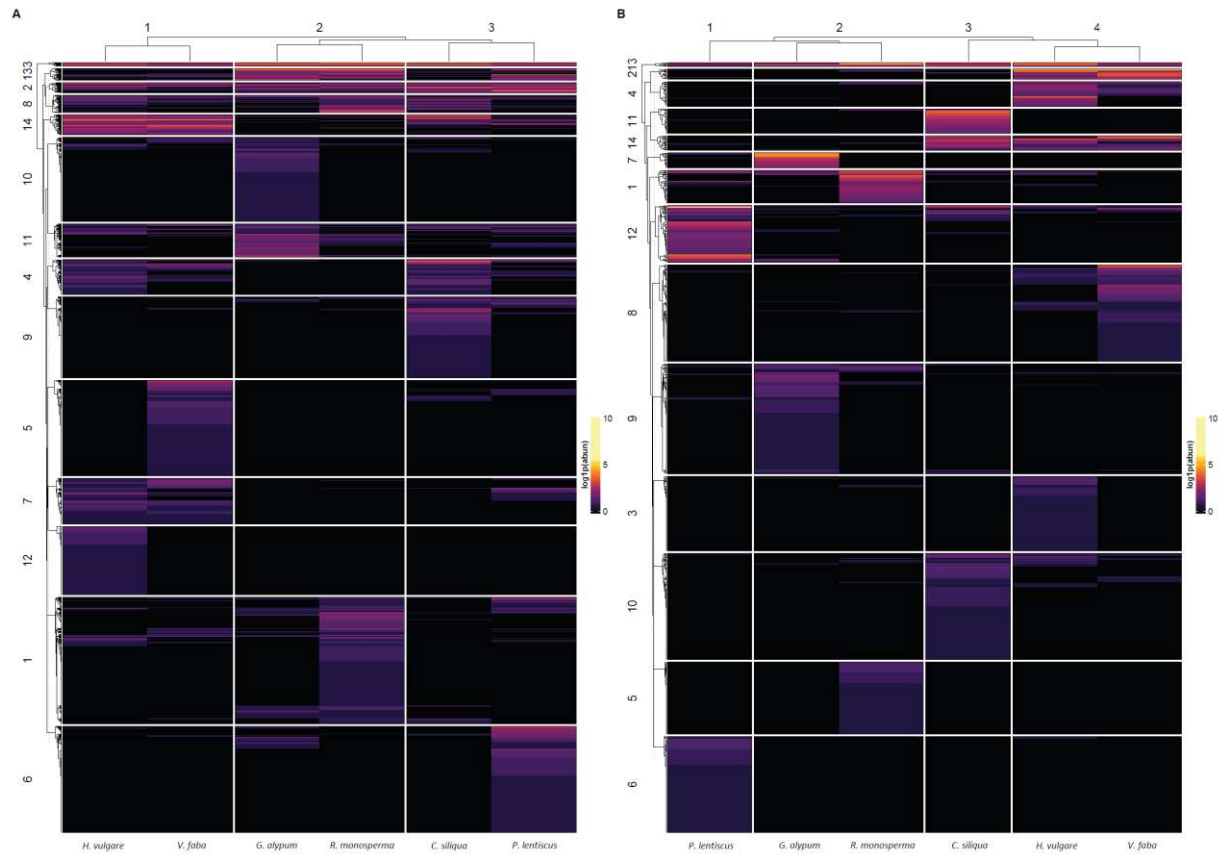
Community membership among plant species was assessed using the *upset()* function from the R package UpSetR version 1.4.0 (Conway et al., 2017) and VennDiagram version 1.6.20 (Chen, 2016). Differential OTU abundance analysis was based on generalized linear model (GLM) approach and quasi-likelihood F-test using *glmQLFit()* and *glmQLFTest()* from the R package edgeR (Chen, 2016). A pre-filtering of OTUs with low reads number we performed based on a count-per-million (CPM) filtering and OTUs that have a CPM values above 0.5 in at least 3 replicates / condition were kept. The Depleted index (DI) and Dissimilarity index (DSI) (Xiong et al., 2020) were used to assess differences in the host-selecting process depending of the SoilBIO origins.  $DI = \text{numbers of depleted OTUs} / \text{numbers of enriched OTUs}$ .  $DSI = (\text{numbers of enriched OTUs} + \text{numbers of depleted OTUs}) / \text{total OTUs} (> 0.5 \text{ CPM})$ ].

## II. Results

### 1. Characterisation of soil-based bio-inoculants (SoBIOs)

Hierarchical clustering analysis of SoBIOs revealed OTU clusters representative of one or several plant types, and different soil origin clusters depending on the kingdom (**Figure III.2**). The soils from *C. siliqua* and *P. lentiscus* were in a common cluster regarding the bacterial community (**Figure III.2A**), but highly differed regarding the fungal community (**Figure III.2B**). At contrary, the SoBIO from *H. vulgare* and *V. faba* or *G. alypum* and *R. monosperma* clustered in both cases (**Figure III.2**). The *C. siliqua* SoBIO differed from the others mainly by three OTU clusters, the bacterial OTU cluster N°9 (**Figure III.2A**) composed of 342 genera, mainly affiliated to unidentified 67-14 (4% of total cluster abundance; *Actinobacteria*) and unidentified *Sandaracinaceae* (3%; *Myxococcota*), and the fungal OTU cluster N°10 and N°11 composed of 84 and 27 genera, mainly affiliated to *Mortierella* (10%; *Mucoromycota*) and *Inocybe* (10%; *Basidiomycota*), respectively. Soil origin clustering was maintained from OTU to phylum levels for bacteria, but not for fungi (**Figure III.S1, see the annexe, p 162**). Differences observed at the OTU level between *C. siliqua* and *P. lentiscus* origins decreased whereas it increased between *G. alypum* and *R. monosperma* or between *H. vulgare* and *V. faba*.





**Figure III.2.** Hierarchical clustering analysis of native soils based on the OTUs composition of the bacterial (A) and fungal (B) communities. The native soils were sampled under six plant species (*C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*) representative of natural carob habitats and carob-based traditional agrosystems (A). Relative abundance of microbial taxa at the OTU level were log<sub>1p</sub> transformed before clustering (Euclidean distance, Ward's method). Heatmaps were split in 3-4 soil origin clusters and 12-14 microbiota clusters.

The *C. siliqua* SoBIO was characterized by the lowest bacterial richness (number of OTUs) (**Figure III.S2, see the annexe, p 163**) but one of the highest fungal richness (**Figure III.S3, see the annexe, p 164**). The *H. vulgare* and *R. monosperma* SoBIOs showed in both case the highest and the lowest richness. The soil origin-specific OTUs constituted the category with the highest number of bacterial and fungal OTUs, notably for *P. lentiscus* (**Figure III.S2-S3, see the annexe, p 163-164**). The *C. siliqua* SoBIO showed 39.43% and 58.2% of specific bacterial and fungal OTUs, respectively. Only 1.69% of bacterial OTUs and 0.72% of fungal OTUs were shared among all SoBIOs (**Figure III.S2-S3, see the annexe, p 163-164**).

At the taxonomic level, the bacterial community was strongly dominated by *Actinobacteria* (41% of total abundance) and *Proteobacteria* (37%) (**Figure III.S4A, see the annexe, p 165**),

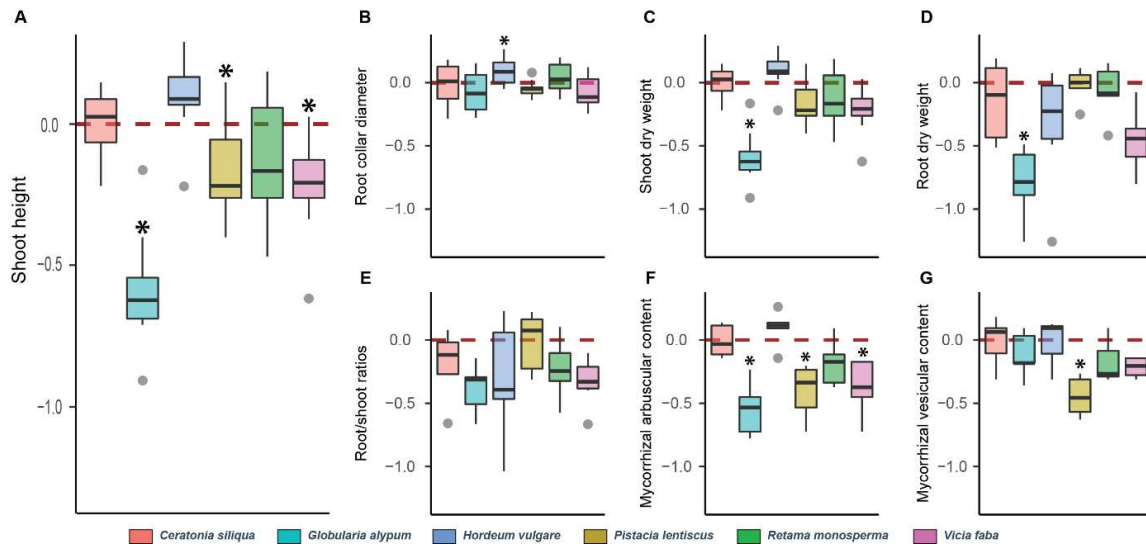


and the fungal community by *Ascomycota* (79%) and *Basidiomycota* (12%) (**Figure III.S5A, see the annexe, p 166**). Nevertheless, taxonomic differences were observed, notably with a more diverse fungal community at the phylum level for the SoBIOs associated with *R. monosperma* and *G. alypum* (**Figure III.S5A, see the annexe, p 166**). In addition, the composition in *Glomeromycota* taxa was remarkably different but with low levels (0% to 0.82%) (**Figure III.S5F, see the annexe, p 166**). No sequence of *Glomeromycota* was retrieved in SoBIOs associated with *C. siliqua* and *V. faba*.

## 2. Impact of SoBIOs on carob growth (WATER)

A wide range of plant parameters were monitored on five-month-old carob seedlings inoculated with the six different SoBIOs and grown in WATER condition (no water deficiency). The plant parameters were organized in three categories, (1) biomass, (2) physiology and (3) mycorrhizal parameters. Correlation analysis among all parameters allowed the selection of the 10 most representative plant parameters (**Figure III.S6, see the annexe, p 167**), *i.e.* shoot height (SH), root collar diameter (RCD), shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), root/shoot ratio (RDW\_SDW), relative water content (RWC), total chlorophyll content (T\_CHL), stomatal conductance (COND), mycorrhizal arbuscular content (MY\_AC) and mycorrhizal vesicular content (MY\_VC).

The estimation of carob growth and mycorrhizal parameters depending on SoBIO revealed that the different SoBIOs had mostly no or negative impacts on carob seedlings compared to *C. siliqua* SoBIO (**Figure III.3**). Only a positive impact on the root collar diameter (RCD) was observed with *H. vulgare* SoBIO compared to *C. siliqua* SoBIO (**Figure III.3B**). The *G. alypum* SoBIO showed the highest negative effect on carob growth and mycorrhizal parameters among all SoBIOs when compared to *C. siliqua* SoBIO (**Figure III.3A, C, D, F**). The *R. monosperma* SoBIO was the only one showing similar effect than *C. siliqua* SoBIO under WATER conditions (**Figure III.3**).

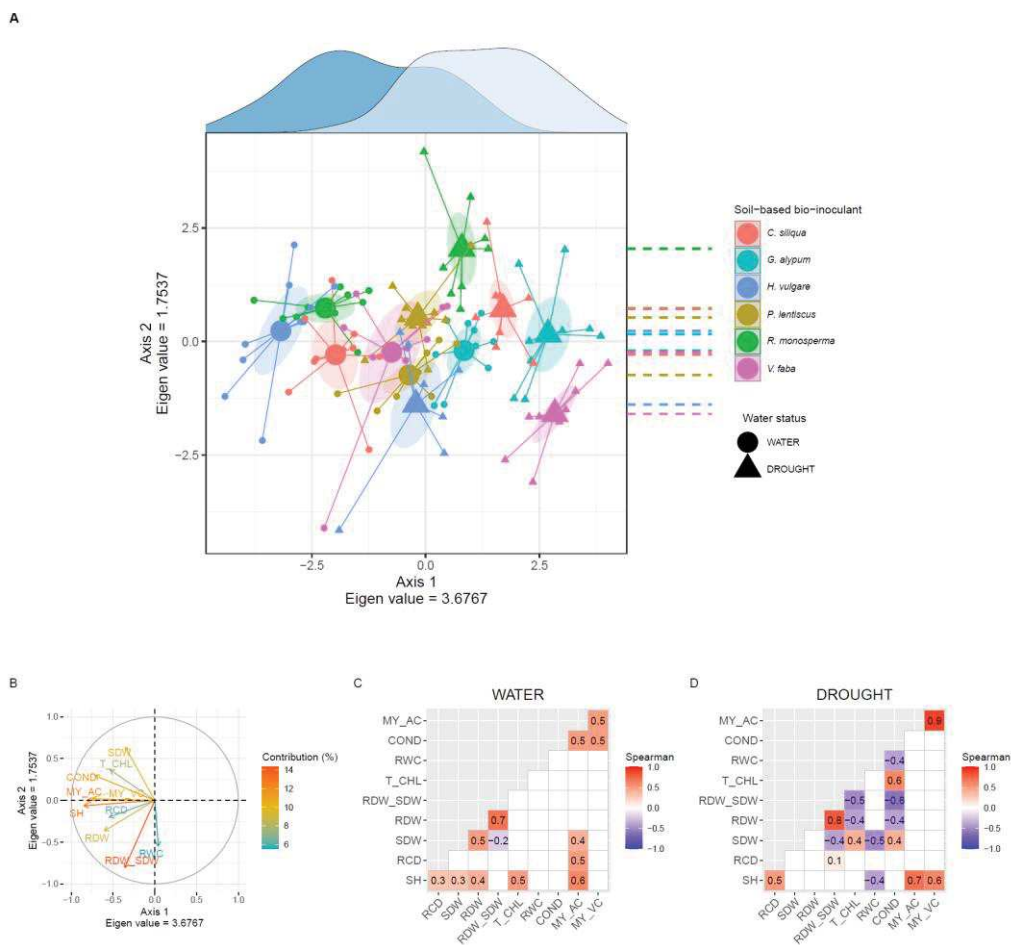


**Figure III.3.** Box plots for growth and mycorrhizal parameters measured on five months old carob plantlets under no stress conditions, shoot height (A), root collar diameter (B), shoot dry weight (C), root dry weight (D), root / shoot ratio (E), mycorrhizal arbuscular content (F) and vesicular content (G). The carobs grown with *C. siliqua* SoBIO were used as reference to normalize the parameters. \*, significant difference ( $P < 0.05$ ) with the reference.

### 3. Impact of SoBIOs on carob drought resistance (WATER vs DROUGHT)

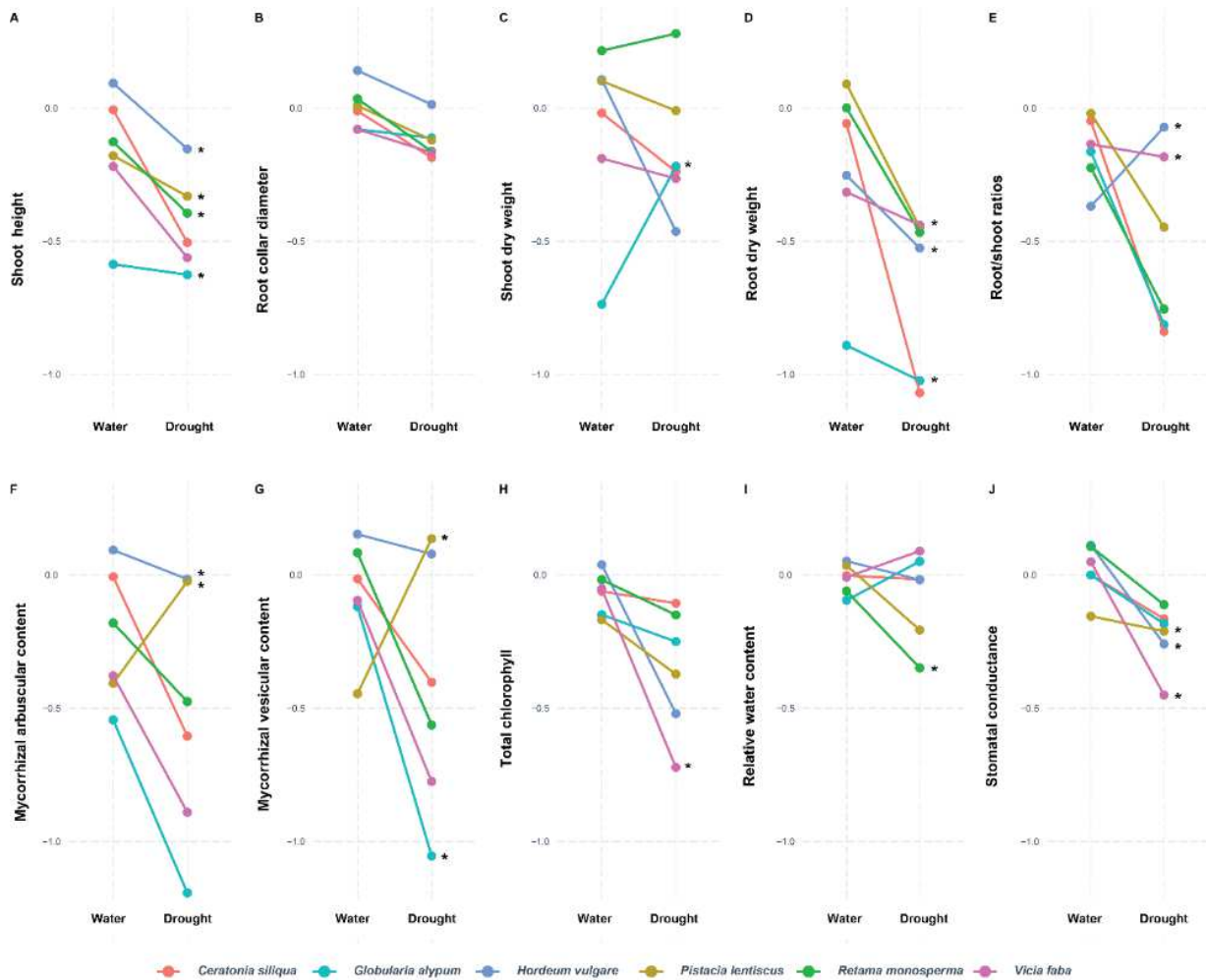
Three-month-old carob seedlings inoculated with the different SoBIOs and grown in WATER condition (no water deficiency) were subjected to a DROUGHT condition (water deficiency) for 2 months. Multivariate analyses based on plant parameters of five-month-old carob seedlings (biomass, physiology, mycorrhizal colonization) were performed to revealed the overall effect of DROUGHT condition in comparison to carob seedlings maintained in WATER condition (**Figure III.4**). The main component of PCA (Axis; 36.8% of inertia) separated the carob seedlings according WATER and DROUGHT conditions (**Figure III.4A**). The shoot height (SH), the root / shoot ratio (RDW\_SDW) and the mycorrhizal arbuscular content (MY\_AC) are the main carob parameters contributing to the total variability (**Figure III.4B**), and in a lesser extent the stomatal conductivity and the mycorrhizal vesicular content. Differences in the global carob response were however observed depending on the SoBIO origin, notably with lower differences for carob seedlings inoculated with *P. lentiscus* (**Figure III.4A**). In addition, the DROUGHT condition strongly affected the strength and type of correlations between carob parameters (**Figure III.4C-4D**), notably with lower correlations

among carob growth parameters and stronger negative correlations between carob growth and physiological parameters.



**Figure III.4.** Comparison of carob growth, physiology and mycorrhizal colonisation inoculated with different SoBIOS under WATER and DROUGHT conditions. Principal component analysis of the 10 main carob parameters. (A) Top panel indicate each carob individual and colours the type of SoBIO. The individuals are grouped by SoBIO origin and WATER or DROUGHT conditions. The top marginal density plot represents the density of samples according to the water status (dark blue for WATER and pale blue for DROUGHT). The right marginal plot indicates the position of centroids according the SoBIO for each water status. (B) Left panel indicates the direction and correlation strength of each plant parameter. Heatmaps of Spearman Rho correlations among the 10 main parameters are indicated for (C) WATER and (D) DROUGHT conditions. The number in each square correspond to R estimated by Spearman correlation. White square indicates no significant correlation ( $P > 0.05$ ). SH, shoot height; RCD, root collar diameter; SDW, shoot dry weight; RDW, root dry weight; RDW\_SDW, root / shoot ratio; RWC, relative water content; T\_CHL, total chlorophyll content; COND, stomatal conductance; MY\_AC, mycorrhizal arbuscular content; MY\_VC, mycorrhizal vesicular content.

The interaction analysis between the water regimes (WATER and DROUGHT conditions) and the SoBIOS revealed a significant negative impact of DROUGHT condition on most of parameters (using carob seedlings grown in WATER condition and inoculated with the native carob SoBIO as a reference), but with different intensity depending on the SoBIO (**Figure III.5**)



**Figure III.5.** Plot interaction effect between WATER and DROUGHT conditions considering the use of SoBIOS for shoot height (A), root collar diameter (B), shoot dry weight (C), root dry weight (D), root / shoot ratio (E), mycorrhizal arbuscular content (F) and vesicular content (G), total chlorophyll (H), relative water content (I) and stomatal conductance (J).

The root collar diameter (RCD) was weakly affected by DROUGHT and the only parameter not significantly differentially affected by the interaction between DROUGHT and the different SoBIO compared to carob response inoculated with the carob SoBIO (**Figure III.5B**). Carob seedlings inoculated with the carob SoBIO were drastically negatively impacted by DROUGHT, notably for the shoot height (SH; 39% average decrease), the root dry weight

(RDW; 62%), the root / shoot ratio (RDW\_SDW; 54%) and the mycorrhizal arbuscular content (MY\_AC; 44%) (**Figure III.5A-5D-5E-5F**). For SH, all SoBIOS (excepted *V. faba*) significantly mitigated the impact of DROUGHT condition compared to the carob SoBIO (**Figure III.5A**). Three SoBIOS (*G. alypum*, *H. vulgare* and *V. faba*) allowed a better maintenance of initial RDW than to the carob SoBIO (**Figure III.5D**), resulting in a higher root / shoot ratio (RDW\_SDW) in DROUGHT condition for *H. vulgare* and *V. faba* SoBIOS compared to the native carob SoBIO. In addition, higher root / shoot ratio in DROUGHT condition compared to WATER condition for *H. vulgare* SoBIO were observed. Mycorrhizal arbuscular and vesicular content were highly improved with *P. lentiscus* SoBIO when DROUGHT is applied compared to the carob SoBIO (**Figure III.5F-5G**). Only *G. alypum* SoBIO showed a negative effect on mycorrhizal vesicular content compared to the carob SoBIO (**Figure III.5G**). Similarly, whereas no or positive effects of SoBIO were globally observed on carobs in terms of DROUGHT impact mitigation compared with the effect of carob SoBIO, three SoBIOS (*H. vulgare*, *R. monosperma* and *V. faba*) showed lower performance for the physiological parameters (**Figure 5H-5I-5J**). On the other hand, only *P. lentiscus* SoBIO showed a better mitigation of DROUGHT impact in terms of stomatal conductance.

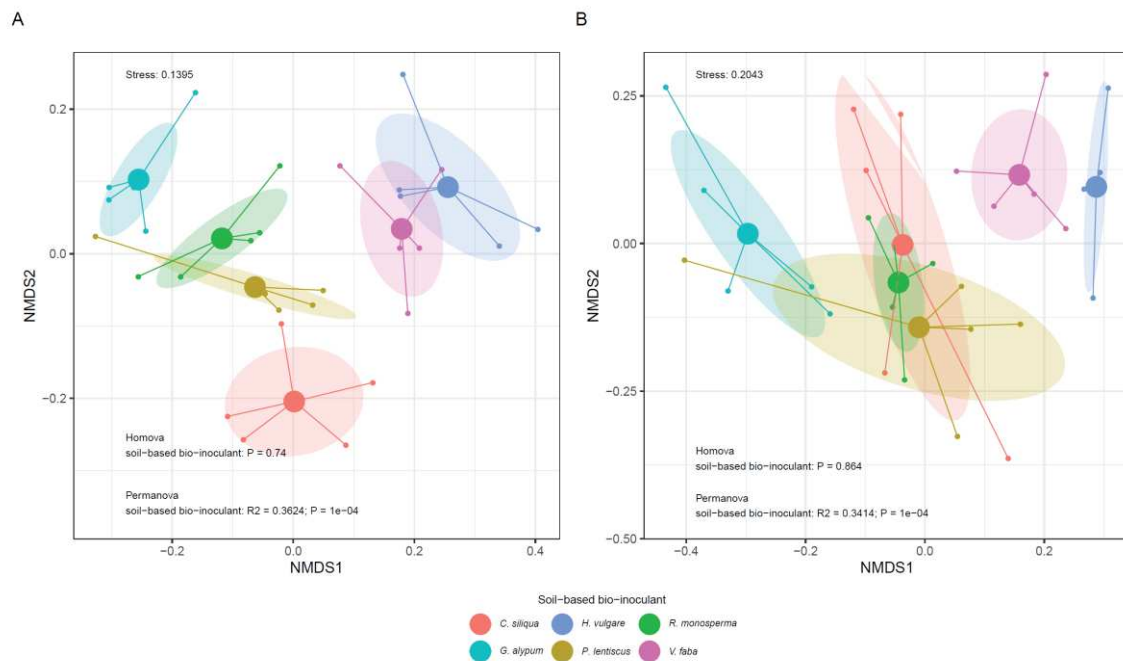
#### **4. Impact of SoBIOS on root microbiota features (WATER)**

Taxonomic composition of carob root microbiota was mainly characterized by the predominance of *Proteobacteria* (56%), notably *Microvirga* spp., for the bacterial community (**Figure III.S7, see the annexe, 168**), and *Ascomycota* (97%), notably *Colletotrichum* spp. for the fungal community (**Figure III.S8, see the annexe, p 169**). Relatively low proportions of *Glomeromycota* taxa were detected in carob roots (0.02% to 11%) (**Figure III.S8, see the annexe, p 169**) but higher than those in SoBIOS (**Figure III.S5, see the annexe, p 166**).

Estimation of host-filtering from SoBIOS was assessed by membership analyses between each SoBIO and the corresponding carob root microbiota. Results showed a low rate of OTUs shared (9.9 % to 13.0 % for bacteria; 5.2 % to 9.4 % for fungi) compared to that of the root-exclusive OTUs (30.7 % to 39.9 % for bacteria; 20.3 % to 32.2 %) (**Figure III.S9-S10, see the annexe, p 170-171**). No major difference was observed between the number of OTUs shared between carob roots and *C. siliqua* SoBIOS compared to other SoBIOS. The percentage of soil-exclusive OTUs was as expected higher (47.9 % to 70.3 %) than the percentage of root-exclusive OTUs

(20.3 % to 39.9 %), notably for the fungal community (**Figure III.S9-S10**, see the annexe, p 170-171).

Community structure analyses revealed significant differences among the carob root bacterial (PERMANOVA:  $R^2 = 0.3624$ ,  $P = 0.0001$ , **Figure III.6A**) and fungal ( $R^2 = 0.3414$ ,  $P = 0.0001$ , **Figure III.6B**) communities depending on SoBIO origins. Only the pairwise comparisons for the root bacteria corresponding to the *P. lentiscus* and *C. siliqua* or *R. monosperma* origins were not significantly different ( $P_{adj} > 0.05$ ). For the root fungal communities, non-significant pairwise comparisons were obtained between *P. lentiscus* and three other origins, *C. siliqua*, *G. alypum* and *R. monosperma*, as well as between *H. vulgare* and *V. faba*. The root microbiota corresponding to *G. alypum* (for bacteria,  $R^2 = 0.2971$ ) and *H. vulgare* (for fungi,  $R^2 = 0.2837$ ) had the highest dissimilarity with the one naturally associated with carob trees.

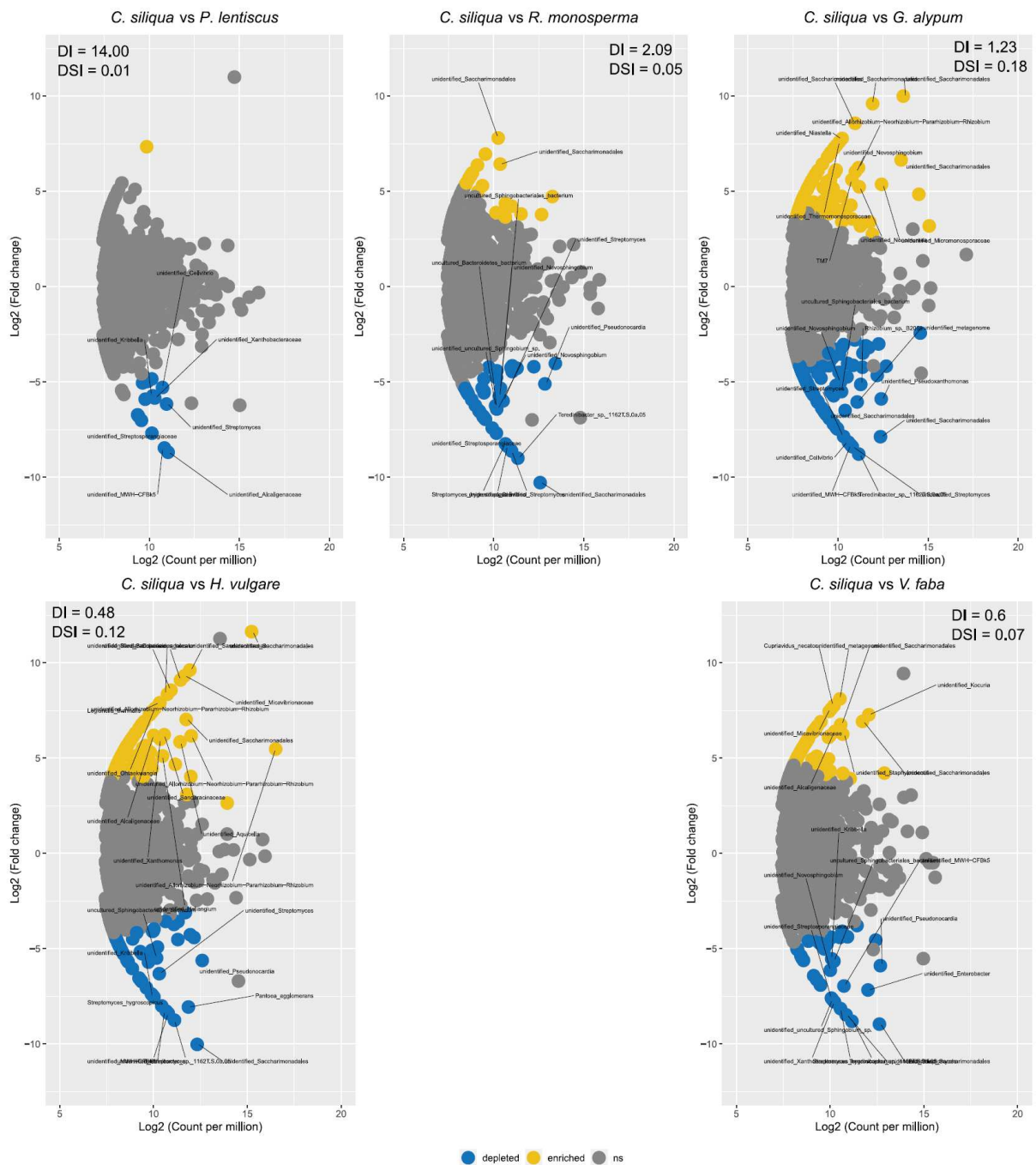


**Figure III.6.** non-metric multidimensional scaling (nMDS) analysis of (A) bacterial and (B) fungal community structures under WATER conditions (no water deficiency) associated with carob roots inoculated with six SoBIOs (Origin: *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*). Differences in community structure based on the origin of SoBIO were assessed by PERMANOVA. HOMOVA was assessed as it can affect PERMANOVA results.

The differential OTU abundance analysis among root microbiota revealed that 3.5 % of bacterial OTUs (246 out of 6931 OTUs) (**Figure III.7**) and 2.2 % of fungal OTUs (14 out of 411 OTUs) (**Figure III.8**) were significantly enriched with non-carob SoBIOs compared to the

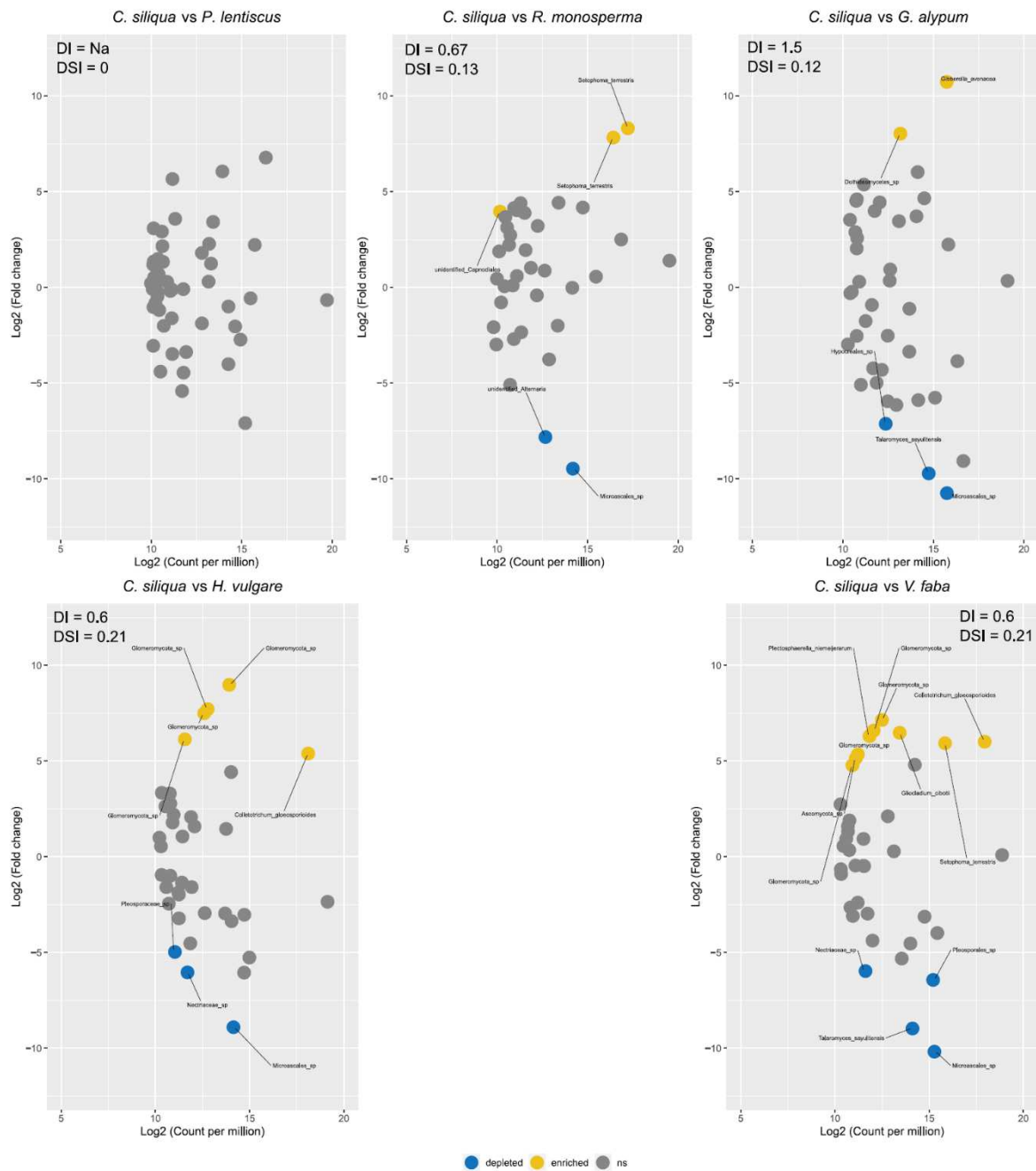


native carob SoBIO (as reference). The enriched OTUs were assigned to a total of 127 bacterial genera mainly belonging to unidentified *Saccharimonadales* (8%), *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* complex (5%), *Mycobacterium* (5%), and *Devosia* (3%), and 14 fungal genera mainly belonging to unidentified *Glomeromycota* (36%) and *Setophoma* (14%). By contrast, 2.2% of bacterial OTUs (153 out of 6931 OTUs) (**Figure III.7**) and 1.7 % of fungal OTUs (7 out of 411 OTUs) (**Figure III.8**) were significantly depleted. The depleted OTUs were represented by 81 bacterial genera, mainly belonging to *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* complex (10%), unidentified *Saccharimonadales* (5%), and *Streptomyces* (4%), and 7 fungal genera belonging to unidentified Pleosporales (28%) and *Talaromyces*, *Alternaria*, and unidentified *Microascales*, *Nectriaceae*, *Hypocreales* (14% each). Estimation of Depleted Index (DI) showed differential sorting orders according the SoBIO origins depending on bacteria or fungal with *P. lentiscus* > *R. monosperma* > *G. alypum* > *V. faba* > *H. vulgare*, or *G. alypum* > *R. monosperma* > *H. vulgare* > *V. faba* (*P. lentiscus*, no DI), respectively. Differential sorting order were also observed for the Dissimilarity Index (DSI) with *P. lentiscus* < *R. monosperma* < *V. faba* < *H. vulgare* < *G. alypum* for bacteria, *P. lentiscus* < *G. alypum* < *R. monosperma* < *H. vulgare* < *V. faba* for fungi.



**Figure III.7.** Volcano plots illustrating the differences in carob root bacterial OTU patterns associated with different SoBIOs compared with that associated with the native *C. siliqua* SoBIO used as reference (WATER condition). Each point represents an OTU, yellow for the ones significantly enriched compared to the reference, blue when depleted, and grey for non-significant (ns) differential abundance. The position along the y-axis represents the fold-change in abundance compared with the reference, and the x-axis the average OTU abundance (as counts per million, CPM). Only OTUs with CPM > 0.5 in at least 3 replicates / SoBIO were used. The name of taxa is indicated for OTUs with a FC > |5| and a CPM > 10.

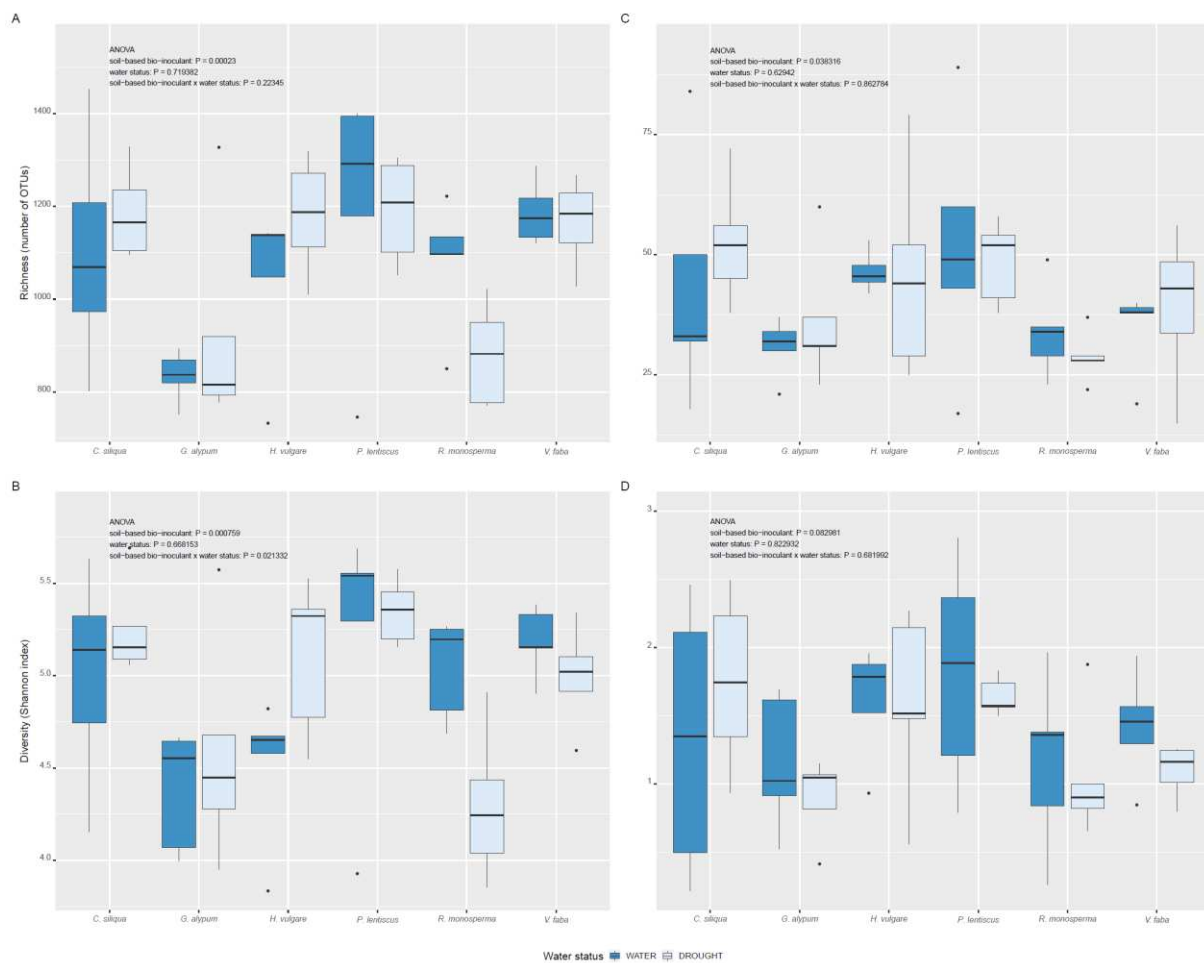




**Figure III.8.** Volcano plots illustrating the differences in carob root fungal OTU patterns associated with different SoBIOS compared with that associated with the native *C. siliqua* SoBIO used as reference (WATER condition). Each point represents an OTU, yellow for the ones significantly enriched compared to the reference, blue when depleted, and grey for non-significant (ns) differential abundance. The position along the y-axis represents the fold-change in abundance compared with the reference, and the x-axis the average OTU abundance (as counts per million, CPM). Only OTUs with CPM > 0.5 in at least 3 replicates /SoBIO were used. The name of taxa is indicated for OTUs with a FC > |5| and a CPM > 10.

## 5. Impact of drought on root microbiota features (WATER vs DROUGHT)

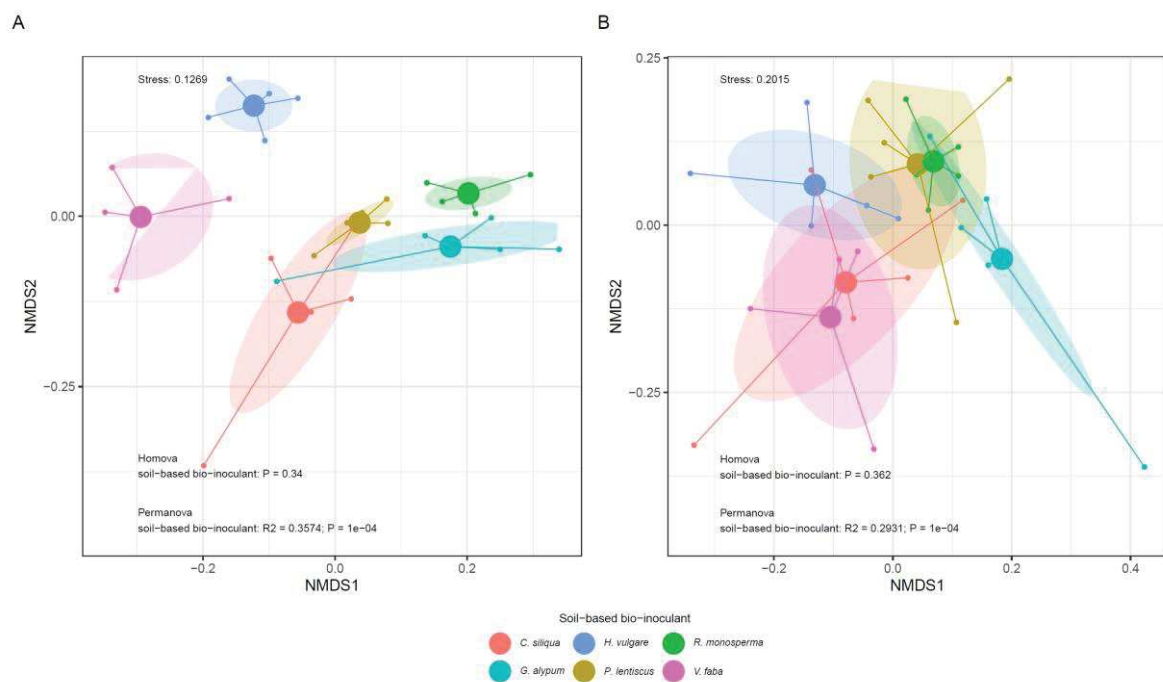
A significant impact of SoBIO origin was observed on carob root microbiota richness (bacteria,  $P < 0.001$ ; fungi,  $P < 0.05$ ) (Figure III.9A-9C) and diversity (bacteria,  $P < 0.001$ ; fungi,  $P > 0.05$ ) (Figure III.9A, 9C). On the contrary, no significant ( $P > 0.05$ ) impact of DROUGHT was observed. The lowest levels of richness and diversity were mainly observed for the carob roots inoculated with the *G. alypum* SoBIO both in WATER and DROUGHT conditions, and in a lesser extent *R. monosperma* in DROUGHT condition (Figure III.9).



**Figure III.9.** Distribution of root bacterial (A-B) and fungal (C-D) richness and diversity of carob seedlings inoculated with SoBIOS. The water status is indicated in dark blue for WATER and pale blue for DROUGHT.

Structure analysis of carob root microbiota in DROUGHT condition still revealed major differences between carob root bacterial (PERMANOVA:  $R^2 = 0.3574$ ,  $P = 0.0001$ , **Figure**

**III.10)** and fungal ( $R^2 = 0.2931$ ,  $P = 0.0001$ , **Figure III.10**) communities according the origin of SoBIO. However, whereas some pairwise comparisons, notably between the carob inoculated with *P. lentiscus* and *C. siliqua* SoBIOs, were not significantly different under WATER condition, almost all were significantly different under DROUGHT condition, excepted for root bacterial community between the carob inoculated with *G. alypum* and *R. monosperma* SoBIOs. The highest dissimilarities between the carob root microbiota inoculated with the carob SoBIO and the others were observed for *R. monosperma*.

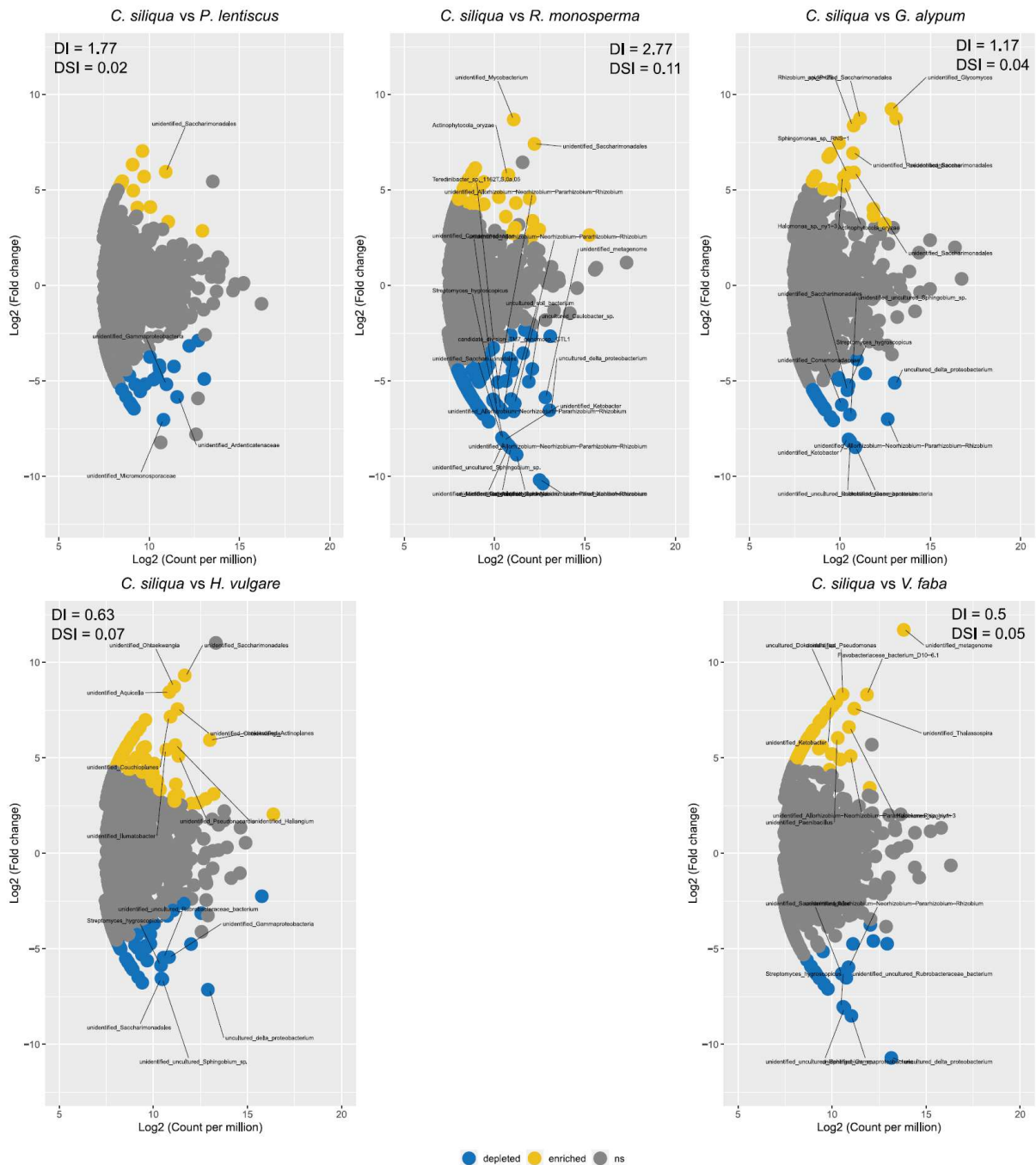


**Figure III.10.** non-metric multidimensional scaling (nMDS) analysis of (A) bacterial and (B) fungal community structures under DROUGHT condition (water deficiency) associated with carob roots inoculated with six SoBIOs (Origin: *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*). Differences in community structure based on the origin of SoBIO were assessed by PERMANOVA. HOMOVA was assessed as it can affect PERMANOVA results.

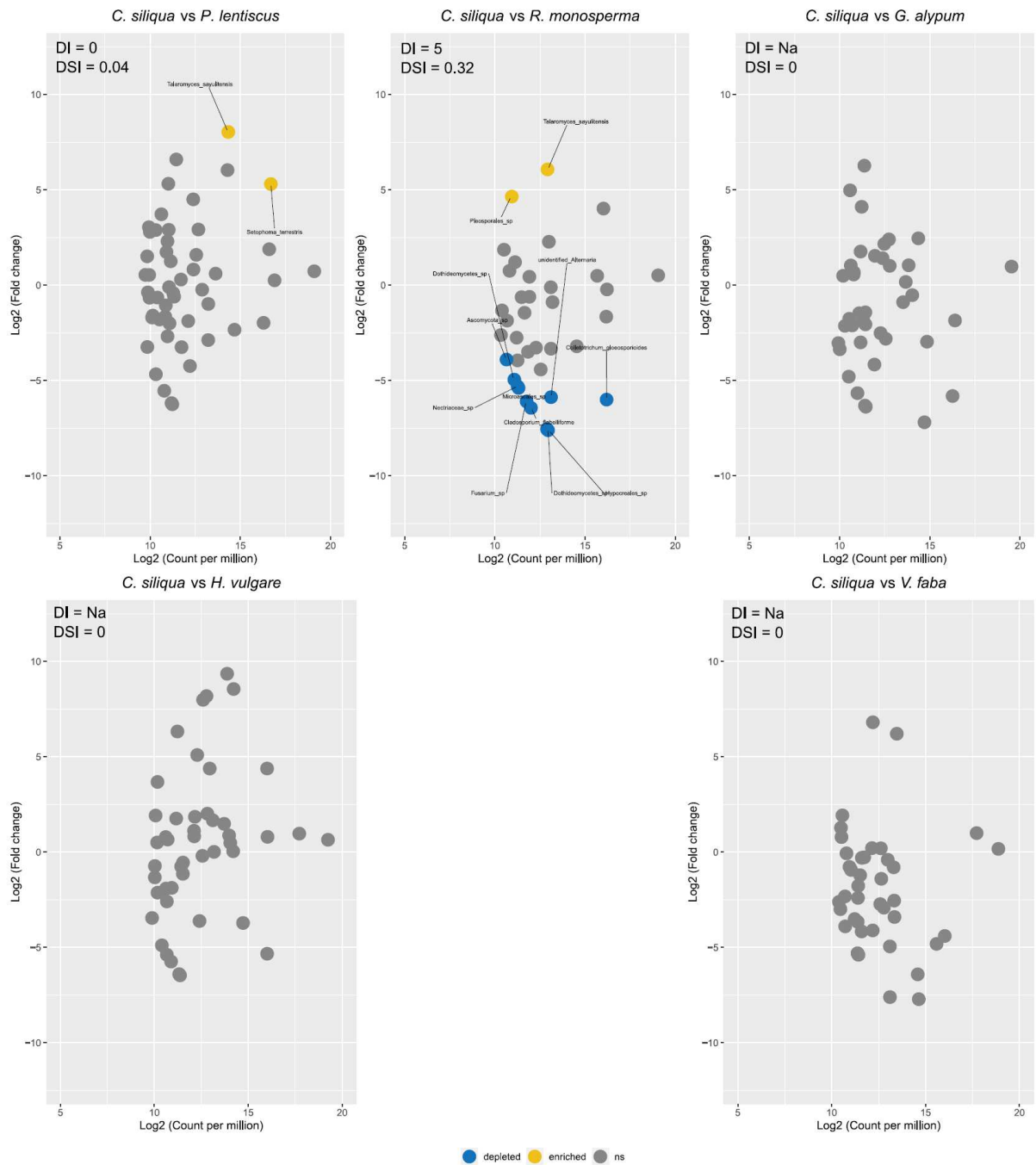
For each SoBIO, significant changes in structure were observed from WATER to DROUGHT conditions for the root bacterial community structure (PERMANOVA; soil-based bioinoculant:  $R^2 = 0.2662$ ,  $P = 0.0001$ ; water status:  $R^2 = 0.02680$ ,  $P = 0.0053$ ; soil-based bioinoculant x water status:  $R^2 = 0.08611$ ,  $P = 0.0129$ ), notably for two SoBIOs origins *G. alypum* ( $P_{adj} = 0.0169$ ) and *H. vulgare* ( $P_{adj} = 0.0169$ ). On the contrary, no significant change was observed for the root fungal community structure (PERMANOVA; soil-based bioinoculant:  $R^2 = 0.2242$ ,

$P = 0.0001$ ; water status:  $R^2 = 0.0177$ ,  $P = 0.1876$ ; soil-based bioinoculant x water status:  $R^2 = 0.08197$ ,  $P = 0.1553$ ).

Analysis of differential OTU abundance among root microbiota following DROUGHT revealed a decrease of the global number of significantly enriched OTUs with 2.3% of bacterial OTUs (158 out of 6830 OTUs) (**Figure III.11**) and 0.6% of fungal OTUs (3 out of 472 OTUs) (**Figure III.12**), but similar for depleted OTUs with 1.8% of bacterial OTUs (126 out of 6830 OTUs) (**Figure III.11**) and 2.1% of fungal OTUs (10 out of 472 OTUs) (**Figure III.12**). The enriched OTUs were assigned to a total of 92 bacterial genera mainly belonging to unidentified *Saccharimonadales* (9%), *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* complex (3%), and 3 fungal genera belonging to *Setophoma*, *Talaromyces* and unidentified *Pleosporales* (33% each). The depleted OTUs were represented by 72 bacterial genera, mainly belonging to *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* complex (11%), *Streptomyces* (6%), and unidentified *Saccharimonadales* (4%), and 9 fungal genera belonging to unidentified *Dothideomycetes* (20%), and *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, and unidentified *Microascales*, *Nectriaceae Hypocreales* and Ascomycota (10% each). Estimation of DI and DSI highlighted the global decrease of OTUs differentially abundant, notably concerning the root fungal communities, with no significant difference (DI = Na; DSI = 0) between *G. alypum*, *H. vulgare* and *V. faba* compared to the native carob SoBIO. The *P. lentiscus* SoBIO was related to the highest DSI and lowest DI regarding the fungal community, due to only two enriched OTUs belonging to *Talaromyces sayulitensis* and *Setophoma terrestris*. For the bacterial communities, DI were sorted as follows  $R. monosperma > P. lentiscus > G. alypum > H. vulgare > V. faba$ , and DSI  $P. lentiscus < G. alypum < V. faba < H. vulgare < R. monosperma$ .



**Figure III.11.** Volcano plots illustrating the differences in carob root bacterial OTU patterns associated with different SoBIOs compared with that associated with the native *C. siliqua* SoBIO used as reference (DROUGHT condition). Each point represents an OTU, yellow for the ones significantly enriched compared to the reference, blue when depleted, and grey for non-significant (ns) differential abundance. The position along the y-axis represents the fold-change in abundance compared with the reference, and the x-axis the average OTU abundance (as counts per million, CPM). Only OTUs with CPM > 0.5 in at least 3 replicates / SoBIO were used. The name of taxa is indicated for OTUs with a FC > |5| and a CPM > 10.



**Figure III.12.** Volcano plots illustrating the differences in carob root fungal OTU patterns associated with different SoBIOs compared with that associated with the native *C. siliqua* SoBIO used as reference (DROUGHT condition). Each point represents an OTU, yellow for the ones significantly enriched compared to the reference, blue when depleted, and grey for non-significant (ns) differential abundance. The position along the y-axis represents the fold-change in abundance compared with the reference, and the x-axis the average OTU abundance (as counts per million, CPM). Only OTUs with CPM > 0.5 in at least 3 replicates /SoBIO were used. The name of taxa is indicated for OTUs with a FC > |5| and a CPM > 10.



### III. Discussion

Root microbiota are major determinants of plant fitness (growth, resistance, survival) (de la Fuente Cantó et al., 2020), mitigating the impact of a wide range of abiotic stresses such as drought (Fitzpatrick et al., 2019). The regulatory role of root microbiota on plant evolution by adjustment of growth-stress resistance trade-offs has even been suggested (Ravanbakhsh et al., 2019). Here, native soils originating from main ecological components of Mediterranean carob habitats were used as microbial inoculants to identify the microbial features underpinning carob drought resistance and to test whether soil-microbiota-plant interactions naturally occurring in the environment are the most efficient to cope with adverse abiotic changes such as drought.

The characteristics of SoBIOs were in accordance with previous observation in Moroccan carob habitats in terms of microbiota taxonomic composition and differences considering the soil origin (Khassali et al., 2020). The proximity of plant species in terms of habitat characteristics, *i.e.* cultivated vs semi-natural habitats, appeared as the main driver of differences among SoBIOs, likely due to soil characteristics (Lauber et al., 2008; Thomson et al., 2015). The analysis of carob root microbiota originating from the different SoBIOs revealed a maintenance of microbiota differences observed among SoBIOs, notably for bacteria, suggesting that the soil microbial reservoir is a stronger determinant of root microbiota compared to the host-filtering selectivity of carob trees. Root microbiota is proposed as resulting from a two- to three-step selection process from soil biome (Bulgarelli et al., 2013; Xiong et al., 2020) with acquisition from seeds or phyllospheres being unlikely but not excluded (Mitter et al., 2017; Shade et al., 2017). The host selection pressure is notably due to the plant rhizodeposition and plant host genotype (Bulgarelli et al., 2013), as well as intrinsic properties of microbiota members, *e.g.* metabolism, cell motility, biofilm production and endophytic colonization (Bastida et al., 2019). Estimation of selection rates from SoBIOs to carob root revealed low levels of microbial OTUs shared (*c.a.* 10 to 13 %), but similar to levels observed in grapevines (*c.a.* 10 to 20%) (Deyett and Rolshausen, 2020; Marasco et al., 2018). Results emphasized the difficulty to trace with certainty the initial niche of the whole root microbiota OTUs (strict endophyte vs soil-living endophyte), notably due to the successive enrichment-filtering processes (Bulgarelli et al., 2013; Xiong et al., 2020) and the detection threshold of sequencing approaches.

The microbiota origin and features were hypothesized to be strong predictors of carob fitness, especially the features of microbiota naturally associated with carob trees, but few relations were supported between microbiota features at the community level and plant responses. The monitoring of a range of traits (biomass, mycorrhizal colonization) from carob seedlings inoculated with *C. siliqua* SoBIO showed similar plant responses compared to those inoculated with *H. vulgare* and *R. monosperma* SoBIOs. Microbial inoculant origin-dependent impacts on plant growth were demonstrated for the tomato model (Gu et al., 2020), with positive impacts on tomato nutrition with both native tomato-based and non-tomato based inoculants, whereas tomato growth was positively impacted only by non-tomato-based inoculants. The authors suggested that the soil inoculant from forest showed the highest performance because of higher soil potentialities in terms of enzymatic diversity and activity compared to cultivated soils. In the current study, this hypothesis is moderated supported since *H. vulgare* SoilBIO was collected in cultivated soils, whereas *R. monosperma* SoilBIO derived from natural ecosystems. Nevertheless, *H. vulgare* cropping systems corresponded to traditional land-use rather than intensive, which could have limited the negative impact of agricultural practices on soil functioning and soil microbiota (Lumini et al., 2010; Williams et al., 2017). Besides, the highest abundance of *Glomeromycota* and mycorrhizal colonization was derived from *H. vulgare* SoilBIO. The slightly higher benefits of *H. vulgare* SoilBIO may be due to its effect on root community structure (highest dissimilarity compared to root microbiota derived from the native carob SoilBIO), by notably enhancing both the abundance of plant growth-promoting taxa belonging to the *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* complex and *Glomeromycota*. The importance of mycorrhiza carob tree functioning has been previously evidenced (Cruz et al., 2004; Manaut et al., 2015) and higher mycorrhizal colonization rates, as observed with *H. vulgare* SoilBIO, are generally positively correlated with an increase of plant height and dry biomass in the field [87% of field trials; (Lekberg and Koide, 2005)]. Nevertheless, root microbiota derived from *G. alypum* SoBIO was also highly dissimilar compared to the native carob SoilBIO, but leading to major detrimental effects. By contrast, the impacts may be related to a negative synergy between a low level of mycorrhizal arbuscular content and the predominance of the phytopathogen *Gibberella avenacea*.

No significant impact of drought was observed on root bacterial and fungal diversity and richness, but differences in bacterial structure, notably regarding root microbiota derived from *G. alypum* and *H. vulgare* SoilBIOs. Drought was shown to affect very slightly angiosperm root bacteria diversity, but significantly in terms of compositional changes (Fitzpatrick et al.,



2018), enhancing the efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (Rubin et al., 2017). The low level of drought-induced changes may result of long-term adaptation to drought of soil microbiota from Southern Moroccan carob agroecosystems, supporting previous insights on the predominance of stress-tolerant plant-beneficial bacteria (Khassali et al., 2020). However, a bias due to the bio-inoculant handling method (pooled soil microbiota) cannot be excluded since it may have altered both the strength and direction of plant–microbiota interactions (Peacher and Meiners, 2020). The highest stability of plant parameters following the drought was obtained with the *P. lentiscus* SoBIO, whereas it induced the lowest dissimilarity at the community and OTU levels with the root microbiota deriving from the native carob SoilBIO, both in WATER and DROUGHT conditions. This observation suggested that the benefits in terms of growth-resistance trade-off may be caused by few members of root microbiota. Microbiota-based deconstructing approaches demonstrated that a single bacterial genus in a complex microbiota can be the main actor maintaining plant growth (Finkel et al., 2020) and health (Kwak et al., 2018). The root microbiota deriving from *P. lentiscus* SoBIO highlighted one specific fungal species enriched in DROUGHT condition, *Setophoma terrestris*, a dark septate endophyte (DSE). Fungal DSE are frequently observed in environments with strong abiotic stresses, such as arid and semiarid ecosystems (Jumpponen and Trappe, 1998; Mandyam and Jumpponen, 2005; Porrás-Alfaro and Bayman, 2011), and were shown to confer plant drought tolerance as well as benefits for plant growth (Li et al., 2019; X. Li et al., 2018; Newsham, 2011). Nevertheless, the ecological role of DSE remains poorly investigated compared to AM fungi (Kivlin et al., 2013) and high functional heterogeneity has been suggested (Knapp et al., 2018). The implication of *Glomeromycota* is less clear, whereas mycorrhizal symbiosis has been shown to improve carob drought resistance in controlled experiments, and AM fungi were proposed as key actors of plant tolerance to stress compared to bacteria, the latter tending to confer greater plant benefits than fungi in the absence of stress (Porter et al. 2019). Nevertheless, *P. lentiscus* SoBIO was shown as the only SoilBIO related to increasing mycorrhizal arbuscular and vesicular contents compared to *C. siliqua* SoBIO. A global decrease of mycorrhizal colonization was observed for all the others. The depletion of *Rhizophagus* spp. in favor to unidentified *Glomeraceae* from WATER to DROUGHT conditions suggested a higher ability of the latter to colonize carob roots under DROUGHT condition. *Funneliformis mosseae* was previously proposed as an efficient mycorrhizal species to improve carob drought resistance but no *F. mosseae* sequence was retrieved from carob roots. Drought has been demonstrated as affecting mycorrhizal symbiosis functioning rather than AM fungal community composition, which may suggest changes in intrinsic functionalities of

*Glomeromycota* deriving from *P. lentiscus* SoBIO due to drought. Nevertheless, the use of a AM-specific sequencing approach could also shed new light on possible *Glomeromycota* compositional changes, which could have been underestimated with universal fungal primers, notably when ITS2 is targeted.

## Conclusion

Native carob soil microbiota confers relatively low advantages in terms of growth performances compared to other soil microbiota origins under optimal water resource, and a very low resistance to drought. Consequently, the hypothesis of a beneficial co-evolution between carob trees and its microbiota is not supported. On the other hand, the soil microbiota features are determinant in the efficiency of plant drought resistance. Two SoBIO conferred a net advantage in terms of growth-resistance trade-off, (1) *H. vulgare* SoBIO with a high growth performance related to the predominance of AM fungi, but at the cost of a moderate resistance to drought and (2) *P. lentiscus* SoBIO with moderate growth performances, but a high resistance to drought related to the predominance of dark septate endophytes. The mechanisms through which the highlighted taxa help carob trees to cope with drought remain unresolved, but constitute one of the major challenges to develop realistic strategies in the field. Consequently, *Pistacia lentiscus* appears as a promising target for improving carob drought resistance through the development of natural microbiota engineering (soil microbiota transplants or plant cover-mediated soil microbiota management). Further progress based on plant drought tolerance traits to investigate a wider range of plant-microbiota could succeed to most efficient strategies since the selective advantage of *P. lentiscus* compared to *C. siliqua* in terms of drought tolerance traits may be linked to the recruitment of beneficial taxa conferring higher drought resistance (Kwak et al., 2018; Y. Li et al., 2018; Lugo et al., 2015; Martín-Robles et al., 2020; Spor et al., 2020).

## Conclusion générale et perspectives

Les écosystèmes Méditerranéens sont confrontés à une aggravation des conditions climatiques (e.g. allongement des périodes de sécheresses), modifiant leur fonctionnement et entraînant une perte importante de biodiversité (Thiébaud et Moatti, 2016). Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), constituant écologique majeur de l'étage thermo-méditerranéen présentant une valeur socio-économique importante, devrait être fortement impacté par les changements climatiques. Plusieurs stratégies ont été proposées dans le but d'améliorer sa résistance face à la sécheresse, notamment via l'inoculation contrôlée du caroubier par des souches mycorhiziennes préalablement sélectionnées (Boutasknit et al., 2020; Essahibi et al., 2017). Cependant, l'efficacité de ces stratégies à grande échelle peut s'avérer peu reproductible, et d'un coût non négligeable pour les différentes parties prenantes de la conservation et de l'exploitation du caroubier. La variabilité d'efficacité de ces approches peut s'expliquer par la sous-estimation de la complexité des interactions (positives et négatives) s'établissant entre les différentes composantes du microbiote du sol ainsi qu'avec la plante et son environnement, les mycorhizes ne représentant qu'une part des microorganismes bénéfiques pour la croissance des plantes (Finkel et al., 2017). La prise en compte de la complexité biotique régissant le fonctionnement des écosystèmes terrestres est donc cruciale pour faire face aux challenges que représente l'amélioration de la résistance des plantes au stress hydrique.

Dans ce contexte, il nous a semblé essentiel d'évaluer la complexité du microbiote associé aux agroécosystèmes à base de caroubiers avec pour objectif son utilisation pour améliorer la résistance du caroubier à la sécheresse. Les résultats du **chapitre II** renforcent la nécessité d'améliorer notre connaissance de la diversité microbienne du sol et des plantes au sein des agroécosystèmes à caroubiers dans des gradients écologiques afin d'obtenir une carte exhaustive de la diversité taxonomique et fonctionnelle du microbiote et de ses spécificités biogéographiques en terme de potentialités, en terme d'adaptation et de résistance à différents stress abiotiques. Les habitats du caroubier au Maroc ont révélé des spécificités géographiques en terme de composition microbienne par rapport d'autres biomes dans le monde, mettant en évidence de fortes divergences dans les fonctionnalités du microbiote et leur importance vis-à-vis aux plantes à l'échelle régionale (**chapitre II**). Nos objectifs ne se limitaient cependant pas à ce constat mais visaient la conceptualisation de stratégies en ingénierie écologique basées sur l'optimisation des interactions caroubier×microbiote pour l'amélioration de la résistance du caroubier à la sécheresse (**chapitre III**). La gestion et valorisation du microbiote au travers de

la recherche de communautés bénéfiques au fonctionnement d'un écosystème donné à rarement ou partiellement été mise en œuvre dans les stratégies d'amélioration de la tolérance des plantes à des stress abiotiques comme la sécheresse. La majorité des études ont focalisé quasi-systématiquement sur l'étude d'une ou d'un nombre très restreint de souches microbiennes, et l'évaluation de leur bénéfice en milieux contrôlé (**chapitre I**).

L'approche proposée dans le **chapitre III**, basée sur la valorisation de la diversité du microbiote du sol associée à différentes composantes de l'agroécosystème à caroubier a montré des effets différentiels significatifs de l'origine du microbiote sur la croissance du caroubier. La contribution de différents acteurs microbiens (mycorhize, champignon endophyte de type DES, rhizobia, ...) dans la croissance et résistance du caroubier à la sécheresse s'est révélé en fonction du statut hydrique de la plante et leur origine. Le microbiote natif du caroubier se révélant peu efficace par rapport à d'autres microbiote pour conférer au caroubier une résistance significative à la sécheresse, mais performant dans des conditions optimales en ressources en eau. Ces différentes conclusions tirées du **chapitre III** nécessitent cependant d'être confirmées dans des expérimentations de déconstruction du microbiote afin de valider le rôle des acteurs identifiés, et déterminer les mécanismes impliqués par lesquels ces microorganismes permettent l'amélioration de la résistance du caroubier à la sécheresse.

Ce travail de thèse a permis de constituer l'une des bases de données les plus exhaustives concernant la diversité du microbiote associé aux agroécosystèmes à caroubier, avec principalement des informations taxonomiques, mais aussi fournissant des indications fonctionnelles. Ce travail de thèse reste majoritairement exploratoire, et demande à être affiné, complété et généralisé, avec des validations au champ, et l'extension des investigations à d'autres espèces végétales afin d'explorer les potentialités microbiennes associées dans des contextes écologiques plus vastes. Avant l'évaluation au champ, un premier niveau de validation pourrait consister dans la mise en place de co-culture caroubier × plantes compagnes, avec ou non inoculation des taxons bénéfiques candidats, et l'application de différents régimes hydriques, combinés avec des apports nutritifs variés afin de simuler les caractéristiques de différents habitats.

## Références bibliographiques

---

- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H., Abdel-Wahhab, M.A., 2012. Tolerance of Mycorrhiza infected Pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *J. Plant Physiol.* 169, 704–709. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.01.014>
- Abdel-Salam, E., Alatar, A., El-Sheikh, M.A., 2017. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi alleviates harmful effects of drought stress on damask rose. *Saudi J. Biol. Sci.* 25, 1772–1780. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.10.015>
- Abdelmoneim, T.S., Moussa, T.A.A., Almaghrabi, O.A., Alzahrani, H.S., Abdelbagi, I., 2014. Increasing plant tolerance to drought stress by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Life Sci. J.* 11, 10–17.
- Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M., Shahbazi, H., 2011. Antioxidative Protection and Electrolyte Leakage in Durum Wheat under Drought Stress Condition. *J. Appl. Sci. Res.* 7, 236–246.
- Akhtar, M.S., Siddiqui, Z.A., 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi as potential bioprotectants against plant pathogens, in: *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Springer, pp. 61–97.
- Al-Karaki, G., McMichael, B., Zak, J., 2004. Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza* 14, 263–269. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0265-2>
- Al-Karaki, G.N., Clark, R.B., 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *J. Plant Nutr.* 21, 263–276.
- Alguacil, M.M., Torres, M.P., Torrecillas, E., Díaz, G., Roldán, A., 2011. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. *Soil Biol. Biochem.* 43, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.09.029>
- Aliasghar zad, N., Neyshabouri, M.R., Salimi, G., 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* on drought stress of soybean. *Biologia.* 61, 324–328.
- Allen, C.D., Macalady, A.K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D.D., Hogg, E.H.T., 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *For. Ecol. Manage.* 259, 660–684.
- Alm, E.W., Oerther, D.B., Larsen, N., Stahl, D.A., Raskin, L., 1996. The oligonucleotide probe database. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 3557–3559.
- Alvarez, S., Marsh, E.L., Schroeder, S.G., Schachtman, D.P., 2008. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. *Plant, Cell Environ.* 31, 325–340. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01770.x>
- Amiri, R., Nikbakht, A., Rahimmalek, M., Hosseini, H., 2017. Variation in the essential oil composition, antioxidant capacity, and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit

- conditions. *J. Plant Growth Regul.* 36, 502–515. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9659-1>
- Andrade, G., Mihara, K.L., Linderman, R.G., Bethlenfalvay, G.J., 1997. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 192, 71–79. <https://doi.org/10.1023/A:1004249629643>
- Andreo-Jimenez, B., Vandenkoornhuysen, P., Lê Van, A., Heutinck, A., Duhamel, M., Kadam, N., Jagadish, K., Ruyter-Spira, C., Bouwmeester, H., 2019. Plant host and drought shape the root associated fungal microbiota in rice. *PeerJ* 7, e7463.
- Andrews, M., Andrews, M.E., 2017. Specificity in Legume-Rhizobia Symbioses. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 705. <https://doi.org/10.3390/ijms18040705>
- Ansari, A., Razmjoo, J., Karimmojeni, H., 2016. Mycorrhizal colonization and seed treatment with salicylic acid to improve physiological traits and tolerance of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) plants grown under drought stress. *Acta Physiol. Plant.* 38, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-2054-x>
- Armada, E., Azcón, R., López-Castillo, O.M., Calvo-Polanco, M., Ruiz-Lozano, J.M., 2015. Autochthonous arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus thuringiensis* from a degraded Mediterranean area can be used to improve physiological traits and performance of a plant of agronomic interest under drought conditions. *Plant Physiol. Biochem.* 90, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.03.004>
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24, 1.
- Aroca, R., Del Mar Alguacil, M., Vernieri, P., Ruiz-Lozano, J.M., 2008a. Plant responses to drought stress and exogenous ABA application are modulated differently by mycorrhization in tomato and an ABA-deficient mutant (Sitiens). *Microb. Ecol.* 56, 704–719. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9390-y>
- Aroca, R., Vernieri, P., Ruiz-Lozano, J.M., 2008b. Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *J. Exp. Bot.* 59, 2029–2041.
- Askari, A., Ardakani, M.R., Paknejad, F., Hosseini, Y., 2019. Effects of mycorrhizal symbiosis and seed priming on yield and water use efficiency of sesame under drought stress condition. *Sci. Hortic.* 257, 108749. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108749>
- Asrar, A.A., Abdel-Fattah, G.M., Elhindi, K.M., 2012. Improving growth, flower yield, and water relations of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) plants grown under well-watered and water-stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi. *Photosynthetica* 50, 305–316. <https://doi.org/10.1007/s11099-012-0024-8>
- Asrar, A.W.A., Elhindi, K.M., 2011. Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. *Saudi J. Biol. Sci.* 18, 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.06.007>
- Augé, R.M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11, 3–42. <https://doi.org/10.1007/s005720100097>
- Azani, N., Babineau, M., Bailey, C.D., Banks, H., Barbosa, A.R., Pinto, R.B., Boatwright, J.S.,



- Borges, L.M., Brown, G.K., Bruneau, A., 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Taxon* 66, 44–77.
- Azcón-Aguilar, C., Palenzuela, J., Roldán, A., Bautista, S., Vallejo, R., Barea, J.M., 2003. Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Appl. Soil Ecol.* 22, 29–37.
- Bakr, J., Pék, Z., Helyes, L., Posta, K., 2018. Mycorrhizal inoculation alleviates water deficit impact on field-grown processing tomato. *Polish J. Environ. Stud.* 27, 1949–1958. <https://doi.org/10.15244/pjoes/78624>
- Banerjee, S., Schlaeppli, K., van der Heijden, M.G.A., 2018. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. *Nat. Rev. Microbiol.* 16, 567–576. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0024-1>
- Bardgett, R.D., Van Der Putten, W.H., 2014. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515, 505–511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Barea, J.M., Pozo, M.J., Azcón, R., Azcón-Aguilar, C., 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56, 1761–1778. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri197>
- Bárzana, G., Aroca, R., Paz, J.A., Chaumont, F., Martínez-Ballesta, M.C., Carvajal, M., Ruiz-Lozano, J.M., 2012. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions. *Ann. Bot.* 109, 1009–1017. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs007>
- Baslam, M., Goicoechea, N., 2012. Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves. *Mycorrhiza* 22, 347–359. <https://doi.org/10.1007/s00572-011-0408-9>
- Baslam, M., Qaddoury, A., Goicoechea, N., 2014. Role of native and exotic mycorrhizal symbiosis to develop morphological, physiological and biochemical responses coping with water drought of date palm, *Phoenix dactylifera*. *Trees - Struct. Funct.* 28, 161–172. <https://doi.org/10.1007/s00468-013-0939-0>
- Bastida, F., García, C., Fierer, N., Eldridge, D.J., Bowker, M.A., Abades, S., Alfaro, F.D., Asefaw Berhe, A., Cutler, N.A., Gallardo, A., García-Velázquez, L., Hart, S.C., Hayes, P.E., Hernández, T., Hseu, Z.Y., Jehmlich, N., Kirchmair, M., Lambers, H., Neuhauser, S., Peña-Ramírez, V.M., Pérez, C.A., Reed, S.C., Santos, F., Siebe, C., Sullivan, B.W., Trivedi, P., Vera, A., Williams, M.A., Luis Moreno, J., Delgado-Baquerizo, M., 2019. Global ecological predictors of the soil priming effect. *Nat. Commun.* 10, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11472-7>
- Basu, S., Rabara, R.C., Negi, S., 2018. AMF: The future prospect for sustainable agriculture. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.11.007>
- Battle, I., Tous, J., 1997. Carob tree: *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Bioersivity International: Rome, Italy, 1997; p. 91.
- Baumel, A., Mirleau, P., Viruel, J., Bou Dagher Kharrat, M., La Malfa, S., Ouahmane, L., Diadema, K., Moakhar, M., Sanguin, H., Médail, F., 2018. Assessment of plant species diversity associated with the carob tree (*Ceratonia siliqua*, Fabaceae) at the Mediterranean

- scale. *Plant Ecol. Evol.* 151, 185–193.
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M.A., Raza, S., Khan, M.I., Ahmed, N., Ashraf, M., Zhang, L., 2019. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Plant Growth Regulation: Implications in Abiotic Stress Tolerance. *Front. Plant Sci.* 10, 1068.
- Bender, S.F., Wagg, C., van der Heijden, M.G.A., 2016. An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability. *Trends Ecol. Evol.* 31, 440–452.
- Benhiba, L., Fouad, M.O., Essahibi, A., Ghoulam, C., Qaddoury, A., 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis enhanced growth and antioxidant metabolism in date palm subjected to long-term drought. *Trees - Struct. Funct.* 29, 1725–1733. <https://doi.org/10.1007/s00468-015-1253-9>
- Berruti, A., Desirò, A., Visentin, S., Zecca, O., Bonfante, P., 2017. ITS fungal barcoding primers versus 18S AMF-specific primers reveal similar AMF-based diversity patterns in roots and soils of three mountain vineyards. *Environ. Microbiol. Rep.* 9, 658–667.
- Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., Bianciotto, V., 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. *Front. Microbiol.* 6, 1559.
- Bertrand, G., 2009. Caractérisation des réponses adaptatives à la contrainte hydrique dans le Sud-Est de l'Amazonie chez trois espèces fourragères cultivées en monoculture et en association : *brachiaria brizantha*, *Leucaena leucocephala* et *Arachis pintoï*. Thèse de doctorat. Université Paris-Est.
- Besserer, A., Puech-Pagè, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Bastien Roy, S., Portais, J.-C., Roux, C., Becard, G., Sejalon-Delmas, N., 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biol.* 4, 1239–1247. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040226>
- Bever, J.D., Platt, T.G., Morton, E.R., 2012. Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 66, 265–283.
- Bezerra-Neto, J.P., de Araújo, F.C., Ferreira-Neto, J.R.C., da Silva, M.D., Pandolfi, V., Aburjaile, F.F., Sakamoto, T., de Oliveira Silva, R.L., Kido, E.A., Barbosa Amorim, L.L., 2019. Plant aquaporins: diversity, evolution and biotechnological applications. *Curr. Protein Pept. Sci.* 20, 368–395.
- Blum, A., 2017. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant Cell Environ.* <https://doi.org/10.1111/pce.12800>
- Bolandnazar, S., Aliasgarzad, N., Neishabury, M., Chaparzadeh, N., 2007. Mycorrhizal colonization improves onion (*Allium cepa* L.) yield and water use efficiency under water deficit condition. *Sci. Hortic.* 114, 11–15.
- Bonito, G., Reynolds, H., Robeson, M.S., Nelson, J., Hodkinson, B.P., Tuskan, G., Schadt, C.W., Vilgalys, R., 2014. Plant host and soil origin influence fungal and bacterial assemblages in the roots of woody plants. *Mol. Ecol.* 23, 3356–3370. <https://doi.org/10.1111/mec.12821>
- Bouffaud, M.-L., Creamer, R.E., Stone, D., Plassart, P., van Tuinen, D., Lemanceau, P., Wipf,



- D., Redecker, D., 2016. Indicator species and co-occurrence in communities of arbuscular mycorrhizal fungi at the European scale. *Soil Biol. Biochem.* 103, 464–470.
- Bournaud, C., James, E.K., de Faria, S.M., Lebrun, M., Melkonian, R., Duponnois, R., Tisseyre, P., Moulin, L., Prin, Y., 2018. Interdependency of efficient nodulation and arbuscular mycorrhization in *Piptadenia gonoacantha*, a Brazilian legume tree. *Plant. Cell Environ.* 41, 2008–2020.
- Boutasknit, A., Baslam, M., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Ben-Laouane, R., Douira, A., El Modafar, C., Mitsui, T., Wahbi, S., Meddich, A., 2020. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Mediate Drought Tolerance and Recovery in Two Contrasting Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Ecotypes by Regulating Stomatal, Water Relations, and (In)Organic Adjustments. *Plants* 9, 80. <https://doi.org/10.3390/plants9010080>
- Boyer, L.R., Brain, P., Xu, X.-M., Jeffries, P., 2015. Inoculation of drought-stressed strawberry with a mixed inoculum of two arbuscular mycorrhizal fungi: effects on population dynamics of fungal species in roots and consequential plant tolerance to water deficiency. *Mycorrhiza* 25, 215–227.
- Brodribb, T.J., Bowman, D.J.M.S., Nichols, S., Delzon, S., Burrell, R., 2010. Xylem function and growth rate interact to determine recovery rates after exposure to extreme water deficit. *New Phytol.* 188, 533–542.
- Brundrett, M.C., Tedersoo, L., 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytol.* 220, 1108–1115.
- Bulgarelli, D., Garrido-Oter, R., Münch, P.C., Weiman, A., Dröge, J., Pan, Y., McHardy, A.C., Schulze-Lefert, P., 2015. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. *Cell Host Microbe* 17, 392–403.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Van Themaat, E.V.L., Schulze-Lefert, P., 2013. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 807–838.
- Bussotti, F., Ferrini, F., Pollastrini, M., Fini, A., 2014. The challenge of Mediterranean sclerophyllous vegetation under climate change: from acclimation to adaptation. *Environ. Exp. Bot.* 103, 80–98.
- Cakmakci, O., Cakmakci, T., Durak, E.D., Demir, S., Sensoy, S., 2017. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi in melon (*Cucumis melo* l.) seedling under deficit irrigation. *Fresenius Environ. Bull.* 26, 7513–7520.
- Calvo-Polanco, M., Sánchez-Romera, B., Aroca, R., Asins, M.J., Declerck, S., Dodd, I.C., Martínez-Andújar, C., Albacete, A., Ruiz-Lozano, J.M., 2016. Exploring the use of recombinant inbred lines in combination with beneficial microbial inoculants (AM fungus and PGPR) to improve drought stress tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 131, 47–57.
- Calvo-Polanco, M., Sánchez-Castro, I., Cantos, M., García, J.L., Azcón, R., Ruiz-Lozano, J.M., Beuzón, C.R., Aroca, R., 2016. Effects of different arbuscular mycorrhizal fungal backgrounds and soils on olive plants growth and water relation properties under well-watered and drought conditions. *Plant. Cell Environ.* 39, 2498–2514.
- Cameron, E.K., Martins, I.S., Lavelle, P., Mathieu, J., Tedersoo, L., Bahram, M., Gottschall, F., Guerra, C.A., Hines, J., Patoine, G., Siebert, J., Winter, M., Cesarz, S., Ferlian, O.,

- Kreft, H., Lovejoy, T.E., Montanarella, L., Orgiazzi, A., Pereira, H.M., Phillips, H.R.P., Settele, J., Wall, D.H., Eisenhauer, N., 2019. Global mismatches in aboveground and belowground biodiversity. *Conserv. Biol.* 33, 1187–1192. <https://doi.org/10.1111/cobi.13311>
- Chagnon, P.-L., Bradley, R.L., Maherali, H., Klironomos, J.N., 2013. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends Plant Sci.* 18, 484–91. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.05.001>
- Chaumont, F., Barrieu, F., Wojcik, E., Chrispeels, M.J., Jung, R., 2001. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. *Plant Physiol.* 125, 1206–1215. <https://doi.org/10.1104/pp.125.3.1206>
- Chen, D., Wang, S., Cao, B., Cao, D., Leng, G., Li, H., Yin, L., Shan, L., Deng, X., 2016. Genotypic Variation in Growth and Physiological Response to Drought Stress and Re-Watering Reveals the Critical Role of Recovery in Drought Adaptation in Maize Seedlings. *Front. Plant Sci.* 6, 1241. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01241>
- Chen, H., 2016. VennDiagram: Generate high-resolution Venn and Euler plots. R Packag. version 1.6.20.
- Chessel, D., Dufour, A.B., Thioulouse, J., 2004. The ade4 package-I-One-table methods. *R news* 4, 5–10.
- Chitarra, W., Pagliarani, C., Maserti, B., Lumini, E., Siciliano, I., Cascone, P., Schubert, A., Gambino, G., Balestrini, R., Guerrieri, E., 2016. Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. *Plant Physiol.* 171, 1009–1023.
- Clarke, J.M., McCaig, T.N., 1982. Evaluation of Techniques for Screening for Drought Resistance in Wheat 1. *Crop Sci.* 22, 503–506.
- Clemmensen, K.E., Finlay, R.D., Dahlberg, A., Stenlid, J., Wardle, D.A., Lindahl, B.D., 2015. Carbon sequestration is related to mycorrhizal fungal community shifts during long-term succession in boreal forests. *New Phytol.* 205, 1525–1536.
- Comandini, O., Contu, M., Rinaldi, A.C., 2006. An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16, 381–395. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0047-8>
- Conway, J.R., Lex, A., Gehlenborg, N., 2017. UpSetR: an R package for the visualization of intersecting sets and their properties. *Bioinformatics* 33, 2938–2940.
- Correia, P.J., Martins-Loução, M.A., 2005. The use of macronutrients and water in marginal Mediterranean areas: The case of carob-tree. *F. Crop. Res.* 91, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.05.004>
- Cramer, W., Guiot, J., Fader, M., Garrabou, J., Gattuso, J.-P., Iglesias, A., Lange, M.A., Lionello, P., Llasat, M.C., Paz, S., 2018. Climate change and interconnected risks to sustainable development in the Mediterranean. *Nat. Clim. Chang.* 8, 972–980.
- Cruz, C., Green, J.J., Watson, C.A., Wilson, F., Martins-Loução, M.A., 2004. Functional aspects of root architecture and mycorrhizal inoculation with respect to nutrient uptake capacity. *Mycorrhiza* 14, 177–184. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0254-5>
- Davison, J., Moora, M., Öpik, M., Adholeya, A., Ainsaar, L., Bâ, A., Burla, S., Diedhiou, A.G.,

- Hiiesalu, I., Jairus, T., Johnson, N.C., Kane, A., Koorem, K., Kochar, M., Ndiaye, C., Pärtel, M., Reier, Saks, Singh, R., Vasar, M., Zobel, M., 2015. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism. *Science*. 349, 970–973. <https://doi.org/10.1126/science.aab1161>
- De Cáceres, M., Legendre, P., 2009. Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology* 90, 3566–3574.
- de la Fuente Cantó, C., Simonin, M., King, E., Moulin, L., Bennett, M.J., Castrillo, G., Laplaze, L., 2020. An extended root phenotype: the rhizosphere, its formation and impacts on plant fitness. *Plant J.*
- de Vries, F.T., Griffiths, R.I., Bailey, M., Craig, H., Girlanda, M., Gweon, H.S., Hallin, S., Kaisermann, A., Keith, A.M., Kretzschmar, M., 2018. Soil bacterial networks are less stable under drought than fungal networks. *Nat. Commun.* 9, 3033.
- de Vries, F.T., Griffiths, R.I., Knight, C.G., Nicolitch, O., Williams, A., 2020. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. *Science*. 368, 270–274.
- del Mar Alguacil, M., Kohler, J., Caravaca, F., Roldán, A., 2009. Differential effects of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* on lettuce plants physiological response and aquaporin PIP2 gene expression under elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and drought. *Microb. Ecol.* 58, 942–951. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9544-6>
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A.M., Brewer, T.E., Benavent-González, A., Eldridge, D.J., Bardgett, R.D., Maestre, F.T., Singh, B.K., Fierer, N., 2018a. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*. 359, 320–325. <https://doi.org/10.1126/science.aap9516>
- Delgado-Baquerizo, M., Reith, F., Dennis, P.G., Hamonts, K., Powell, J.R., Young, A., Singh, B.K., Bissett, A., 2018b. Ecological drivers of soil microbial diversity and soil biological networks in the Southern Hemisphere. *Ecology* 99, 583–596.
- Desprez-Loustau, M.-L., Marçais, B., Nageleisen, L.-M., Piou, D., Vannini, A., 2006. Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. *Ann. For. Sci.* 63, 597–612.
- Deyett, E., Rolshausen, P.E., 2020. Endophytic microbial assemblage in grapevine. *FEMS Microbiol. Ecol.* 96, fiae053.
- Dietz, S., von Bülow, J., Beitz, E., Nehls, U., 2011. The aquaporin gene family of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*: Lessons for symbiotic functions. *New Phytol.* 190, 927–940. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03651.x>
- Domínguez, M.T., Madejón, P., Marañón, T., Murillo, J.M., 2010. Afforestation of a trace-element polluted area in SW Spain: woody plant performance and trace element accumulation. *Eur. J. For. Res.* 129, 47.
- Dormann, C.F., Frund, J., Bluthgen, N., Gruber, B., 2009. Indices, Graphs and Null Models: Analyzing Bipartite Ecological Networks. *Open Ecol. J.* 2, 7–24. <https://doi.org/10.2174/1874213000902010007>
- Doubková, P., Vlasáková, E., Sudová, R., 2013. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates drought stress imposed on *Knautia arvensis* plants in serpentine soil. *Plant Soil* 370, 149–161. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1610-7>

- Douds, D.D., Pfeffer, P.E., Shachar-Hill, Y., 2000. Carbon partitioning, cost, and metabolism of arbuscular mycorrhizas, in: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Springer, pp. 107–129.
- Duc, N., Csintalan, Z., Posta, K., 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants. *Plant Physiol. Biochem.* 132, 297–307.
- Dun, E.A., Brewer, P.B., Beveridge, C.A., 2009. Strigolactones: discovery of the elusive shoot branching hormone. *Trends Plant Sci.* 14, 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.04.003>
- Egidi, E., Delgado-Baquerizo, M., Plett, J.M., Wang, J., Eldridge, D.J., Bardgett, R.D., Maestre, F.T., Singh, B.K., 2019. A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide. *Nat. Commun.* 10, 2369. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10373-z>
- El Idrissi, M.M., Aujjar, N., Belabed, A., Dessaux, Y., Filali-Maltouf, A., 1996. Characterization of rhizobia isolated from Carob tree (*Ceratonia siliqua*). *J. Appl. Microbiol.* 80, 165–173.
- Elhindi, K.M., El-Din, A.S., Elgorban, A.M., 2017. The impact of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating salt-induced adverse effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Saudi J. Biol. Sci.* 24, 170–179. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.010>
- Emam, T., 2016. Local soil, but not commercial AMF inoculum, increases native and non-native grass growth at a mine restoration site. *Restor. Ecol.* 24, 35–44.
- Essahibi, A., Benhiba, L., Babram, M.A., Ghoulam, C., Qaddoury, A., 2017. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the functional mechanisms associated with drought tolerance in carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Trees* 32, 87–97. <https://doi.org/10.1007/s00468-017-1613-8>
- Faghire, M., Samri, S., Meddich, A., Baslam, M., Goicoechea, N., Qaddoury, A., 2010. Positive effects of arbuscular mycorrhizal fungi on biomass production, nutrient status and water relations in date palm seedlings under water deficiency, in: *IV International Date Palm Conference*. pp. 833–838.
- FAO, 2018. FAOSTAT Online Database; <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (accessed 2.28.20).
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., Plant, S.M.A.B., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 185–212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>
- Ferrero, M., Pagliarani, C., Novák, O., Ferrandino, A., Cardinale, F., Visentin, I., Schubert, A., 2018. Exogenous strigolactone interacts with abscisic acid-mediated accumulation of anthocyanins in grapevine berries. *J. Exp. Bot.* 69, 2391–2401. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery033>
- Ferrol, N., Calvente, R., Cano, C., Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., 2004. Analysing arbuscular mycorrhizal fungal diversity in shrub-associated resource islands from a desertification-threatened semiarid Mediterranean ecosystem. *Appl. Soil Ecol.* 25, 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2003.08.006>

- Finkel, O.M., Castrillo, G., Herrera Paredes, S., Salas González, I., Dangl, J.L., 2017. Understanding and exploiting plant beneficial microbes. *Curr. Opin. Plant Biol.* <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.018>
- Finkel, O.M., Salas-González, I., Castrillo, G., Conway, J.M., Law, T.F., Teixeira, P.J.P.L., Wilson, E.D., Fitzpatrick, C.R., Jones, C.D., Dangl, J.L., 2020. A single bacterial genus maintains root growth in a complex microbiome. *Nature* 1–6.
- Finkel, O.M., Salas-González, I., Castrillo, G., Spaepen, S., Law, T.F., Teixeira, P.J.P.L., Jones, C.D., Dangl, J.L., 2019. The effects of soil phosphorus content on plant microbiota are driven by the plant phosphate starvation response. *PLoS Biol.* 17, e3000534.
- Finlay, R.D., 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: With special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *J. Exp. Bot.* 59, 1115–1126. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern059>
- Fitter, A.H., 2006. What is the link between carbon and phosphorus fluxes in arbuscular mycorrhizas? A null hypothesis for symbiotic function. *New Phytol.* 172, 3–6.
- Fitter, A.H., 1991. Costs and benefits of mycorrhizas: Implications for functioning under natural conditions. *Experientia* 47, 350–355. <https://doi.org/10.1007/BF01972076>
- Fitzpatrick, C.R., Copeland, J., Wang, P.W., Guttman, D.S., Kotanen, P.M., Johnson, M.T.J., 2018. Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115, E1157–E1165.
- Fitzpatrick, C.R., Mustafa, Z., Viliunas, J., 2019. Soil microbes alter plant fitness under competition and drought. *J. Evol. Biol.* 32, 438–450.
- Fortin, J.A., Plenchette, C., Piché, Y., 2016. Les mycorhizes: l'essor de la nouvelle révolution verte. Editions Quae, Feb 1, 2016 – Mycorhizes – p 184.
- Fortunato, C.S., Eiler, A., Herfort, L., Needoba, J.A., Peterson, T.D., Crump, B.C., 2013. Determining indicator taxa across spatial and seasonal gradients in the Columbia River coastal margin. *ISME J.* 7, 1899–1911.
- Fouad, M.O., Essahibi, A., Benhiba, L., Qaddoury, A., 2014. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of olive plants against oxidative stress induced by drought. *Spanish J. Agric. Res.* 12, 763–771.
- Frew, A., 2020. Contrasting effects of commercial and native arbuscular mycorrhizal fungal inoculants on plant biomass allocation, nutrients and phenolics. *Plants, People, Planet* 1–5.
- Frøslev, T.G., Kjølner, R., Bruun, H.H., Ejrnæs, R., Brunbjerg, A.K., Pietroni, C., Hansen, A.J., 2017. Algorithm for post-clustering curation of DNA amplicon data yields reliable biodiversity estimates. *Nat. Commun.* 8, 1–11.
- Gao, C., Montoya, L., Xu, L., Madera, M., Hollingsworth, J., Purdom, E., Singan, V., Vogel, J., Hutmacher, R.B., Dahlberg, J.A., 2020. Fungal community assembly in drought-stressed sorghum shows stochasticity, selection, and universal ecological dynamics. *Nat. Commun.* 11, 1–14.
- Gao, T., Nielsen, A.B., Hedblom, M., 2015. Reviewing the strength of evidence of biodiversity



- indicators for forest ecosystems in Europe. *Ecol. Indic.* 57, 420–434.
- Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V., Moradshahi, A., 2019. Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglossum etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. *Sci. Hortic.* 256, 108652. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108652>
- Gholamhoseini, M., Ghalavand, A., Dolatabadian, A., Jamshidi, E., Khodaei-Joghan, A., 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agric. Water Manag.* 117, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.11.007>
- Ghorchiani, M., Etesami, H., Alikhani, H.A., 2018. Improvement of growth and yield of maize under water stress by co-inoculating an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant growth promoting rhizobacterium together with phosphate fertilizers. *Agric. Ecosyst. Environ.* 258, 59–70. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.02.016>
- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M.N., van Tuinen, D., Redecker, D., Wipf, D., 2010. Agroecology: The key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20, 519–530. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0333-3>
- Gobat, J.M., Aragno, M., Matthey, W., 2003. *The living soil: basic pedology-soil biology*. (2nd edition). Chapman and Hall, London, 569 p.
- Goicoechea, N., Antolín, M.C., Sánchez-Díaz, M., 1997. Influence of arbuscular mycorrhizae and Rhizobium on nutrient content and water relations in drought stressed alfalfa. *Plant Soil* 192, 261–268. <https://doi.org/10.1023/A:1004216225159>
- Gong, M., Tang, M., Chen, H., Zhang, Q., Feng, X., 2013. Effects of two *Glomus* species on the growth and physiological performance of *Sophora davidii* seedlings under water stress. *New For.* 44, 399–408. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9349-1>
- Graham, E.B., Knelman, J.E., Schindlbacher, A., Siciliano, S., Breulmann, M., Yannarell, A., Beman, J.M., Abell, G., Philippot, L., Prosser, J., Foulquier, A., Yuste, J.C., Glanville, H.C., Jones, D.L., Angel, R., Salminen, J., Newton, R.J., Bürgmann, H., Ingram, L.J., Hamer, U., Siljanen, H.M.P., Peltoniemi, K., Potthast, K., Bañeras, L., Hartmann, M., Banerjee, S., Yu, R.-Q., Nogaro, G., Richter, A., Koranda, M., Castle, S.C., Goberna, M., Song, B., Chatterjee, A., Nunes, O.C., Lopes, A.R., Cao, Y., Kaisermann, A., Hallin, S., Strickland, M.S., Garcia-Pausas, J., Barba, J., Kang, H., Isobe, K., Papaspyrou, S., Pastorelli, R., Lagomarsino, A., Lindström, E.S., Basiliko, N., Nemergut, D.R., 2016. Microbes as Engines of Ecosystem Function: When Does Community Structure Enhance Predictions of Ecosystem Processes? *Front. Microbiol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00214>
- Griffiths, R.I., Thomson, B.C., James, P., Bell, T., Bailey, M., Whiteley, A.S., 2011. The bacterial biogeography of British soils. *Environ. Microbiol.* 13, 1642–1654.
- Gu, Y., Dong, K., Geisen, S., Yang, W., Yan, Y., Gu, D., Liu, N., Borisjuk, N., Luo, Y., Friman, V.-P., 2020. The effect of microbial inoculant origin on the rhizosphere bacterial community composition and plant growth-promotion. *Plant Soil*.
- Gullo, M.A. Lo, Salleo, S., Rosso, R., 1986. Drought avoidance strategy in *Ceratonia siliqua*

- L., a mesomorphic-leaved tree in the xeric Mediterranean area. *Ann. Bot.* 58, 745–756.
- Guo, J., Ling, N., Chen, Z., Xue, C., Li, L., Liu, L., Gao, L., Wang, M., Ruan, J., Guo, S., Vandenkoornhuyse, P., Shen, Q., 2019. Soil fungal assemblage complexity is dependent on soil fertility and dominated by deterministic processes. *New Phytol.* 226, 232–243. <https://doi.org/10.1111/nph.16345>
- Gupta, A., Rico-Medina, A., Caño-Delgado, A.I., 2020. The physiology of plant responses to drought. *Science.* 368, 266–269. <https://doi.org/10.1126/science.aaz7614>
- Ha, C. Van, Leyva-Gonzalez, M.A., Osakabe, Y., Tran, U.T., Nishiyama, R., Watanabe, Y., Tanaka, M., Seki, M., Yamaguchi, S., Dong, N. Van, Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Herrera-Estrella, L., Tran, L.S.P., 2014. Positive regulatory role of strigolactone in plant responses to drought and salt stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 851–856. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322135111>
- Hafidi, M., Ouahmane, L., Thioulouse, J., Sanguin, H., Boumezzough, A., Prin, Y., Baudoin, E., Galiana, A., Duponnois, R., 2013. Managing Mediterranean nurse plants-mediated effects on soil microbial functions to improve rock phosphate solubilization processes and early growth of *Cupressus atlantica* G. *Ecol. Eng.* 57, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.04.006>
- Hardoim, P.R., Van Overbeek, L.S., Berg, G., Pirttilä, A.M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., Sessitsch, A., 2015. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 79, 293–320.
- Hart, M.M., Antunes, P.M., Chaudhary, V.B., Abbott, L.K., 2018. Fungal inoculants in the field: Is the reward greater than the risk? *Funct. Ecol.* 32, 126–135. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12976>
- Hashem, A., Kumar, A., Al-Dbass, A.M., Alqarawi, A.A., Al-Arjani, A.B.F., Singh, G., Farooq, M., Abd\_Allah, E.F., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi and biochar improves drought tolerance in chickpea. *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 614–624. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.11.005>
- He, F., Zhang, H., Tang, M., 2016. Aquaporin gene expression and physiological responses of *Robinia pseudoacacia* L. to the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* and drought stress. *Mycorrhiza* 26, 311–323. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0670-3>
- Herrera-Medina, M.J., Steinkellner, S., Vierheilig, H., Ocampo Bote, J.A., García Garrido, J.M., 2007. Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.* 175, 554–564. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02107.x>
- Herrera Paredes, S., Gao, T., Law, T.F., Finkel, O.M., Mucyn, T., Teixeira, P.J.P.L., Salas González, I., Feltcher, M.E., Powers, M.J., Shank, E.A., 2018. Design of synthetic bacterial communities for predictable plant phenotypes. *PLoS Biol.* 16, e2003962.
- Herz, K., Dietz, S., Gorzolka, K., Haider, S., Jandt, U., Scheel, D., Bruelheide, H., 2018. Linking root exudates to functional plant traits. *PLoS One* 13, 1–14.
- Hillcoat, D., Lewis, G., Verdcourt, B., 1980. A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew Bull.* 261–271.

- Hsissou, D., 1994. Sélection in vitro et caractérisation de mutants de blé dur tolérants à la sécheresse. thèse de doctorat, faculté des sciences, université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgique. thèse de doctorat, faculté des sciences, université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgique, 1994 (167 p.).
- Huang, Y.M., Zou, Y.N., Wu, Q.S., 2017. Alleviation of drought stress by mycorrhizas is related to increased root H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> efflux in trifoliolate orange. *Sci. Rep.* 7, 42335. <https://doi.org/10.1038/srep42335>
- Hultine, K.R., Grady, K.C., Wood, T.E., Shuster, S.M., Stella, J.C., Whitham, T.G., 2016. Climate change perils for dioecious plant species. *Nat. Plants* 2, 1–8.
- Jadrane, I., Dounas, H., Kouisni, L., Aziz, F., Ouahmane, L., 2020. Inoculation with selected indigenous mycorrhizal complex improves *Ceratonia siliqua*'s growth and response to drought stress. *Saudi J. Biol. Sci.*
- Javot, H., Maurel, C., 2002. The role of aquaporins in root water uptake. *Ann. Bot.* 90, 301–313. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf199>
- Johanson, U., Karlsson, M., Johansson, I., Gustavsson, S., Sjövall, S., Fraysse, L., Weig, A.R., Kjellbom, P., 2001. The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in arabidopsis provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants. *Plant Physiol.* 126, 1358–1369. <https://doi.org/10.1104/pp.126.4.1358>
- Johnson, N.C., 2010. Resource Stoichiometry Elucidates the Structure and Function of Arbuscular Mycorrhizas across Scales. *New Phytol.* 185, 631–647.
- Johnson, N.C., Wilson, G.W.T., Bowker, M.A., Wilson, J.A., Miller, R.M., 2010. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 2093–2098.
- Jumpponen, A.R.I., Trappe, J.M., 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytol.* 140, 295–310.
- Karimi, B., Terrat, S., Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Horrigue, W., Lelièvre, M., Nowak, V., Jolivet, C., Arrouays, D., Wincker, P., Cruaud, C., Bispo, A., Maron, P.A., Prévost-Bouré, N.C., Ranjard, L., 2018. Biogeography of soil bacteria and archaea across France. *Sci. Adv.* 4, eaat1808. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat1808>
- Kassambara, A., 2020. ggpubr: 'ggplot2' based publication ready plots. R package version 0.4.0.
- Kassambara, A., 2019. ggcorrplot: Visualization of a Correlation Matrix using 'ggplot2'. R Packag. version 0.1.1.
- Kassambara, A., Mundt, F., 2020. factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. R package version 1.0.7.
- Kehe, J., Kulesa, A., Ortiz, A., Ackerman, C.M., Thakku, S.G., Sellers, D., Kuehn, S., Gore, J., Friedman, J., Blainey, P.C., 2019. Massively parallel screening of synthetic microbial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 12804–12809.
- Khan, A., Pan, X., Najeeb, U., Tan, D.K.Y., Fahad, S., Zahoor, R., Luo, H., 2018. Coping with drought: stress and adaptive mechanisms, and management through cultural and molecular



- alternatives in cotton as vital constituents for plant stress resilience and fitness. *Biol. Res.* 51, 47.
- Khassali, H., Baumel, A., Mahé, F., Tournier, E., Tisseyre, P., Prin, Y., Ouahmane, L., Sanguin, H., 2020. The belowground bacterial and fungal communities differed in their significance as microbial indicator of Moroccan carob habitats. *Ecol. Indic.* 114, 106341. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106341>
- Kim, T.-H., Böhmer, M., Hu, H., Nishimura, N., Schroeder, J.I., 2010. Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO<sub>2</sub>, and Ca<sup>2+</sup> Signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 561–591. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112226>
- Kivlin, S.N., Emery, S.M., Rudgers, J.A., 2013. Fungal symbionts alter plant responses to global change. *Am. J. Bot.* 100, 1445–1457.
- Knapp, D.G., Németh, J.B., Barry, K., Hainaut, M., Henrissat, B., Johnson, J., Kuo, A., Lim, J.H.P., Lipzen, A., Nolan, M., 2018. Comparative genomics provides insights into the lifestyle and reveals functional heterogeneity of dark septate endophytic fungi. *Sci. Rep.* 8, 1–13.
- Kõljalg, U., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A.F.S., Bahram, M., Bates, S.T., Bruns, T.D., Bengtsson-Palme, J., Callaghan, T.M., Douglas, B., Drenkhan, T., Eberhardt, U., Dueñas, M., Grebenc, T., Griffith, G.W., Hartmann, M., Kirk, P.M., Kohout, P., Larsson, E., Lindahl, B.D., Lücking, R., Martín, M.P., Matheny, P.B., Nguyen, N.H., Niskanen, T., Oja, J., Peay, K.G., Peintner, U., Peterson, M., Põldmaa, K., Saag, L., Saar, I., Schüßler, A., Scott, J.A., Senés, C., Smith, M.E., Suija, A., Taylor, D.L., Telleria, M.T., Weiss, M., Larsson, K.-H., 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Mol. Ecol.* 22, 5271–5277. <https://doi.org/10.1111/mec.12481>
- Konate, I., Koffi, M., Koulibaly, A., Filali-Maltouf, A., 2017. Screening of Endophytic Bacteria Associated with *Ceratonia siliqua* L. Plant Using Molecular Marker Repetitive Extragenic Palindromic (Rep)-PCR.
- Konate, I., Sorouri, A., Filali-Maltouf, A., Berraho, E., 2007. Characterization of endophytic bacteria associated with roots and epicotyls of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.), in: In: Jones, D.L. (Ed.), *Rhizosphere 2*.
- Kooyers, N.J., 2015. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. *Plant Sci.* 234, 155–162.
- Kuramae, E., Gamper, H., van Veen, J., Kowalchuk, G., 2011. Soil and plant factors driving the community of soil-borne microorganisms across chronosequences of secondary succession of chalk grasslands with a neutral pH. *FEMS Microbiol. Ecol.* 77, 285–294. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01110.x>
- Kwak, M.-J., Kong, H.G., Choi, K., Kwon, S.-K., Song, J.Y., Lee, J., Lee, P.A., Choi, S.Y., Seo, M., Lee, H.J., 2018. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato. *Nat. Biotechnol.* 36, 1100–1109.
- La Malfa, S., Tribulato, E., Gentile, A., Ventura, M., Gioacchini, P., Tagliavini, M., 2010. 15N natural abundance technique does not reveal the presence of nitrogen from biological fixation in field grown carob (*Ceratonia siliqua* L.) trees. *Acta Hort.* 77, 191–196.

- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 5111–5120.
- Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., Fierer, N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2407–2415.
- Leff, J.W., Jones, S.E., Prober, S.M., Barberán, A., Borer, E.T., Firm, J.L., Harpole, W.S., Hobbie, S.E., Hofmockel, K.S., Knops, J.M.H., McCulley, R.L., La Pierre, K., Risch, A.C., Seabloom, E.W., Schütz, M., Steenbock, C., Stevens, C.J., Fierer, N., 2015. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 10967–10972. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508382112>
- Lekberg, Y., Koide, R.T., 2005. Is plant performance limited by abundance of arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis of studies published between 1988 and 2003. *New Phytol.* 168, 189–204.
- Lekberg, Y., Vasar, M., Bullington, L.S., Sepp, S., Antunes, P.M., Bunn, R., Larkin, B.G., Öpik, M., 2018. More bang for the buck? Can arbuscular mycorrhizal fungal communities be characterized adequately alongside other fungi using general fungal primers? *New Phytol.* 220, 971–976.
- Li, S., Assmann, S.M., 2009. Genetic Determinants of Stomatal Function, in: *Genes for Plant Abiotic Stress*. Wiley-Blackwell, pp. 1–33. <https://doi.org/10.1002/9780813809380.ch1>
- Li, T., Hu, Y.J., Hao, Z.P., Li, H., Wang, Y.S., Chen, B.D., 2013. First cloning and characterization of two functional aquaporin genes from an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytol.* 197, 617–630. <https://doi.org/10.1111/nph.12011>
- Li, T., Lin, G., Zhang, X., Chen, Y., Zhang, S., Chen, B., 2014. Relative importance of an arbuscular mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices*) and root hairs in plant drought tolerance. *Mycorrhiza* 24, 595–602. <https://doi.org/10.1007/s00572-014-0578-3>
- Li, X., He, X., Hou, L., Ren, Y., Wang, S., Su, F., 2018. Dark septate endophytes isolated from a xerophyte plant promote the growth of *Ammopiptanthus mongolicus* under drought condition. *Sci. Rep.* 8, 1–11.
- Li, X., He, X., Zhou, Y., Hou, Y., Zuo, Y., 2019. Effects of dark septate endophytes on the performance of *Hedysarum scoparium* under water deficit stress. *Front. Plant Sci.* 10, 903.
- Li, Y., Wu, X., Chen, T., Wang, W., Liu, G., Zhang, W., Li, S., Wang, M., Zhao, C., Zhou, H., 2018. Plant phenotypic traits eventually shape its microbiota: a common garden test. *Front. Microbiol.* 9, 2479.
- Li, Z., Wu, N., Liu, T., Chen, H., Tang, M., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on water status and photosynthesis of *Populus cathayana* males and females under water stress. *Physiol. Plant.* 155, 192–204. <https://doi.org/10.1111/ppl.12336>
- Liu, C., Zhang, F., Zhang, D., Srivastava, A., Wu, Q., Zou, Y., 2018. Mycorrhiza stimulates root-hair growth and IAA synthesis and transport in trifoliate orange under drought stress. *Sci. Rep.* 8, 1978.

- Liu, J., Guo, C., Chen, Z.-L., He, J.-D., Zou, Y.-N., 2016. Mycorrhizal inoculation modulates root morphology and root phytohormone responses in trifoliolate orange under drought stress. *Emir. J. Food Agric* 28, 251–256. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-11-1044>
- Long, J.A., 2019. jtools: Analysis and presentation of social scientific data. (R package version 2.0.1).
- Ludwig-Müller, J., 2010. Hormonal responses in host plants triggered by arbuscular mycorrhizal fungi, in: H Koltai, Y Kapulnik, Eds, *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Ed 2. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 169–190. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6_8)
- Lugo, M.A., Reinhart, K.O., Menoyo, E., Crespo, E.M., Urcelay, C., 2015. Plant functional traits and phylogenetic relatedness explain variation in associations with root fungal endophytes in an extreme arid environment. *Mycorrhiza* 25, 85–95.
- Lumini, E., Orgiazzi, A., Borriello, R., Bonfante, P., Bianciotto, V., 2010. Disclosing arbuscular mycorrhizal fungal biodiversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing approach. *Environ. Microbiol.* 12, 2165–2179.
- Luo, L.J., 2010. Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. *J. Exp. Bot.* 61, 3509–3517. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq185>
- Maghnia, F.Z., Abbas, Y., Mahé, F., Kerdouh, B., Tournier, E., Ouadji, M., Tisseyre, P., Prin, Y., Ghachtouli, N. El, Bakkali Yakhlef, S.E., Duponnois, R., Sanguin, H., 2017. Habitat- and soil-related drivers of the root-associated fungal community of *Quercus suber* in the Northern Moroccan forest. *PLoS One* 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187758>
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., Dunthorn, M., 2015. Swarm v2: Highly-scalable and high-resolution amplicon clustering. *PeerJ* 3, e1420. <https://doi.org/10.7717/peerj.1420>
- Malek, Ž., Verburg, P.H., Geijzendorffer, I.R., Bondeau, A., Cramer, W., 2018. Global change effects on land management in the Mediterranean region. *Glob. Environ. Chang.* 50, 238–254.
- Maltz, M.R., Treseder, K.K., 2015. Sources of inocula influence mycorrhizal colonization of plants in restoration projects: a meta-analysis. *Restor. Ecol.* 23, 625–634.
- Manaut, N., 2015. Valorisation de la microflore symbiotique endémique des sols marocains pour améliorer la domestication du Caroubier. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech. Maroc. Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech. Maroc.
- Manaut, N., Sanguin, H., Ouahmane, L., Bressan, M., Thioulouse, J., Baudoin, E., Galiana, A., Hafidi, M., Prin, Y., Duponnois, R., 2015. Potentialities of ecological engineering strategy based on native arbuscular mycorrhizal community for improving afforestation programs with carob trees in degraded environments. *Ecol. Eng.* 79, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.03.007>
- Mandyam, K., Jumpponen, A., 2005. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Stud. Mycol.* 53, 173–189.
- Manoharan, P.T., Shanmugaiah, V., Balasubramanian, N., Gomathinayagam, S., Sharma, M.P.,

- Muthuchelian, K., 2010. Influence of AM fungi on the growth and physiological status of *Erythrina variegata* Linn. grown under different water stress conditions. *Eur. J. Soil Biol.* 46, 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.01.001>
- Marasco, R., Rolli, E., Fusi, M., Michoud, G., Daffonchio, D., 2018. Grapevine rootstocks shape underground bacterial microbiome and networking but not potential functionality. *Microbiome* 6, 3.
- Martín-Robles, N., García-Palacios, P., Rodríguez, M., Rico, D., Vigo, R., Sánchez-Moreno, S., De Deyn, G.B., Milla, R., 2020. Crops and their wild progenitors recruit beneficial and detrimental soil biota in opposing ways. *Plant Soil* 1–15.
- Martín-Rodríguez, J.A., Huertas, R., Ho-Plágaro, T., Ocampo, J.A., Čková, V.T., Tarkowská, D., Ludwig-Müller, J., García-Garrido, J.M., 2016. Gibberellin-abscisic acid balances during arbuscular mycorrhiza formation in tomato. *Front. Plant Sci.* 7, 1273. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01273>
- Martín-Robles, N., Lehmann, A., Seco, E., Aroca, R., Rillig, M.C., Milla, R., 2018. Impacts of domestication on the arbuscular mycorrhizal symbiosis of 27 crop species. *New Phytol.* 218, 322–334.
- Martin, M., 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. J.* 17 (1), 10–12.
- Martínez-García, L.B., Armas, C., de Dios Miranda, J., Padilla, F.M., Pugnaire, F.I., 2011. Shrubs influence arbuscular mycorrhizal fungi communities in a semi-arid environment. *Soil Biol. Biochem.* 43, 682–689.
- Marulanda, A., Azcón, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiol. Plant.* 119, 526–533. <https://doi.org/10.1046/j.1399-3054.2003.00196.x>
- Marulanda, A., Barea, J.M., Azcón, R., 2009. Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM Fungi and bacteria) from dry environments: Mechanisms related to bacterial effectiveness. *J. Plant Growth Regul.* 28, 115–124. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9079-6>
- Matusova, R., Rani, K., Verstappen, F.W.A., Franssen, M.C.R., Beale, M.H., Bouwmeester, H.J., 2005. The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanche* spp. are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiol.* 139, 920–934. <https://doi.org/10.1104/pp.105.061382>
- Maurel, C., Chrispeels, M.J., 2001. Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant Physiol.* 125, 135–138. <https://doi.org/10.1104/pp.125.1.135>
- Maurel, C., Plassard, C., 2011. Aquaporins: For more than water at the plant-fungus interface? *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03731.x>
- Maurel, C., Verdoucq, L., Luu, D.-T., Santoni, V., 2008. Plant Aquaporins: Membrane Channels with Multiple Integrated Functions. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 595–624. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092734>
- Meddich, A., Jaiti, F., Bourzik, W., Asli, A. El, Hafidi, M., 2015. Use of mycorrhizal fungi as a strategy for improving the drought tolerance in date palm (*Phoenix dactylifera*). *Sci.*

Hortic. 192, 468–474. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.06.024>

- Meddich, A., Oihabi, A., Abbas, Y., Bizid, E., Bizid Rôle, E., 2000. Rôle des champignons mycorrhiziens à arbuscules de zones arides dans la résistance du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) au déficit hydrique. *Agronomie* 20, 283–295. <https://doi.org/10.1051/agro:2000127i>
- Mendes, R., Garbeva, P., Raaijmakers, J.M., 2013. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 634–663.
- Mercado-Blanco, J., Abrantes, I., Barra Caracciolo, A., Bevivino, A., Ciancio, A., Grenni, P., Hrynkiewicz, K., Kredics, L., Proença, D.N., 2018. Belowground microbiota and the health of tree crops. *Front. Microbiol.* 9, 1006.
- Miransari, M., 2011a. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnol. Adv.* 29, 645–653.
- Miransari, M., 2011b. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 89, 917–930. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3004-6>
- Mitter, B., Pfaffenbichler, N., Flavell, R., Compant, S., Antonielli, L., Petric, A., Berninger, T., Naveed, M., Sheibani-Tezerji, R., von Maltzahn, G., 2017. A new approach to modify plant microbiomes and traits by introducing beneficial bacteria at flowering into progeny seeds. *Front. Microbiol.* 8, 11.
- Mo, Y., Wang, Y., Yang, R., Zheng, J., Liu, C., Li, H., Ma, J., Zhang, Y., Wei, C., Zhang, X., 2016. Regulation of plant growth, photosynthesis, antioxidation and osmosis by an arbuscular mycorrhizal fungus in watermelon seedlings under well-watered and drought conditions. *Front. Plant Sci.* 7, 644. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00644>
- Moreira, S.D., França, A.C., Rocha, W.W., Tibães, E.S.R., Neiva Júnior, E., 2018. Inoculation with mycorrhizal fungi on the growth and tolerance to water deficit of coffee plants. *Rev Bras Eng Agric Ambient* 22, 747–752. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n11p747-752>
- Morgan, J.M., 1984. Osmoregulation and Water Stress in Higher Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 299–319. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.35.060184.001503>
- Müller, A., Ngwene, B., Peiter, E., George, E., 2017. Quantity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungal storage organs within dead roots. *Mycorrhiza* 27, 201–210. <https://doi.org/10.1007/s00572-016-0741-0>
- Nagahashi, G., Douds, J., 2000. Partial separation of root exudate components and their effects upon the growth of germinated spores of AM fungi. *Mycol. Res.* 104, 1453–1464. <https://doi.org/10.1017/S0953756200002860>
- Newsham, K.K., 2011. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. *New Phytol.* 190, 783–793.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., 2019. *Vegan: community ecology package*, version 2.4-4.



- Oksanen, J., Guillaume Blanchet, F., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P., O'Hara, R., Simpson, G., Solymos, P., Stevens, M.H., Szoecs, E., Wagner, H., 2016. Vegan: Community Ecology Package, R package version 2. 4-1.
- Oliveira, G., Nunes, A., Clemente, A., Correia, O., 2011. Effect of substrate treatments on survival and growth of Mediterranean shrubs in a revegetated quarry: an eight-year study. *Ecol. Eng.* 37, 255–259.
- Oliveira, R.S., Carvalho, P., Marques, G., Ferreira, L., Nunes, M., Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, M.F., Vosátka, M., Freitas, H., 2017. Increased protein content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria under water deficit conditions. *J. Sci. Food Agric.* 97, 4379–4385. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8201>
- Orgiazzi, A., Lumini, E., Nilsson, R.H., Girlanda, M., Vizzini, A., Bonfante, P., Bianciotto, V., 2012. Unravelling soil fungal communities from different Mediterranean land-use backgrounds. *PLoS One* 7, e34847.
- Ouahmane, L., Duponnois, R., Hafidi, M., Kisa, M., Boumezouch, A., Thioulouse, J., Plenchette, C., 2006a. Some Mediterranean plant species (*Lavandula* spp. and *Thymus satureioides*) act as potential “plant nurses” for the early growth of *Cupressus atlantica*. *Plant Ecol.* 185, 123–134. <https://doi.org/10.1007/s11258-005-9089-9>
- Ouahmane, L., Hafidi, M., Plenchette, C., Kisa, M., Boumezzough, A., Thioulouse, J., Duponnois, R., 2006b. *Lavandula* species as accompanying plants in *Cupressus* replanting strategies: Effect on plant growth, mycorrhizal soil infectivity and soil microbial catabolic diversity. *Appl. Soil Ecol.* 34, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.02.002>
- Ouahmane, L., Ibrahima, N., Abdessadek, M., Abderrahim, F., 2012. Inoculation of *Ceratonia siliqua* L. with native arbuscular mycorrhizal fungi mixture improves seedling establishment under greenhouse conditions. *African J. Biotechnol.* 11, 16422-16426–16426. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1163>
- Oyewole, B.O., Olawuyi, O.J., Odebode, A.C., Abiala, M.A., 2017. Influence of Arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) on drought tolerance and charcoal rot disease of cowpea. *Biotechnol. Reports* 14, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.02.004>
- Ozturk, M., Dogan, Y., Sakcali, M.S., Doulis, A., Karam, F., 2010. Ecophysiological responses of some maquis (*Ceratonia siliqua* L., *Olea oleaster* Hoffm. & Link, *Pistacia lentiscus* and *Quercus coccifera* L.) plant species to drought in the east Mediterranean ecosystem. *J. Environ. Biol.* 31, 233–245.
- Papaefstathiou, E., Agapiou, A., Giannopoulos, S., Kokkinofa, R., 2018. Nutritional characterization of carobs and traditional carob products. *Food Sci. Nutr.* 6, 2151–2161. <https://doi.org/10.1002/fsn3.776>
- Peacher, M.D., Meiners, S.J., 2020. Inoculum handling alters the strength and direction of plant–microbe interactions. *Ecology* 101, e02994.
- Pedersen, T.L., 2020. patchwork: the composer of plots. R package version 1.0.1.
- Pedranzani, H., Rodríguez-Rivera, M., Gutiérrez, M., Porcel, R., Hause, B., Ruiz-Lozano, J.M., 2016. Arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates physiology and performance of *Digitaria eriantha* plants subjected to abiotic stresses by modulating antioxidant and

- jasmonate levels. *Mycorrhiza* 26, 141–152. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0653-4>
- Peleg, Z., Blumwald, E., 2011. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14, 290–295. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.02.001>
- Peleg, Z., Reguera, M., Tumimbang, E., Walia, H., Blumwald, E., 2011. Cytokinin-mediated source/sink modifications improve drought tolerance and increase grain yield in rice under water-stress. *Plant Biotechnol. J.* 9, 747–758. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00584.x>
- Peñuelas, J., Lloret, F., Montoya, R., 2001. Severe drought effects on Mediterranean woody flora in Spain. *For. Sci.* 47, 214–218.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55, 158–IN18. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3)
- Pietragalla, J., Pask, A., 2012. Stomatal conductance. *Physiological breeding II: a field guide to wheat phenotyping*. CIMMYT, Mexico.
- Piniór, A., Grunewaldt-Stöcker, G., von Alten, H., Strasser, R.J., 2005. Mycorrhizal impact on drought stress tolerance of rose plants probed by chlorophyll a fluorescence, proline content and visual scoring. *Mycorrhiza* 15, 596–605.
- Pirzad, A., Mohammadzadeh, S., 2018. Water use efficiency of three mycorrhizal Lamiaceae species (*Lavandula officinalis*, *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris*). *Agric. Water Manag.* 204, 1–10.
- Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S.A., Darvishzadeh, R., Samadi, A., 2011. Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *J. Med. Plants Res.* 5, 2483–2488.
- Pittermann, J., 2010. The evolution of water transport in plants: an integrated approach. *Geobiology* 8, 112–139.
- Polade, S.D., Pierce, D.W., Cayan, D.R., Gershunov, A., Dettinger, M.D., 2014. The key role of dry days in changing regional climate and precipitation regimes. *Sci. Rep.* 4, 4364. <https://doi.org/10.1038/srep04364>
- Porcel, R., Aroca, R., Azcón, R.A., Ruiz-Lozano, J.M., 2006. PIP aquaporin gene expression in arbuscular mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants in relation to drought stress tolerance. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10, 393–398. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-4210-y>
- Porcel, R., Gómez, M., Kaldenhoff, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2005. Impairment of NtAQP1 gene expression in tobacco plants does not affect root colonisation pattern by arbuscular mycorrhizal fungi but decreases their symbiotic efficiency under drought. *Mycorrhiza* 15, 417–423.
- Porcel, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *J. Exp. Bot.* 55, 1743–1750. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh188>
- Porrás-Alfaro, A., Bayman, P., 2011. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and

- microbiomes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49, 291–315.
- Porter, S.S., Bantay, R., Friel, C.A., Garoutte, A., Gdanetz, K., Ibarreta, K., Moore, B.M., Shetty, P., Siler, E., Friesen, M.L., 2019. Beneficial microbes ameliorate abiotic and biotic sources of stress on plants. *Funct. Ecol.* 00, 1–12.
- Porter, S.S., Sachs, J.L., 2020. Agriculture and the Disruption of Plant–Microbial Symbiosis. *Trends Ecol. Evol.* 35, 426–439.
- Potters, G., Pasternak, T.P., Guisez, Y., Jansen, M.A.K., 2009. Different stresses, similar morphogenic responses: Integrating a plethora of pathways. *Plant, Cell Environ.* 32, 158–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01908.x>
- Pozo, M.J., López-Ráez, J.A., Azcón-Aguilar, C., García-Garrido, J.M., 2015. Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 205, 1431–1436. [https://doi.org/10.1111/NPH.13252@10.1111/\(ISSN\)1469-8137.HIGHLIGHTSOF2015](https://doi.org/10.1111/NPH.13252@10.1111/(ISSN)1469-8137.HIGHLIGHTSOF2015)
- Qin, M., Shi, G., Zhang, Q., Meng, Y., Liu, Y., Pan, J., Jiang, S., Zhou, G., Feng, H., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi serve as keystone taxa for revegetation on the Tibetan Plateau. *J. Basic Microbiol.* 59, 609–620. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900060>
- Qiu, Z., Egidi, E., Liu, H., Kaur, S., Singh, B.K., 2019. New frontiers in agriculture productivity: Optimised microbial inoculants and in situ microbiome engineering. *Biotechnol. Adv.* 37, 107371.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2012. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41, D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Quézel, P., Médail, F., 2003. *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen.*
- Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R., Chaumont, F., Ruiz-Lozano, J.M., 2017. Enhanced drought stress tolerance by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in a drought-sensitive maize cultivar is related to a broader and differential regulation of host plant aquaporins than in a drought-tolerant cultivar. *Front. Plant Sci.* 8, 1056. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01056>
- R Core Team, 2018. *R: A language and environment for statistical computing.*
- R Core Team, 2017. *R: a language and environment for statistical computing.*
- Rahimzadeh, S., Pirzad, A., 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas* in reduce drought stress damage in flax (*Linum usitatissimum* L.): a field study. *Mycorrhiza* 27, 537–552. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0775-y>
- Rajemison, A.H., 2013. *Proposition d’essences de substitution aux bois précieux en épuisement par la connaissance des propriétés du matériau bois : cas du palissandre de Madagascar – Application en ameublement. . Thèse Université Paul Sabatier Toulouse III et Université. d’Anta.*
- Ramón-Laca, L., Mabberley, D.J., 2004. The ecological status of the carob-tree (*Ceratonia siliqua*, Leguminosae) in the Mediterranean. *Bot. J. Linn. Soc.* 144, 431–436.



- Rankou, H., M'Sou, S., Chadburn, H., Rivers, M., Ouahammou, A., Martin, G., 2017. *Ceratonia siliqua*. The IUCN Red List of Threatened Species. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T202951A112823254.en>.
- Ravanbakhsh, M., Kowalchuk, G.A., Jousset, A., 2019. Root-associated microorganisms reprogram plant life history along the growth–stress resistance tradeoff. *ISME J.* 13, 3093–3101.
- Read, D.J., Perez-Moreno, J., 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems—a journey towards relevance? *New Phytol.* 157, 475–492.
- Redman, R.S., Dunigan, D.D., Rodriguez, R.J., 2001. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader? *New Phytol.* 151, 705–716.
- Rillig, M.C., 2004a. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Can. J. Soil Sci.* 84, 355–363. <https://doi.org/10.4141/S04-003>
- Rillig, M.C., 2004b. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecol. Lett.* 7, 740–754. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00620.x>
- Rillig, M.C., Aguilar-Trigueros, C.A., Camenzind, T., Cavagnaro, T.R., Degrune, F., Hohmann, P., Lammel, D.R., Mansour, I., Roy, J., van der Heijden, M.G.A., 2019. Why farmers should manage the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 222, 1171–1175.
- Rillig, M.C., Mummey, D.L., 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol.* 171, 41–53.
- Rillig, M.C., Wendt, S., Antonovics, J., Hempel, S., Kohler, J., Wehner, J., Caruso, T., 2014. Interactive effects of root endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi on an experimental plant community. *Oecologia* 174, 263–270.
- Ritz, K., Black, H.I.J., Campbell, C.D., Harris, J.A., Wood, C., 2009. Selecting biological indicators for monitoring soils: a framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development. *Ecol. Indic.* 9, 1212–1221.
- Rivero, J., Álvarez, D., Flors, V., Azcón-Aguilar, C., Pozo, M.J., 2018. Root metabolic plasticity underlies functional diversity in mycorrhiza-enhanced stress tolerance in tomato. *New Phytol.* 220, 1322–1336.
- Rivero, R.M., Shulaev, V., Blumwald, E., 2009. Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit. *Plant Physiol.* 150, 1530–1540. <https://doi.org/10.1104/pp.109.139378>
- Rodríguez-Gamir, J., Primo-Millo, E., Forner, J.B., Forner-Giner, M.A., 2010. Citrus rootstock responses to water stress. *Sci. Hortic.* 126, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.06.015>
- Rodriguez, A., Sanders, I.R., 2015. The role of community and population ecology in applying mycorrhizal fungi for improved food security. *ISME J.* 9, 1053–1061. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.207>
- Rodriguez, R., Durán, P., 2020. Natural holobiome engineering by using native extreme microbiome to counteract the climate change effects. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8:568.

- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F., 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 4: e2584.
- Rouphael, Y., Spíchal, L., Panzarová, K., Casa, R., Colla, G., 2018. High-throughput plant phenotyping for developing novel biostimulants: from lab to field or from field to lab? *Front. Plant Sci.* 9, 1197.
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N., 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* 4, 1340–1351.
- Rubin, R.L., van Groenigen, K.J., Hungate, B.A., 2017. Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. *Plant Soil* 416, 309–323.
- Ruiz-Lozano, J.M., Aroca, R., Zamarreño, Á.M., Molina, S., Andreo-Jiménez, B., Porcel, R., García-Mina, J.M., Ruyter-Spira, C., López-Ráez, J.A., 2016. Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant Cell Environ.* 39, 441–452. <https://doi.org/10.1111/pce.12631>
- Ruiz-Lozano, J.M., Azcon, R., Gomez, M., 1995. Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: Physiological and nutritional plant responses. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 456–460.
- Ruiz-Lozano, J.M., Del Mar Alguacil, M., Bárzana, G., Vernieri, P., Aroca, R., 2009. Exogenous ABA accentuates the differences in root hydraulic properties between mycorrhizal and non mycorrhizal maize plants through regulation of PIP aquaporins. *Plant Mol. Biol.* 70, 565–579. <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9492-z>
- Ruiz-Lozano, J.M., Porcel, R., Aroca, R., 2006. Does the enhanced tolerance of arbuscular mycorrhizal plants to water deficit involve modulation of drought-induced plant genes? *New Phytol.* 171, 693–698. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01841.x>
- Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., de Salamone, I.E.G., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J.M., Azcón, R., 2011. Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *J. Plant Physiol.* 168, 1031–1037.
- Ruyter-Spira, C., Al-Babili, S., van der Krol, S., Bouwmeester, H., 2013. The biology of strigolactones. *Trends Plant Sci.* 18, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.10.003>
- Saia, S., Amato, G., Frenda, A.S., Giambalvo, D., Ruisi, P., 2014. Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass production and nitrogen fixation of berseem clover plants subjected to water stress. *PLoS One* 9, e90738. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090738>
- Sakurai, J., Ishikawa, F., Yamaguchi, T., Uemura, M., Maeshima, M., 2005. Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function. *Plant Cell Physiol.* 46, 1568–1577. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci172>
- Sánchez-Castro, I., Ferrol, N., Barea, J.M., 2012. Analyzing the community composition of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the roots of representative shrubland species in a Mediterranean ecosystem. *J. Arid Environ.* 80, 1–9.

- Sánchez-Díaz, M., Honrubia, M., 1994. Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants, in: *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhäuser Basel, pp. 167–178. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8504-1\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8504-1_13)
- Sánchez-Romera, B., Calvo-Polanco, M., Ruíz-Lozano, A., Zamarreño, A., Arbona, V., García-Mina, J., Gomez-Cadenas, A., Aroca, R., 2018. Involvement of the *def-1* Mutation in the Response of Tomato Plants to Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Under Well-Watered and Drought Conditions. *Plant Cell Physiol.* 59, 248–261.
- Sbay, H., 2008. *Le Caroubier au Maroc: un arbre d'avenir*. Collection Maroc Nature, Morocco: Centre de Recherche Forestière.
- Schachtman, D.P., Goodger, J.Q.D., 2008. Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends Plant Sci.* 13, 281–287. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.04.003>
- Schlöter, M., Nannipieri, P., Sørensen, S.J., van Elsas, J.D., 2017. Microbial indicators for soil quality. *Biol. Fertil. Soils* 54, 1–10.
- Schneider, S., Turetschek, R., Wedeking, R., Wimmer, M.A., Wienkoop, S., 2019. A Protein-Linger Strategy Keeps the Plant On-Hold After Rehydration of Drought-Stressed *Beta vulgaris*. *Front. Plant Sci.* 10, 381. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00381>
- Schüßler, A., Walker, C., 2010. The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. *R. Bot. Gard. Kew, Bot. Staatssammlung Munich, Oregon State Univ.* 19.
- Sendek, A., Karakoç, C., Wagg, C., Domínguez-Begines, J., do Couto, G.M., van der Heijden, M.G.A., Naz, A.A., Lochner, A., Chatzinotas, A., Klotz, S., 2019. Drought modulates interactions between arbuscular mycorrhizal fungal diversity and barley genotype diversity. *Sci. Rep.* 9, 1–15.
- Sessitsch, A., Pfaffenbichler, N., Mitter, B., 2019. Microbiome applications from lab to field: Facing complexity. *Trends Plant Sci.* 24, 194–198.
- Shade, A., Jacques, M.-A., Barret, M., 2017. Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Curr. Opin. Microbiol.* 37, 15–22.
- Shanahan, J.F., Edwards, I.B., Quick, J.S., Fenwick, J.R., 1990. Membrane thermostability and heat tolerance of spring wheat. *Crop Sci.* 30, 247–251.
- Sieverding, E., Toro T., S., 1988. Influence of soil water regimes on VA Mycorrhiza: V. Performance of different VAM Fungal species with cassava. *J. Agron. Crop Sci.* 161, 322–332. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1988.tb00676.x>
- Smith, S.E., Read, D.J., 2009. *Mycorrhizal symbiosis*. third ed., Repr. ed. Elsevier/Acad. Press, Amsterdam.
- Sofó, A., Palese, A.M., Casacchia, T., Dichio, B., Xiloyannis, C., 2012. Sustainable fruit production in Mediterranean orchards subjected to drought stress, in: *Abiotic Stress Responses in Plants*. Springer, pp. 105–129.
- Sohrabi, Y., Heidari, G., Weisany, W., Ghasemi-Golezani, K., Mohammadi, K., 2012. Some physiological responses of chickpea cultivars to arbuscular mycorrhiza under drought stress. *Russ. J. plant Physiol.* 59, 708–716.

- Spor, A., Roucou, A., Mounier, A., Bru, D., Breuil, M.-C., Fort, F., Vile, D., Roumet, P., Philippot, L., Violle, C., 2020. Domestication-driven changes in plant traits associated with changes in the assembly of the rhizosphere microbiota in tetraploid wheat. *Sci. Rep.* 10, 1–12.
- Stavrou, I.J., Christou, A., Kapnissi-Christodoulou, C.P., 2018. Polyphenols in carobs: A review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and health impact. *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.152>
- Stone, D., Ritz, K., Griffiths, B.G., Orgiazzi, A., Creamer, R.E., 2016. Selection of biological indicators appropriate for European soil monitoring. *Appl. Soil Ecol.* 97, 12–22.
- Subramanian, K.S., Santhanakrishnan, P., Balasubramanian, P., 2006. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Sci. Hortic.* 107, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.07.006>
- Sun, X., Shi, J., Ding, G., 2017. Combined effects of arbuscular mycorrhiza and drought stress on plant growth and mortality of forage sorghum. *Appl. Soil Ecol.* 119, 384–391.
- Suzuki, N., Rivero, R.M., Shulaev, V., Blumwald, E., Mittler, R., 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytol.* 203, 32–43.
- Svenningsen, N.B., Watts-Williams, S.J., Joner, E.J., Battini, F., Efthymiou, A., Cruz-Paredes, C., Nybroe, O., Jakobsen, I., 2018. Suppression of the activity of arbuscular mycorrhizal fungi by the soil microbiota. *ISME J.* 12, 1296–1307.
- Symanczik, S., Lehmann, M.F., Wiemken, A., Boller, T., Courty, P.E., 2018. Effects of two contrasted arbuscular mycorrhizal fungal isolates on nutrient uptake by *Sorghum bicolor* under drought. *Mycorrhiza* 28, 779–785. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0853-9>
- Talhok, S.N., Van Breugel, P., Zurayk, R., Al-Khatib, A., Estephan, J., Ghalayini, A., Debian, N., Lychaa, D., 2005. Status and prospects for the conservation of remnant semi-natural carob *Ceratonia siliqua* L. populations in Lebanon. *For. Ecol. Manage.* 206, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.10.053>
- Tedersoo, L., Bahram, M., Pöhlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N.S., Wijesundera, R., Ruiz, L.V., Vasco-Palacios, A.M., Thu, P.Q., Suija, A., Smith, M.E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., Piepenbring, M., Phosri, C., Peterson, M., Parts, K., Pärtel, K., Otsing, E., Nouhra, E., Njouonkou, A.L., Nilsson, R.H., Morgado, L.N., Mayor, J., May, T.W., Majuakim, L., Lodge, D.J., Lee, S., Larsson, K.H., Kohout, P., Hosaka, K., Hiiesalu, I., Henkel, T.W., Harend, H., Guo, L.D., Greslebin, A., Grelet, G., Geml, J., Gates, G., Dunstan, W., Dunk, C., Drenkhan, R., Dearnaley, J., De Kesel, A., Dang, T., Chen, X., Buegger, F., Brearley, F.Q., Bonito, G., Anslan, S., Abell, S., Abarenkov, K., 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science.* 346. <https://doi.org/10.1126/science.1256688>
- Tedersoo, L., Nara, K., 2010. General latitudinal gradient of biodiversity is reversed in ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.* 185, 351–354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03134.x>
- Tedersoo, L., Sánchez-Ramírez, S., Kõljalg, U., Bahram, M., Döring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M., Abarenkov, K., 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Divers.* 90, 135–159.

<https://doi.org/10.1007/s13225-018-0401-0>

- Thiébaud, S., Moatti, J.-P., 2016. The Mediterranean Region under Climate Change: A Scientific Update. IRD Editions, Marseille.
- Thomson, B.C., Tisserant, E., Plassart, P., Uroz, S., Griffiths, R.I., Hannula, S.E., Buée, M., Mougél, C., Ranjard, L., Van Veen, J.A., Martin, F., Bailey, M.J., Lemanceau, P., 2015. Soil conditions and land use intensification effects on soil microbial communities across a range of European field sites. *Soil Biol. Biochem.* 88, 403–413. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.06.012>
- Thonar, C., Frossard, E., Šmilauer, P., Jansa, J., 2014. Competition and facilitation in synthetic communities of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mol. Ecol.* 23, 733–746.
- Tian, Y.-H., Lei, Y.-B., Zheng, Y.-L., Cai, Z.-Q., 2013. Synergistic effect of colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves growth and drought tolerance of *Plukenetia volubilis* seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 35, 687–696. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1109-5>
- Torrecillas, E., Alguacil, M. del M., Roldán, A., Díaz, G., Montesinos-Navarro, A., Torres, M.P., 2014. Modularity reveals the tendency of arbuscular mycorrhizal fungi to interact differently with generalist and specialist plant species in gypsum soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 5457–5466. <https://doi.org/10.1128/AEM.01358-14>
- Trouvelot, A., Kough, J.L., Gianinazzi-Pearson, V., 1986. Estimation of VA mycorrhizal infection levels. Research for methods having a functional significance, in: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Aspects Physiologiques et Genétiques Des Mycorrhizes*, Dijon (France), 1-5 Jul 1985. /INRA.
- Tucker, S.C., 1992. The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassieae). *Am. J. Bot.* 79, 318–327.
- Turenne, C.Y., Sanche, S.E., Hoban, D.J., Karlowsky, J.A., Kabani, A.M., 1999. Rapid identification of fungi by using the ITS2 genetic region and an automated fluorescent capillary electrophoresis system. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1846–1851. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.6.1846-1851.1999>
- Turner, C N, 1979. Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants. *Stress Physiol. Crop Plants.* 343–372.
- Turrini, A., Sbrana, C., Strani, P., Pezzarossa, B., Risaliti, R., Giovannetti, M., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi of a Mediterranean island (Pianosa), within a UNESCO Biosphere Reserve. *Biol. Fert. Soils* 46, 511–520. <https://doi.org/10.1007/s00374-010-0446-z>
- Tyagi, J., Varma, A., Pudake, R.N., 2017. Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and endophyte (*Piriformospora indica*) association with finger millet (*Eleusine coracana*) under drought stress. *Eur. J. Soil Biol.* 81, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2017.05.007>
- Uroz, S., Courty, P.E., Oger, P., 2019. Plant symbionts are engineers of the plant-associated microbiome. *Trends Plant Sci.* 24, 905–916.
- van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., Straalen, N.M. Van, 2008. The unseen majority: soil



- microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 11, 296–310. [https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2007.01139.X@10.1111/\(ISSN\)1461-0248.YEAR-OF-BIODIVERSITY](https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2007.01139.X@10.1111/(ISSN)1461-0248.YEAR-OF-BIODIVERSITY)
- Vandenkoornhuysse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., Dufresne, A., 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol.* 206, 1196–1206.
- Vannier, N., Mony, C., Bittebiere, A.-K., Michon-Coudouel, S., Biget, M., Vandenkoornhuysse, P., 2018. A microorganisms' journey between plant generations. *Microbiome* 6, 1–11.
- Vannier, N., Mony, C., Bittebiere, A.-K., Theis, K.R., Rosenberg, E., Vandenkoornhuysse, P., 2019. Clonal Plants as Meta-Holobionts. *MSystems* 4, e00213-18.
- Varela-Cervero, S., Vasar, M., Davison, J., Barea, J.M., Öpik, M., Azcón-Aguilar, C., 2015. The composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities differs among the roots, spores and extraradical mycelia associated with five Mediterranean plant species. *Environ. Microbiol.* 17, 2882–2895.
- Vartanian, N., Lemée, G., 1984. La notion d'adaptation à la sécheresse. *Bull. la Société Bot. Fr. Actual. Bot.* 131, 7–15. <https://doi.org/10.1080/01811789.1984.10826628>
- Verkman, A.S., 2002. Physiological importance of aquaporin water channels. *Ann. Med.* <https://doi.org/10.1080/ann.34.3.192.200>
- Verzeaux, J., Hirel, B., Dubois, F., Lea, P.J., Tétu, T., 2017. Agricultural practices to improve nitrogen use efficiency through the use of arbuscular mycorrhizae: Basic and agronomic aspects. *Plant Sci.* 264, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.08.004>
- Viruel, J., Le Galliot, N., Pironon, S., Nieto Feliner, G., Suc, J.P., Lakhel-Mirleau, F., Juin, M., Selva, M., Bou Dagher Kharrat, M., Ouahmane, L., La Malfa, S., Diadema, K., Sanguin, H., Médail, F., Baumel, A., 2020. A strong east–west Mediterranean divergence supports a new phylogeographic history of the carob tree (*Ceratonia siliqua*, Leguminosae) and multiple domestications from native populations. *J. Biogeogr.* 47, 460–471. <https://doi.org/10.1111/jbi.13726>
- Wada, Y., Wissler, D., Eisner, S., Flörke, M., Gerten, D., Haddeland, I., Hanasaki, N., Masaki, Y., Portmann, F.T., Stacke, T., 2013. Multimodel projections and uncertainties of irrigation water demand under climate change. *Geophys. Res. Lett.* 40, 4626–4632.
- Wagg, C., Bender, S.F., Widmer, F., Van Der Heijden, M.G.A., 2014. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 5266–5270. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320054111>
- Wang, Q., Ni, J., Shah, F., Liu, W., Wang, D., Yao, Y., Hu, H., Huang, S., Hou, J., Fu, S., Wu, L., 2019. Overexpression of the stress-inducible SsMAX2 promotes drought and salt resistance via the regulation of redox homeostasis in arabidopsis. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 837. <https://doi.org/10.3390/ijms20040837>
- Wang, X., Tang, C., Severi, J., Butterly, C.R., Baldock, J.A., 2016. Rhizosphere priming effect on soil organic carbon decomposition under plant species differing in soil acidification and root exudation. *New Phytol.* 211, 864–873.
- Werner, G.D.A., Kiers, E.T., 2015. Order of arrival structures arbuscular mycorrhizal colonization of plants. *New Phytol.* 205, 1515–1524.

- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protoc.* Elsevier, pp. 315–322.
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: elegant graphics for data analysis.* R ggplot2 package version 3.0.0. Springer.
- Wickham, H., 2009. *ggplot2: elegant graphics for data analysis.*
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., D’L., McGowan, A., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Lin Pedersen, T., Miller, E., Bache, S.M., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D.P., Spinu, V., Takahashi, K., Vaughan, D., Wilke, C., Woo, K., Yutani, H., 2019a. Welcome to the Tidyverse. *J. Open Source Softw.* 4 (43), 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., 2019b. Welcome to the Tidyverse. *J. Open Source Softw.* 4 (43), 1686.
- Williams, A., Manoharan, L., Rosenstock, N.P., Olsson, P.A., Hedlund, K., 2017. Long-term agricultural fertilization alters arbuscular mycorrhizal fungal community composition and barley (*Hordeum vulgare*) mycorrhizal carbon and phosphorus exchange. *New Phytol.* 213, 874–885.
- Wu, Q.-S., Xia, R.-X., Zou, Y.-N., 2006. Reactive oxygen metabolism in mycorrhizal and non-mycorrhizal citrus (*Poncirus trifoliata*) seedlings subjected to water stress. *J. Plant Physiol.* 163, 1101–1110.
- Wu, Q.-S., Zou, Y.-N., Xia, R.-X., Wang, M.-Y., 2007. Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. *Bot Stud* 48, 147–154.
- Wu, Q., Xia, R., 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on leaf solutes and root absorption areas of trifoliolate orange seedlings under water stress conditions. *Front. For. China* 1, 312–317. <https://doi.org/10.1007/s11461-006-0035-3>
- Wu, Q.S., Zou, Y.N., Xia, R.X., 2006. Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. *Eur. J. Soil Biol.* 42, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2005.12.006>
- Xie, W., Hao, Z., Zhou, X., Jiang, X., Xu, L., Wu, S., Zhao, A., Zhang, X., Chen, B., 2018. Arbuscular mycorrhiza facilitates the accumulation of glycyrrhizin and liquiritin in *Glycyrrhiza uralensis* under drought stress. *Mycorrhiza* 28, 285–300. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0827-y>
- Xiloyannis, C., Montanaro, G., Dichio, B., 2012. Irrigation in Mediterranean fruit tree orchards, Irrigation systems and practices in challenging environments. InTech.
- Xiong, C., Zhu, Y., Wang, J., Singh, B., Han, L., Shen, J., Li, P., Wang, G., Wu, C., Ge, A., 2020. Host selection shapes crop microbiome assembly and network complexity. *New Phytol.*
- Xu, H., Cooke, J.E.K., Zwiazek, J.J., 2013. Phylogenetic analysis of fungal aquaporins provides insight into their possible role in water transport of mycorrhizal associations. *Botany* 91, 495–504. <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0041>

- Xu, L., Li, T., Wu, Z., Feng, H., Yu, M., Zhang, X., Chen, B., 2018. Arbuscular mycorrhiza enhances drought tolerance of tomato plants by regulating the 14-3-3 genes in the ABA signaling pathway. *Appl. Soil Ecol.* 125, 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.01.012>
- Yıldırım, K., Kaya, Z., 2017. Gene regulation network behind drought escape, avoidance and tolerance strategies in black poplar (*Populus nigra* L.). *Plant Physiol. Biochem.* 115, 183–199.
- Yooyongwech, S., Samphumphuang, T., Tisarum, R., Theerawitaya, C., Cha-um, S., 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved water deficit tolerance in two different sweet potato genotypes involves osmotic adjustments via soluble sugar and free proline. *Sci. Hortic.* 198, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.002>
- Yu, H., Jiang, W., 2009. Effect of shear flow on the formation of ring-shaped aba amphiphilic triblock copolymer micelles. *Macromolecules* 42, 3399–3404. <https://doi.org/10.1021/ma900107r>
- Yuan, G., Luo, Y., Sun, X., Tang, D., 2004. Evaluation of a crop water stress index for detecting water stress in winter wheat in the North China Plain. *Agric. Water Manag.* 64, 29–40. [https://doi.org/10.1016/S0378-3774\(03\)00193-8](https://doi.org/10.1016/S0378-3774(03)00193-8)
- Zardak, S., Dehnavi, M., Salehi, A., Gholamhoseini, M., 2017. Responses of field grown fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) to different mycorrhiza species under varying intensities of drought stress. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 5, 16–25.
- Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouahmane, A., Ouahmane, L., Duponnois, R., Boumezzough, A., 2016. Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica* G. *Comptes Rendus - Biol.* 339, 185–196. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2016.04.009>
- Zeppel, M.J.B., Macinnis-Ng, C.M.O., Yunusa, I.A.M., Whitley, R.J., Eamus, D., 2008. Long term trends of stand transpiration in a remnant forest during wet and dry years. *J. Hydrol.* 349, 200–213.
- Zhang, F., Zou, Y.N., Wu, Q.S., 2018. Quantitative estimation of water uptake by mycorrhizal extraradical hyphae in citrus under drought stress. *Sci. Hortic.* 229, 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.038>
- Zhang, T., Hu, Y., Zhang, K., Tian, C., Guo, J., 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of *Ricinus communis* by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress. *Ind. Crops Prod.* 117, 13–19.
- Zhang, Y., Lv, S., Wang, G., 2018. Strigolactones are common regulators in induction of stomatal closure in planta. *Plant Signal. Behav.* 13. <https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1444322>
- Zhang, Y., Yao, Q., Li, J., Wang, Y., Liu, X., Hu, Y., Chen, J., 2015. Contributions of an arbuscular mycorrhizal fungus to growth and physiology of loquat (*Eriobotrya japonica*) plants subjected to drought stress. *Mycol. Prog.* 14, 84–94. <https://doi.org/10.1007/s11557-015-1108-1>
- Zhang, Z., Zhang, J., Huang, Y., 2014. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the drought tolerance of *Cyclobalanopsis glauca* seedlings under greenhouse conditions. *New For.* 45,



545–556. <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9417-9>

- Zhang, Z., Zhang, J., Xu, G., Zhou, L., Li, Y., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and drought tolerance of *Zenia insignis* seedlings under drought stress. *New For.* 49, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9681-1>
- Zhao, R., Guo, W., Bi, N., Guo, J., Wang, L., Zhao, J., Zhang, J., 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi affect the growth, nutrient uptake and water status of maize (*Zea mays* L.) grown in two types of coal mine spoils under drought stress. *Appl. Soil Ecol.* 88, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.11.016>
- Zhu, X.C., Song, F.B., Liu, S.Q., Liu, T.D., Zhou, X., 2012. Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant, Soil Environ.* 58, 186–191.
- Zohary, D., 2002. Domestication of the carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Isr. J. Plant Sci.* 50, 141–145.
- Zohary, M., 1973. *Geobotanical foundations of the Middle East*. Fischer.
- Zou, Y., Wang, P., Liu, C., Ni, Q., Zhang, D., Reports, Q.W.-S., 2017, U., 2017. Mycorrhizal trifoliolate orange has greater root adaptation of morphology and phytohormones in response to drought stress. *Sci. Rep.* 7, 41134.

## **Annexe**

L'annexe correspond aux tableaux et figures indiqués comme "matériel supplémentaire" dans les chapitres II et III.

Les figures et tableaux dans la légende commençant par II correspondent aux chapitres II et les figures et tableaux commençant par III correspondent aux chapitres III.

# Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)

## Description

Le caroubier (*Ceratonia siliqua*) (**Figure I.S1**), est une espèce appartenant à la sous-famille des *Caesalpinioideae*, de la famille des *Fabaceae* (Légumineuses). Le genre *Ceratonia* est composé de deux espèces ; la seconde espèce étant *Ceratonia oreothauma* Hill., présente dans la péninsule Arabique et corne de l'Afrique. Certains auteurs ont désigné *Ceratonia* comme étant l'un des genres les plus archaïques des légumineuses (Tucker, 1992), isolé des autres genres de sa famille (Zohary, 1973). Des travaux récents de phylogénétique comparative montrent que c'est une lignée isolée à la base du clade des *Caesalpinioideae* avec *Acrocarpus farxinifolius* comme plus proche parent (Azani et al., 2017). La divergence entre *Acrocarpus* et *Ceratonia* se serait produit il y a 22 millions d'années, alors que celle entre les deux espèces de *Ceratonia* *C. siliqua* et *C. oreothauma*, est estimé à 6 millions d'années (Viruel et al., 2020).



**Figure I.S1.** Caroubier multi-centenaire dans une parcelle agricole (Ragusa, Sicile).

Le caroubier se développe comme arbuste ou arbre à feuilles persistantes, et atteint une longévité de plusieurs siècles. Sa taille est généralement de 8 à 17 m de hauteur, avec des troncs de 85 cm de diamètre. Il est caractérisé par une croissance très lente les premières années et un système racinaire puissant avec une racine pivotante pouvant atteindre 20 m de profondeur.

### Aire de répartition

Le centre d'origine du caroubier est demeuré longtemps incertain. D'un côté c'est un arbre assez commun de la végétation pré-forestière et forestière thermophile méditerranéenne, ce qui soutient son indigénat à l'échelle méditerranéenne. D'un autre côté, l'importance du caroubier dans les observations archéologiques de l'antiquité, ainsi que la découverte de *Ceratonia oreothauma* Hillc. dans les montagnes de l'Arabie (Oman) et de la Somalie (Hillcoat et al., 1980) ont conduit à l'hypothèse d'un centre d'origine orientale du caroubier, probablement sur la péninsule Arabique. Selon cette dernière hypothèse, la dissémination de l'espèce dans le bassin méditerranéen aurait été réalisée par les agriculteurs de l'antiquité et du moyen Âge. Cette hypothèse a été réfutée par Viruel et al. (2020), démontrant qu'à l'échelle méditerranéenne la divergence génétique des populations de caroubier est incompatible avec l'hypothèse d'une diffusion récente depuis la rive orientale de la Méditerranée. Les résultats soulignent que dans l'histoire du caroubier, le Sud du Maroc a été très probablement un refuge majeur (Viruel et al., 2020).



**Figure I.S2.** Aire de répartition du caroubier (adapté d'après Quézel and Médail, 2003).

Le caroubier est aujourd'hui répandu dans tout le bassin méditerranéen (**Figure I.S2**). On le rencontre principalement en Espagne, Portugal, Maroc, Grèce, Italie, Turquie, Liban, Algérie, Tunisie, Égypte, et Chypre. Ces dernières années, le caroubier a été également introduit dans plusieurs pays hors du bassin Méditerranéen, et on peut le retrouver en Amérique du Nord (Californie) ou en Australie par exemple. Au Maroc, il est localisé en association avec l'olivier, le lentisque, le thuya ou l'arganier (Baumel et al., 2018), dans les plaines et les moyennes montagnes du Rif, du Moyen Atlas, du Haut Atlas et de l'Anti-Atlas.

### **Importance économique et commercialisation**

Le caroubier est un arbre d'importance socio-économique, industrielle et ornementale indiscutable. Il est représentatif des systèmes agro-sylvo-pastorales, largement exploité et domestiqué depuis l'antiquité pour l'alimentation humaine et animale (Baumel et al., 2018). En termes de produits, l'arbre et toutes ses composantes (feuilles, fleurs, fruits, graines, bois, écorce et racine) sont utiles et utilisables en industrie alimentaire (additif naturel E410 dans les crèmes glacées, mayonnaises, sauces, produits de boulangerie, etc.), ou non alimentaires (industries pharmaceutiques, cosmétique, photographie, béton, explosifs, peinture, encre, cirage, textiles et du papier, produits antidiarrhéiques, etc.). Il est considéré comme une source de revenus stables dont la valeur dépasse de loin celle de la production ligneuse. Comparé aux céréales et à d'autres espèces fruitières, le caroubier est économiquement plus rentable sur certains terrains dits marginaux car difficile à cultiver. La production mondiale de caroube (fruit du caroubier) est estimée à 145.000 tonnes (FAO, 2018), et est principalement localisé dans quelques pays européens du pourtour Méditerranéen (Espagne, Italie, Portugal, Grèce et Chypre). Au Maroc, où le caroubier occupe une grande diversité d'habitats (semi-naturel, vergers, systèmes agroforestiers traditionnels) répartie sur une grande amplitude climatique du nord au sud du pays (Baumel et al., 2018), 22 000 tonnes de caroubes sont produites, faisant du Maroc le deuxième producteur de caroube au niveau mondial (FAO, 2018).

### **Interactions avec les microorganismes du sol**

Le caroubier est largement associé et dépendant d'organismes microbiens pour sa croissance et sa survie. Le caroubier est une légumineuse, et a donc été largement considéré comme un arbre fixateur d'azote. Ce statut est notamment lié à des travaux suggérant la présence de nodosité racinaire et la présence Rhizobia dans les racines (El Idrissi et al., 1996). Cependant tous les travaux récents et observations démontrent le contraire avec l'absence de fixation et l'absence

de nodosité. Des données sont cependant disponibles concernant la diversité d'endophytes bactériens dans les racines du caroubier, mais restent encore assez sommaires (Konate et al., 2017). Par contre, le caroubier est connu pour sa forte dépendance vis-à-vis des symbioses mycorhiziennes, jouant un rôle dans sa nutrition, sa survie (Manaut et al., 2015), mais aussi dans l'amélioration de sa résistance au stress hydrique (Boutasknit et al., 2020; Essahibi et al., 2017; Jadrane et al., 2020).

**Table II.S1.** Alphadiversity characteristics of soil microbiota associated with major plant species of North and South carob habitats

Locality	Plant origin of soil microbiota	Richness (observed OTUs)	Diversity (Shannon)	Diversity (Inverse Simpson)
North Morocco	<b>Bacteria</b>			
	<i>Ceratonia siliqua</i> (Cs)	2103	6.8	243.8
	<i>Pistacia lentiscus</i> (Pl)	1869	6.4	99.8
	<i>Lavandula dentata</i> (Ld)	1891	6.4	103.6
	<i>Cistus albidus</i> (Ca)	2196	6.9	326.6
	<b>Fungi</b>			
	<i>Ceratonia siliqua</i> (Cs)	1008	5.5	91.5
	<i>Pistacia lentiscus</i> (Pl)	698	5.1	52.2
South Morocco	<i>Lavandula dentata</i> (Ld)	494	3.2	5.1
	<i>Cistus albidus</i> (Ca)	838	5.2	68.2
	<b>Bacteria</b>			
	<i>Ceratonia siliqua</i> (Cs)	2191	6.9	307.2
	<i>Pistacia lentiscus</i> (Pl)	2366	7.1	392.1
	<i>Globularia alypum</i> (Ga)	1890	6.6	205.0
	<i>Vachellia gummifera</i> (Vg)	2273	6.9	195.0
	<i>Retama monosperma</i> (Rm)	1939	6.7	204.2
	<b>Fungi</b>			
	<i>Ceratonia siliqua</i> (Cs)	827	4.4	23.4
<i>Pistacia lentiscus</i> (Pl)	507	3.8	13.0	
<i>Globularia alypum</i> (Ga)	365	3.5	13.9	
<i>Vachellia gummifera</i> (Vg)	511	3.1	5.4	
<i>Retama monosperma</i> (Rm)	575	3.5	10.6	



**Table II.S2.** Soil physico-chemical characteristics related to plant species

Locality	Soil origin <sup>(1)</sup>	Total C <sup>(2)</sup>	Total N	Total K	CaCO <sub>3</sub>	Organic C	Organic matter	C/N	pH	P Olsen	P ass	CEC	Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
North Morocco	Cs	124.64	6.06	0.955	122	110	190	18.1	7.96	0.148	0.024	36	7.41	0.991	3.99	9.95
	Pl	90	4.14	0.998	115	76.2	132	18.4	8.06	0.208	0.035	27.4	7.57	1.74	2.6	6.51
	Ld	99.58	3.75	1.04	244	70.3	122	18.7	8.23	0.064	0.007	24.6	7.11	0.632	2.65	6.84
	Ca	106.22	2.5	1.09	401	58.1	100	23.2	8.18	0.014	<0.002	17.4	7.9	1.03	3.92	3.55
South Morocco	Cs	21.76	1.84	2.13	18	19.6	33.9	10.6	8.11	0.028	0.004	15.5	5.56	0.973	3.41	2.56
	Pl	32.008	2.19	2.2	0.9	31.9	55.2	14.6	7.59	0.009	0.004	16.9	3.28	0.529	8.1	2.01
	Ga	24.66	1.89	2.63	48	18.9	32.6	9.98	8.26	0.021	0.002	11.5	6.55	1.83	7.62	2.43
	Vg	33.1	3.03	1.58	15	31.3	54.1	10.3	8.12	0.026	0.003	18.2	5.95	0.619	5.91	3.74
	Rm	30.92	2.08	2.68	76	21.8	37.7	10.5	8.17	0.071	0.006	10.9	7.09	1.49	7.39	3.83

(1) Measurement units. g / kg for Total C, Total N, CaCO<sub>3</sub>, Organic C, Organic matter, P olsen, P ass; g / 100g for Total K; cmol+/kg for CEC, Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>

(2) Vg, *Vachellia gummifera*; Ca, *Cistus albidus*; Cs, *Ceratonia siliqua*; Ga, *Globularia alypum*; Ld, *Lavandula dentata*; Pl, *Pistacia lentiscus*; Rm, *Retama monosperma*.

**Table II.S3.** Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with Moroccan carob habitats<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
9	2583	Actinobacteria	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	<i>Rubrobacter</i>	unc_bacterium
16	678	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	<i>Blastococcus</i>	uni
34	529	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	67-14	unc_bacterium	uni
15	476	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	uni	uni
99	425	Actinobacteria	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	<i>Rubrobacter</i>	unc_bacterium
2	417	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	uni	uni
77	417	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	<i>Microvirga</i>	uni
61	383	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	<i>Skermanella</i>	uni
82	382	Actinobacteria	Thermoleophilia	Gaiellales	unc	unc_bacterium	uni
64	379	Actinobacteria	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	<i>Rubrobacter</i>	Unc_Rubrobacter_sp
33	341	Actinobacteria	Thermoleophilia	Gaiellales	unc	unc_bacterium	uni
83	323	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	uni
44	310	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	Gemmatimonadaceae	unc	unc_bacterium
361	294	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	Gemmatimonadaceae	unc	unc_bacterium
36	273	Actinobacteria	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	<i>Rubrobacter</i>	uni
54	262	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	67-14	unc_bacterium	uni
29	225	Actinobacteria	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardaceae	<i>Pseudonocardia</i>	uni
1	224	Actinobacteria	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni
20	219	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Dongiales	Dongiaceae	<i>Dongia</i>	unc_bacterium
68	218	Actinobacteria	Thermoleophilia	Gaiellales	unc	unc_bacterium	uni
45	202	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	uni	uni
201	201	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	<i>Rhodoplanes</i>	Unc_Rhodoplanes_sp
10	199	Actinobacteria	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni
65	195	Acidobacteria	Acidobacteriia	Solibacterales	Solibacteraceae_	<i>Bryobacter</i>	metagenome
126	189	Actinobacteria	Thermoleophilia	Gaiellales	unc	unc_bacterium	uni
218	182	Actinobacteria	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	<i>Rubrobacter</i>	unc_bacterium

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
105	180	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	<i>Skermanella</i>	uni
48	178	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Solirubrobacteraceae	<i>Solirubrobacter</i>	unc_bacterium
238	175	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	67-14	unc_bacterium	uni
284	169	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	uni	uni	uni	uni
133	168	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	67-14	unc_bacterium	uni
309	164	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	<i>Microvirga</i>	uni
70	164	Actinobacteria	Acidimicrobiia	Microtrichales	Ilumatobacteraceae	unc	unc_bacterium
22	160	Actinobacteria	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardoidaceae	<i>Kribbella</i>	uni
212	157	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	<i>Microvirga</i>	Unc_Balneimonassp
135	152	Actinobacteria	Thermoleophilia	uni	uni	uni	uni
156	144	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	RCP2-54	unc_bacterium	uni	uni
52	138	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	<i>Actinoplanes</i>	uni
107	132	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Solirubrobacteraceae	<i>Solirubrobacter</i>	unc_bacterium
157	130	Actinobacteria	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	<i>Blastococcus</i>	unc_bacterium
163	130	Actinobacteria	Thermoleophilia	Gaiellales	unc	unc_bacterium	uni
171	128	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	uni
174	128	Actinobacteria	Acidimicrobiia	Microtrichales	unc	unc_bacterium	uni
209	128	Actinobacteria	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Crossiella</i>	unc_bacterium
3	127	Actinobacteria	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni
85	127	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	67-14	unc_bacterium	uni
197	125	Actinobacteria	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	<i>Rubrobacter</i>	unc_actinobacterium
155	123	Actinobacteria	Acidimicrobiia	Microtrichales	Ilumatobacteraceae	unc	unc_bacterium
222	123	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	uni
291	122	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	<i>Skermanella</i>	unc_bacterium

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 9242 are shown

(2) unc, uncultured. uni, unidentified

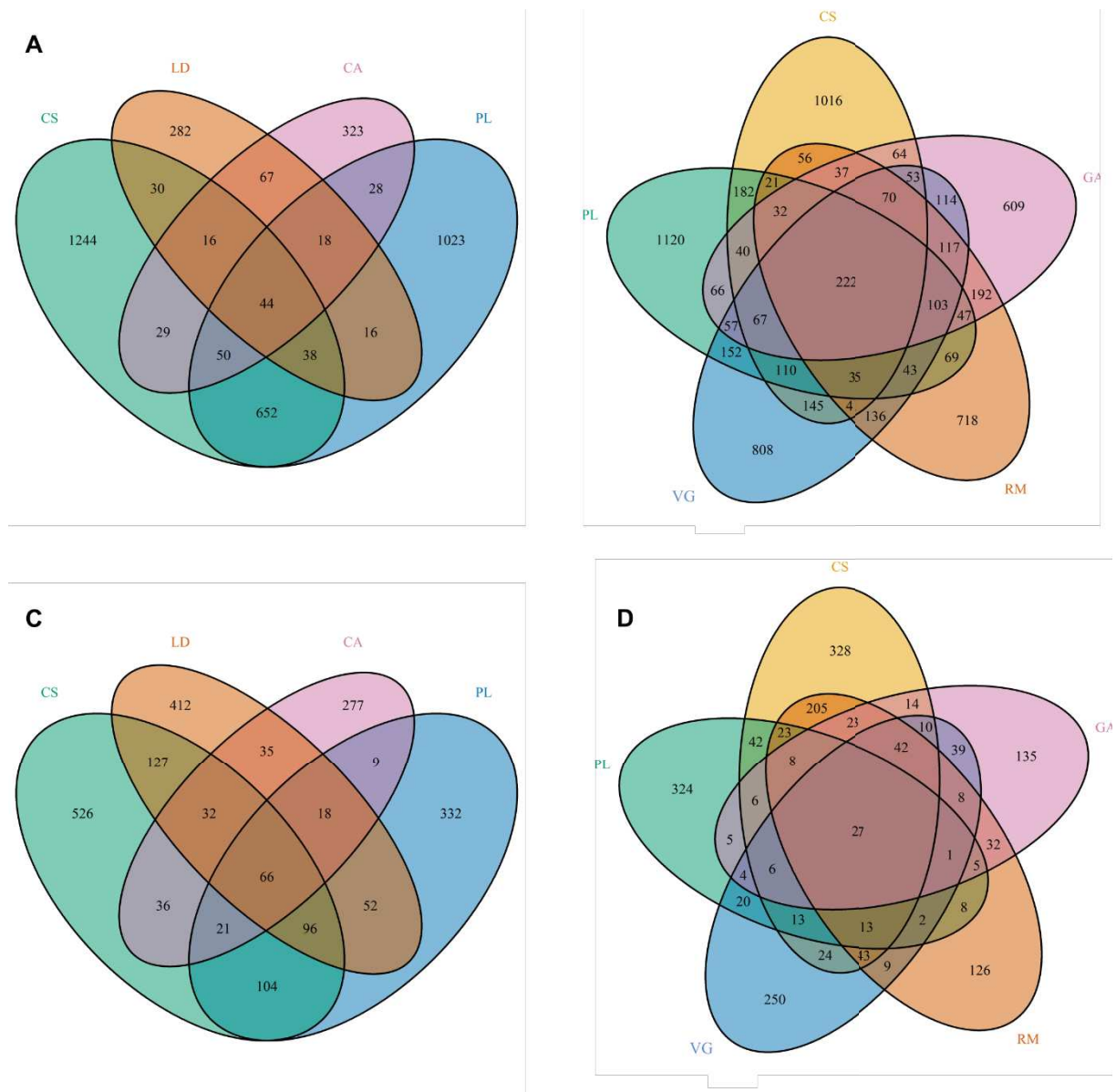
**Table II.S4.** Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with Moroccan carob habitats<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
131	4656	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Inocybaceae	<i>Inocybe</i>	<i>Inocybe arenicola</i>
361	4390	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Mycosphaerellaceae	uni	Mycosphaerellaceae sp
383	3937	Ascomycota	Dothideomycetes	uni	uni	uni	Dothideomycetes sp
9	2999	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	uni	Cladosporiaceae sp
8	2420	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	uni	Nectriaceae sp
54	2379	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Mycosphaerellaceae	uni	Mycosphaerellaceae sp
700	2082	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Mycosphaerellaceae	uni	Mycosphaerellaceae sp
96	2045	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	<i>Tetracladium</i>	<i>Tetracladium</i> sp
14	2008	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i> sp
813	1871	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Agaricaceae	<i>Lepiota</i>	<i>Lepiota cristata</i>
4	1436	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
497	1333	Ascomycota	Eurotiomycetes	Onygenales	uni	uni	Onygenales sp
37	1238	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Morosphaeriaceae	uni	Morosphaeriaceae sp
622	1226	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Entolomataceae	<i>Clitopilus</i>	<i>Clitopilus hobsonii</i>
746	1171	Ascomycota	Eurotiomycetes	Onygenales	Onygenales fam	<i>Chrysosporium</i>	<i>Chrysosporium</i> sp
11	1170	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella alpina</i>
166	1060	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni	uni	Pleosporales sp
160	681	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	<i>Didymella</i>	<i>Didymella</i> sp
58	677	uni	uni	uni	uni	uni	Fungi sp
66	657	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella alpina</i>
469	626	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Hygrophoraceae	<i>Hygrocybe</i>	<i>Hygrocybe</i> sp
44	614	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Chaetomiaceae	<i>Chaetomium</i>	<i>Chaetomium spirochaete</i>
1956	606	Basidiomycota	Agaricomycetes	Cantharellales	Ceratobasidiaceae	uni	Ceratobasidiaceae sp
55	578	Ascomycota	Dothideomycetes	uni	uni	uni	Dothideomycetes sp
593	554	Ascomycota	uni	uni	uni	uni	Ascomycota sp
1968	549	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae	<i>Efibula</i>	<i>Efibula gracilis</i>
767	530	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni	uni	Pleosporales sp
2005	524	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	uni	uni	Helotiales sp
24	497	uni	uni	uni	uni	uni	Fungi sp

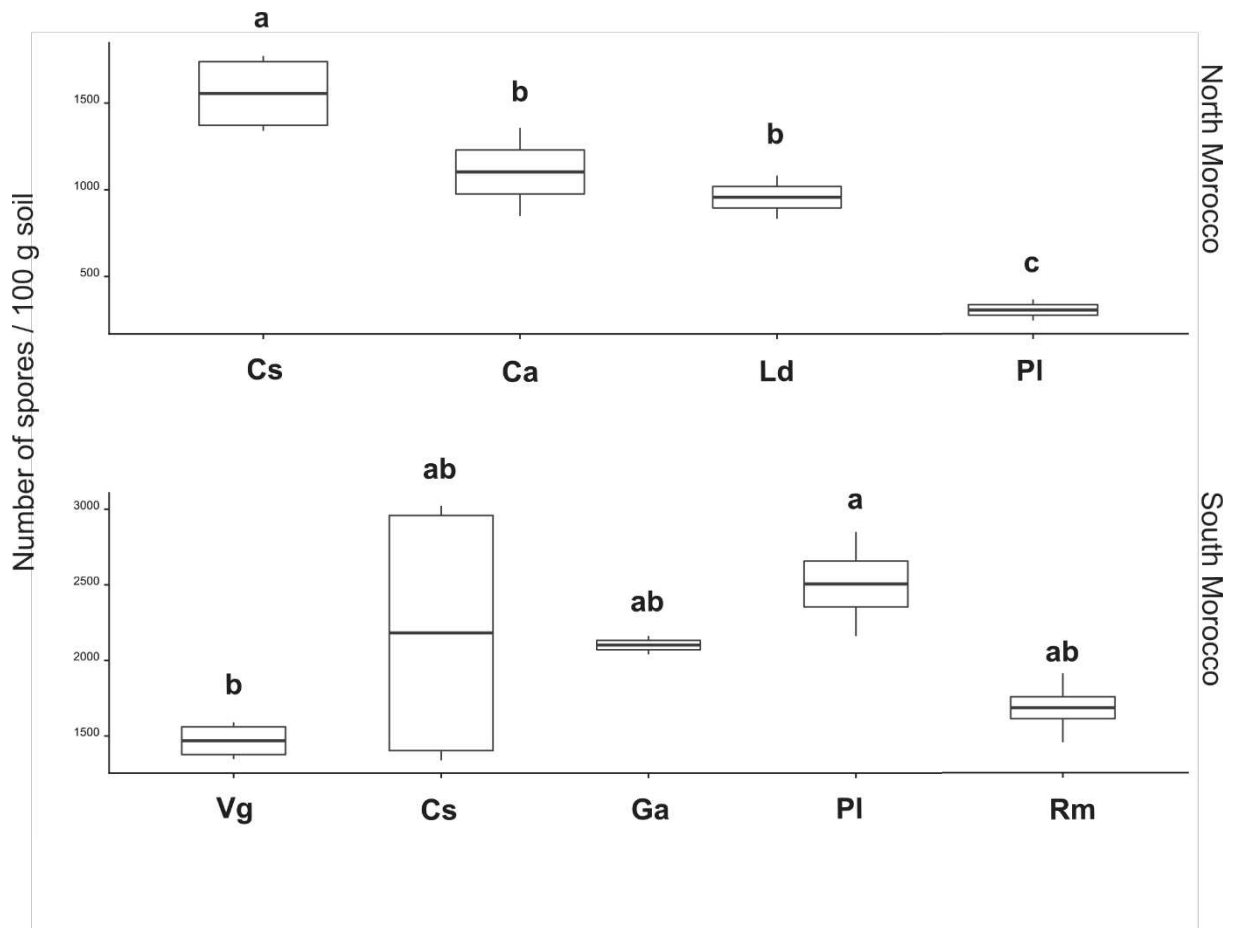
OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
74	494	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni	uni	uni
235	493	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Ophiocordycipitaceae	<i>Purpureocillium</i>	<i>Purpureocillium</i> sp
827	449	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Agaricaceae	<i>Lepiota</i>	<i>Lepiota lilacea</i>
368	446	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Pyronemataceae	<i>Geopora</i>	<i>Geopora</i> sp
48	425	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Chaetomiaceae	<i>Humicola</i>	<i>Humicola olivacea</i>
1097	390	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni	uni	Pleosporales sp
1551	390	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Chaetomiaceae	uni	Chaetomiaceae sp
678	377	Ascomycota	Sordariomycetes	Microascales	Microascaceae	<i>Cephalotrichum</i>	<i>Cephalotrichum asperulum</i>
13	373	Basidiomycota	Tremellomycetes	Filobasidiales	Piskurozymaceae	<i>Solicoccozyma</i>	<i>Solicoccozyma aerea</i>
217	372	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium aphidis</i>
1516	363	Ascomycota	Dothideomycetes	Venturiales	Venturiaceae	uni	Venturiaceae sp
2334	361	Basidiomycota	Agaricomycetes	Sebacinales	Sebacinaceae	<i>Helvellosebacina</i>	<i>Helvellosebacina</i> sp
1031	352	Ascomycota	Dothideomycetes	Botryosphaeriales	uni	uni	Botryosphaeriales sp
71	346	Ascomycota	Dothideomycetes	Dothideales	Aureobasidiaceae	<i>Aureobasidium</i>	<i>Aureobasidium namibiae</i>
653	345	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Ganodermataceae	<i>Ganoderma</i>	<i>Ganoderma adspersum</i>
2684	340	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	<i>Verrucoconiothyrium</i>	<i>Verrucoconiothyrium prosopidis</i>
2765	338	uni	uni	uni	uni	uni	Fungi sp
145	324	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	uni	uni	Hypocreales sp
1887	309	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Sporormiaceae	<i>Sporormiella</i>	<i>Sporormiella megalospora</i>
3072	306	Basidiomycota	Agaricomycetes	Geastrales	Geastraceae	<i>Geastrum</i>	<i>Geastrum parvistriatum</i>
110	301	Ascomycota	Dothideomycetes	pleosporales	Leptosphaeriaceae	<i>Plenodomus</i>	<i>Plenodomus biglobosus</i>

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 3287 are shown

(2) unc, uncultured. uni, unidentified

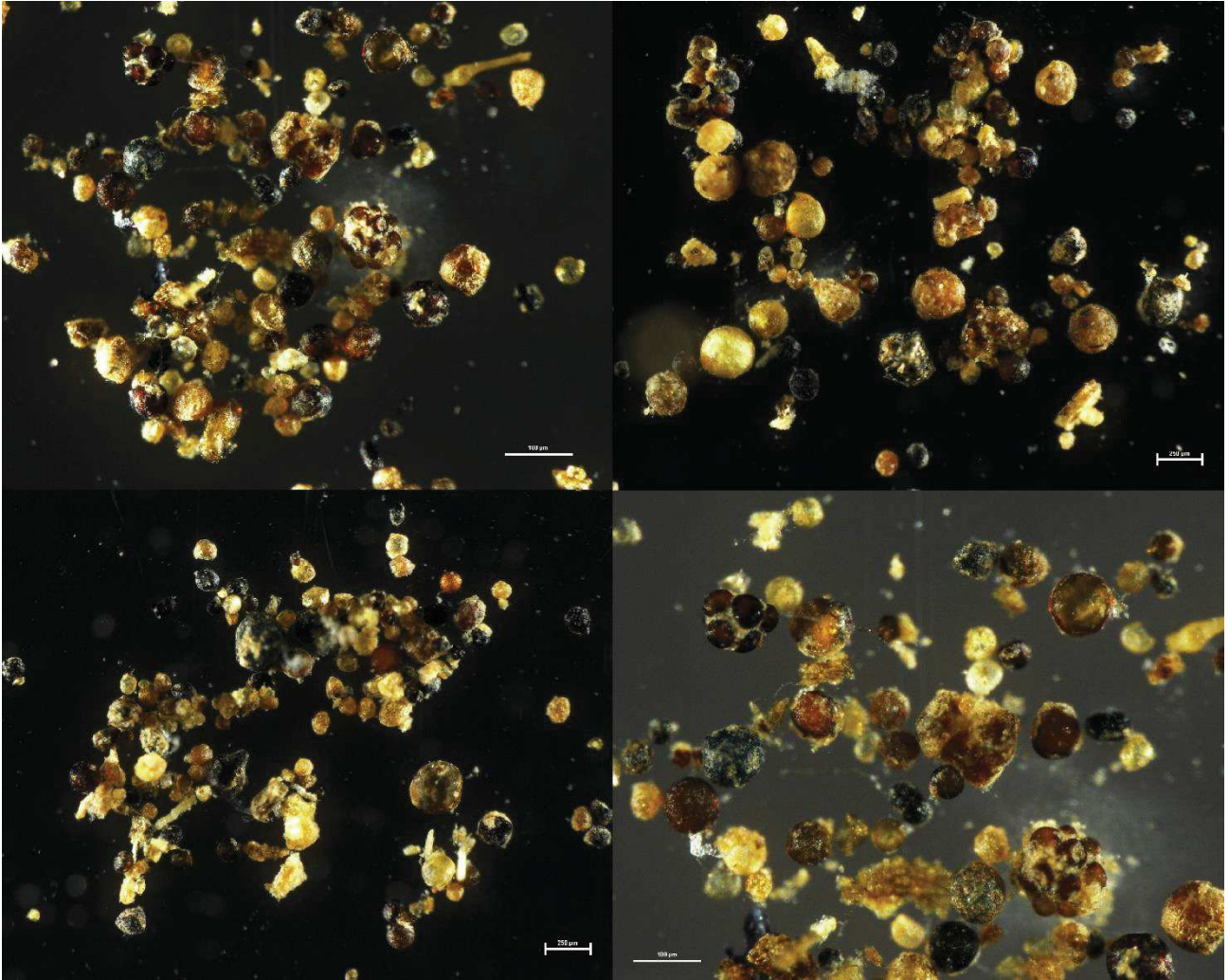


**Figure II.S1.** Comparison of (A,B) bacterial and (C,D) fungal community membership (Venn diagram analysis) among plant species from (A,C) North and (B,D) South carob habitats. For each venn category, the number of OTUs is indicated. VG, *Vachellia gummifera*; CA, *Cistus albidus*; CS, *Ceratonia siliqua*; GA, *Globularia alypum*; LD, *Lavandula dentata*; PL, *Pistacia lentiscus*; RM, *Retama monosperma*.

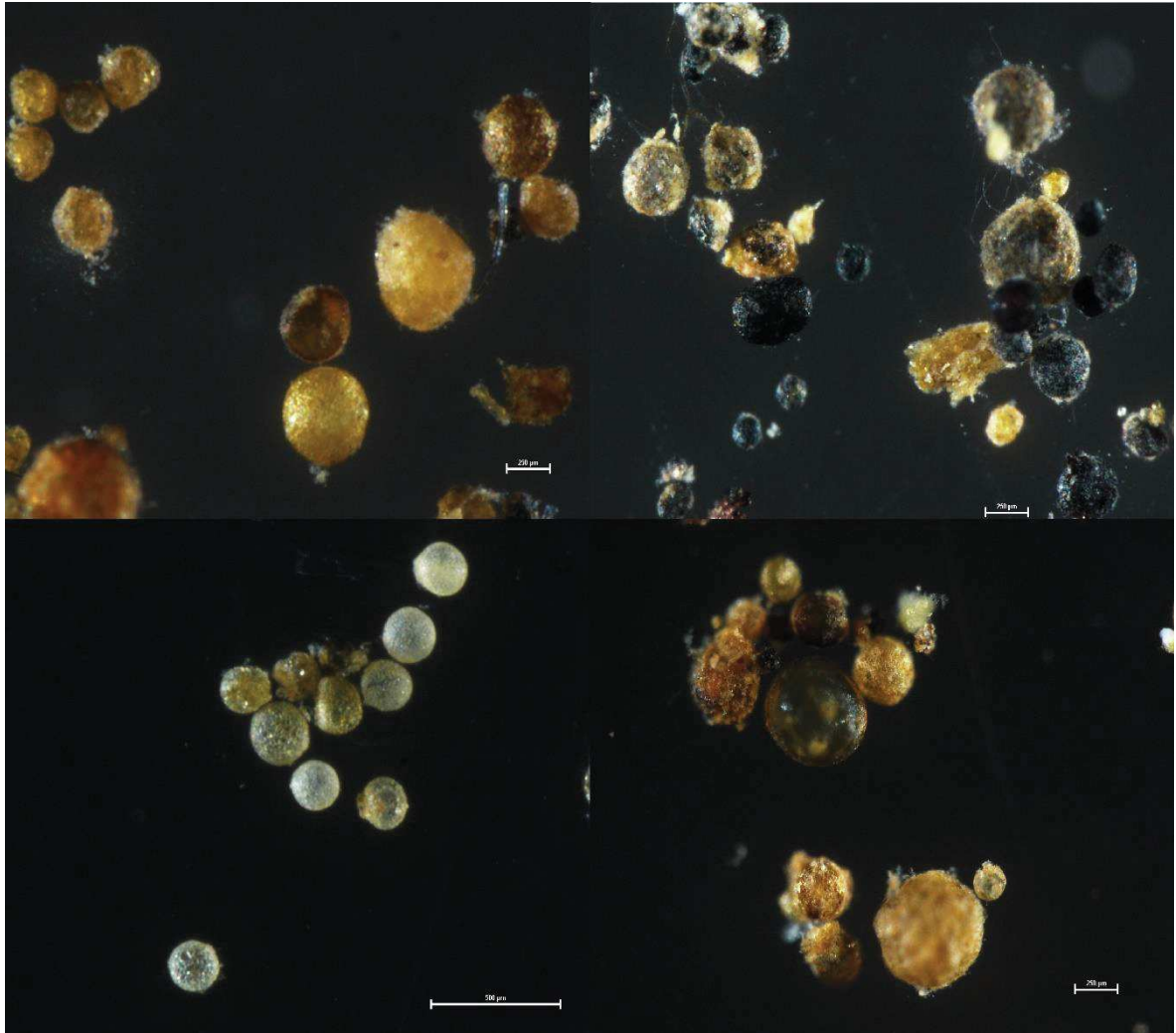


**Figure II.S2.** Mycorrhizal spore density in soils associated with plant species in North and South carob habitats. Vg, *Vachellia gummifera*; Ca, *Cistus albidus*; Cs, *Ceratonia siliqua*; Ga, *Globularia alypum*; Ld, *Lavandula dentata*; Pl, *Pistacia lentiscus*; Rm, *Retama monosperma*.

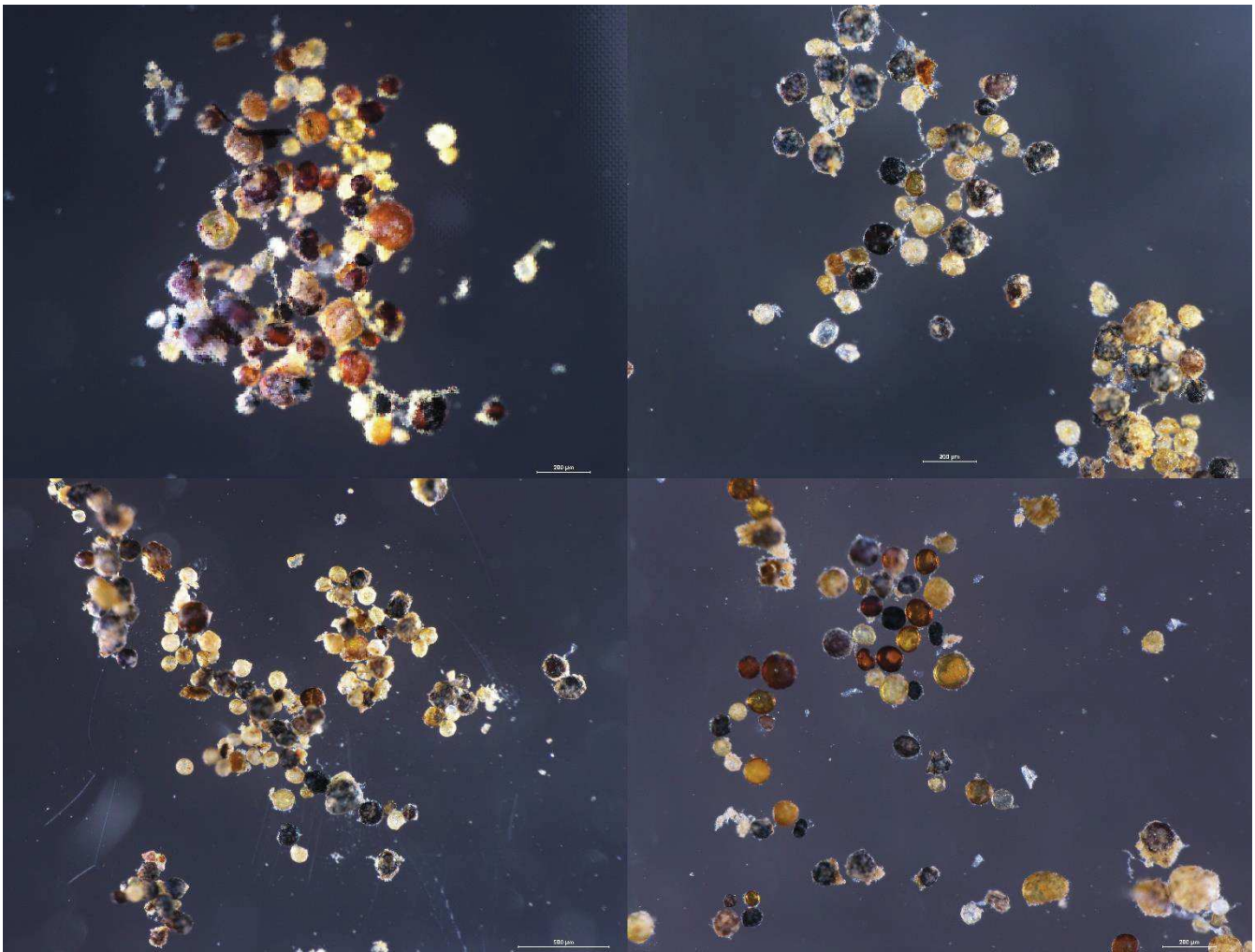




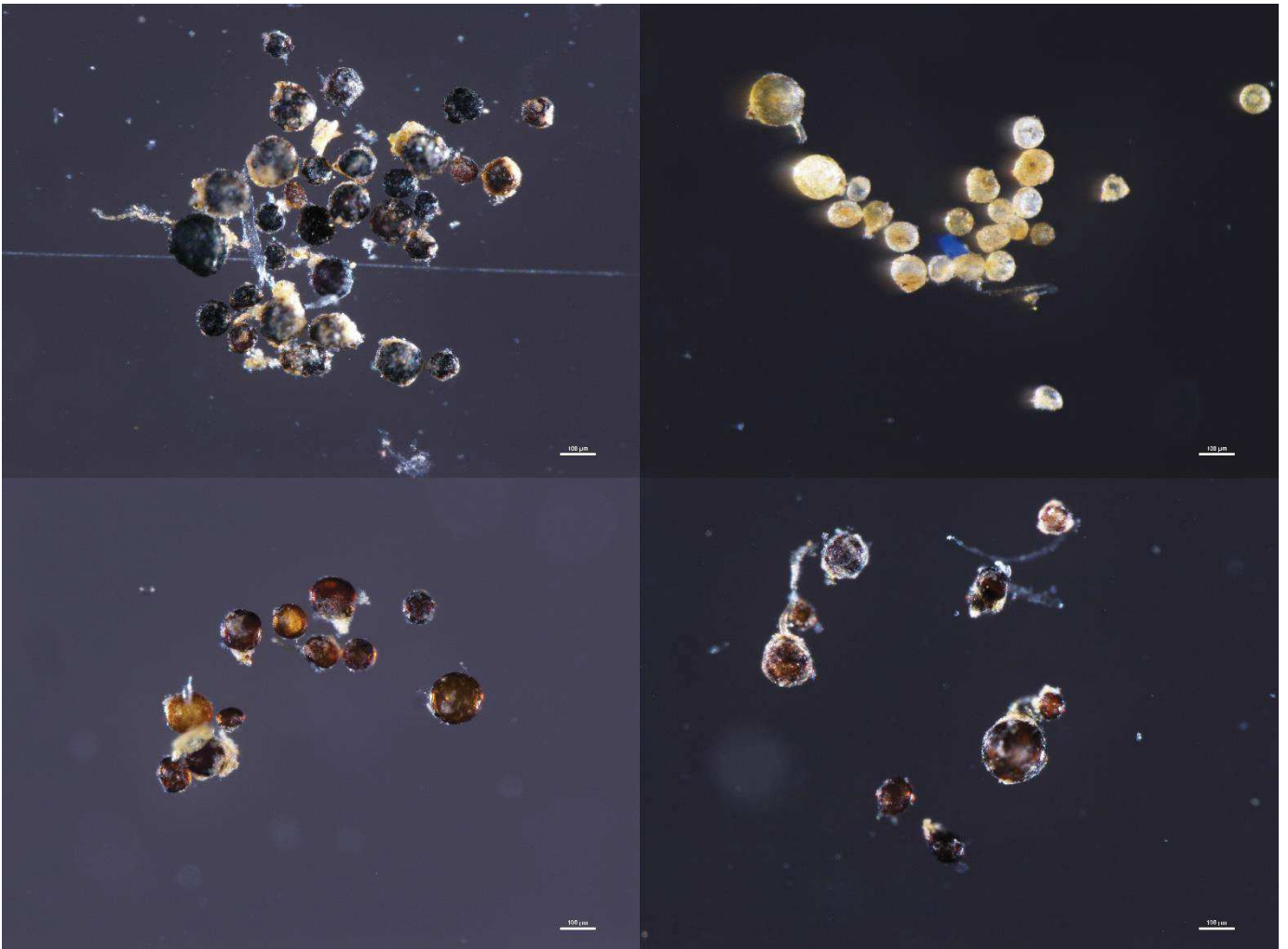
**Figure II.S3.** Endomycorrhizal species isolated from the different plant soils associated with *C. siliqua* in south and north of Morocco.



**Figure II.S4.** The dominant endomycorrhizal morphotypes isolated from the different plant soils associated with *C. siliqua* in south and north of Morocco.

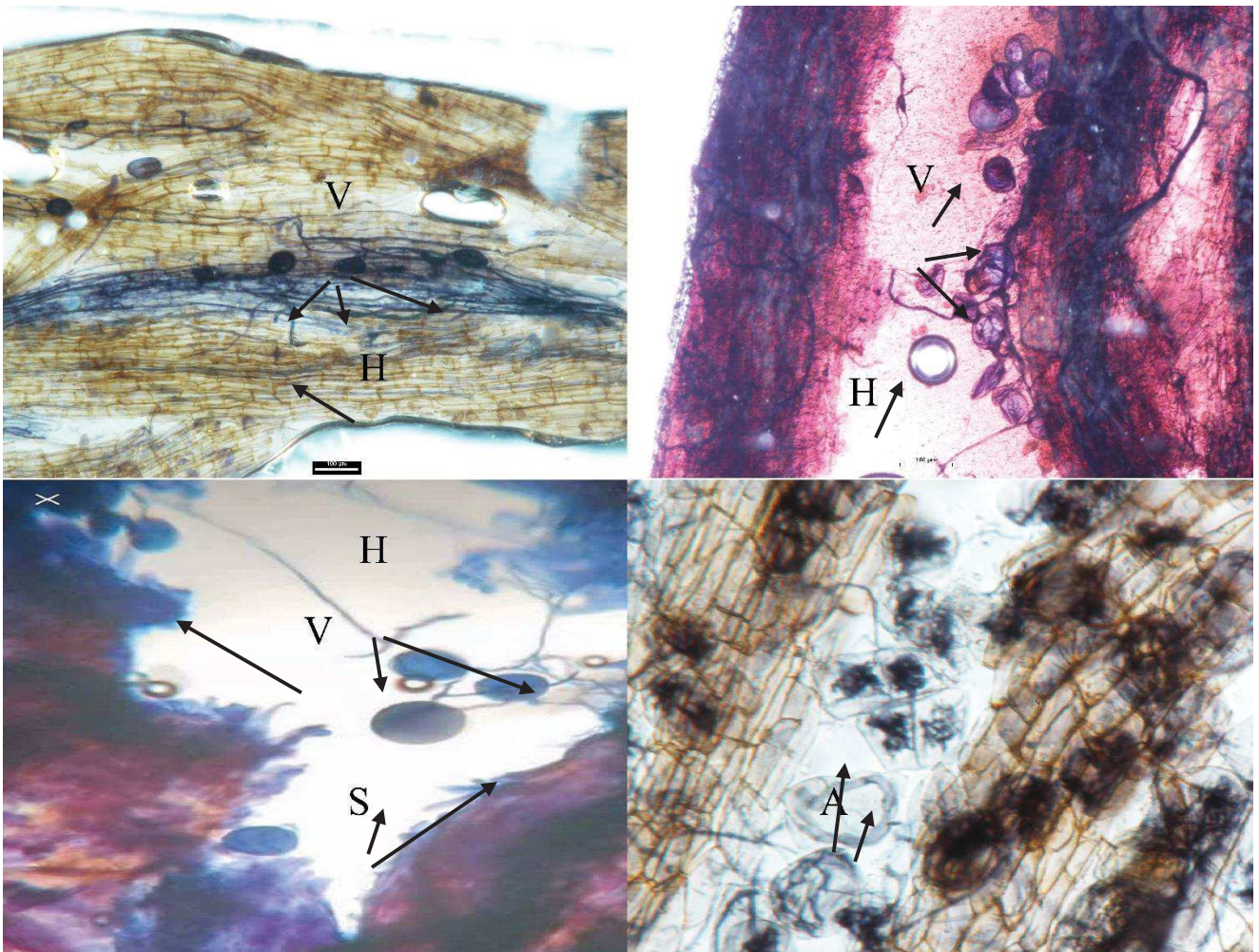


**Figure II.S5.** Endomycorrhizal species isolated from the different plant soils associated with *C. siliqua* in Ourika valley (Morocco).

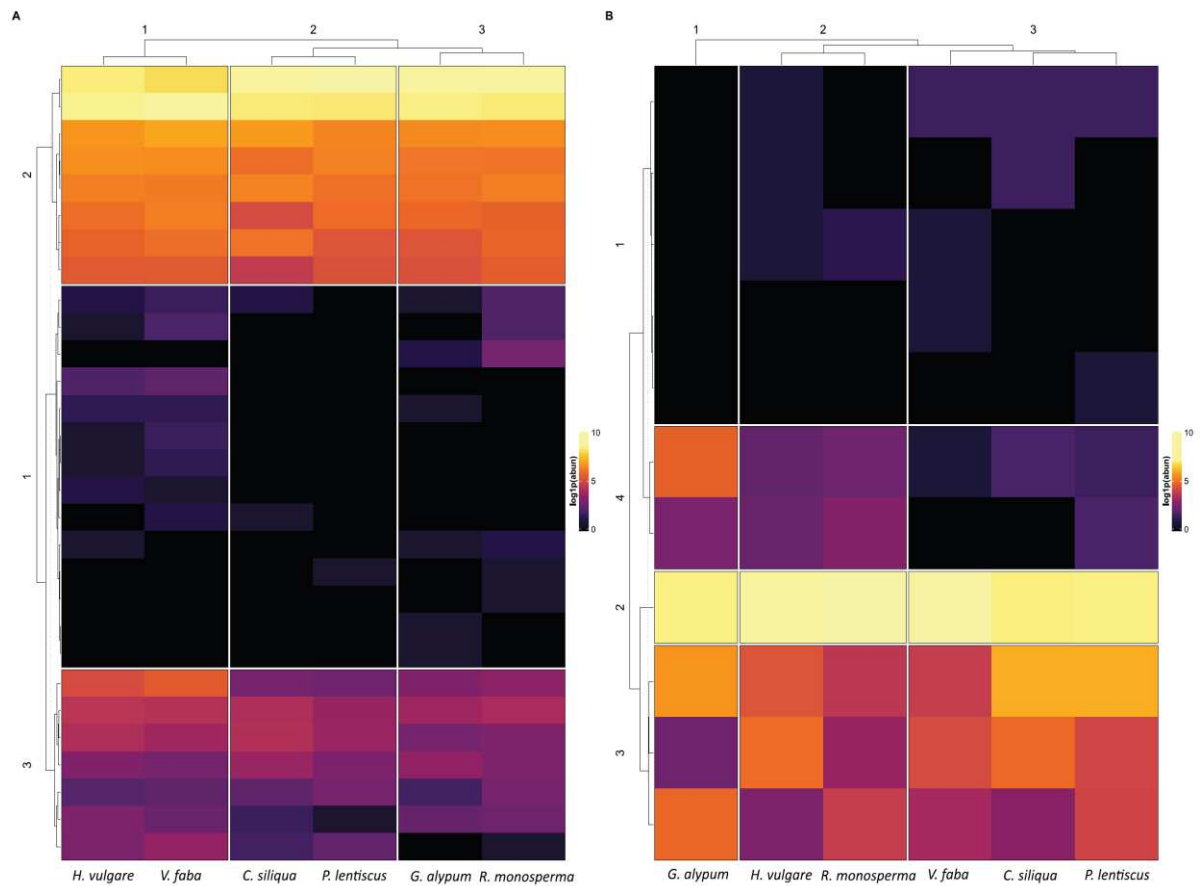


**Figure II.S6.** The dominant endomycorrhizal morphotypes isolated from the different plant soils associated with *C. siliqua* in Ourika valley (Morocco).

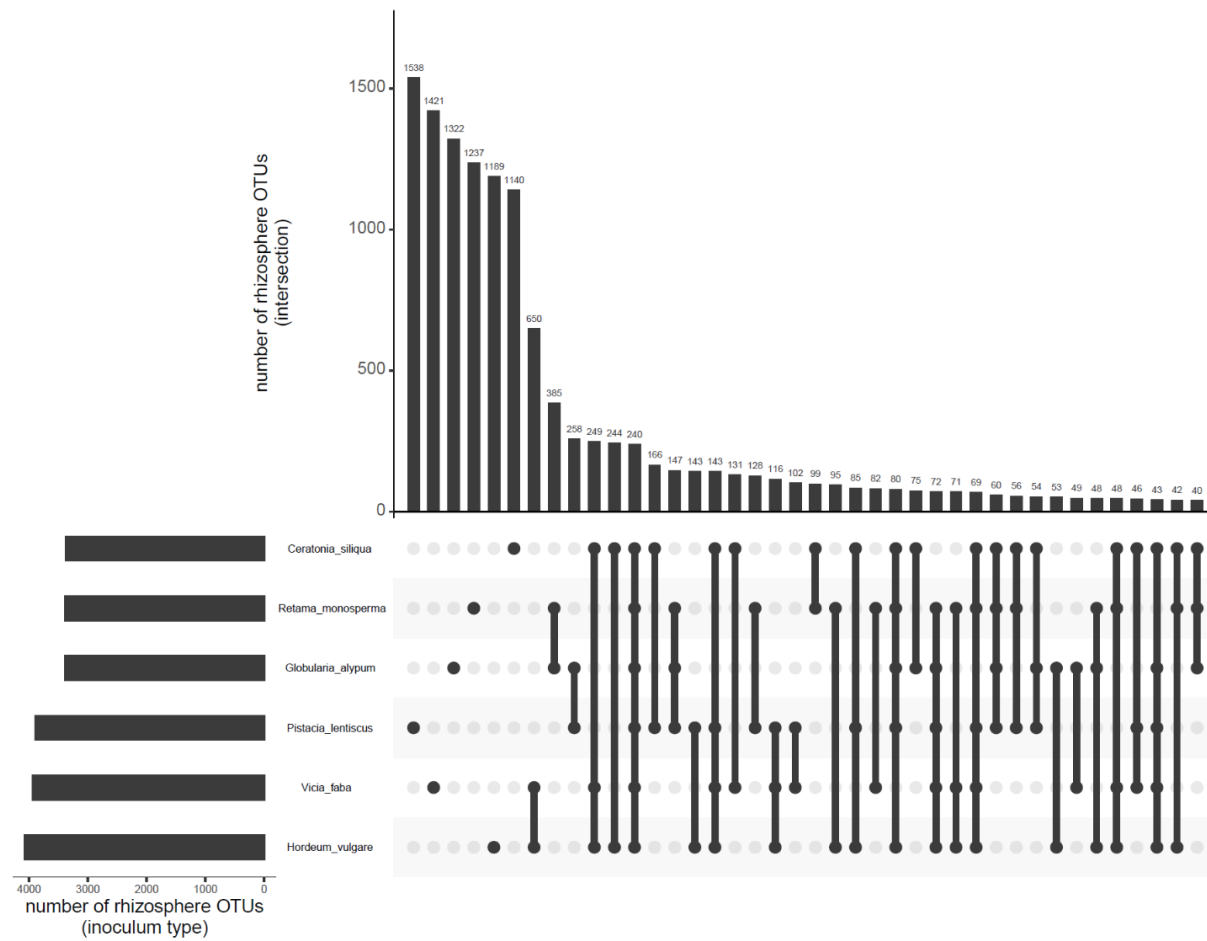




**Figure II.S7.** Mycorrhizal roots of *C. siliqua* representing different structures: vesicles (V), hyphae (H), arbuscules (A) and spores (S).

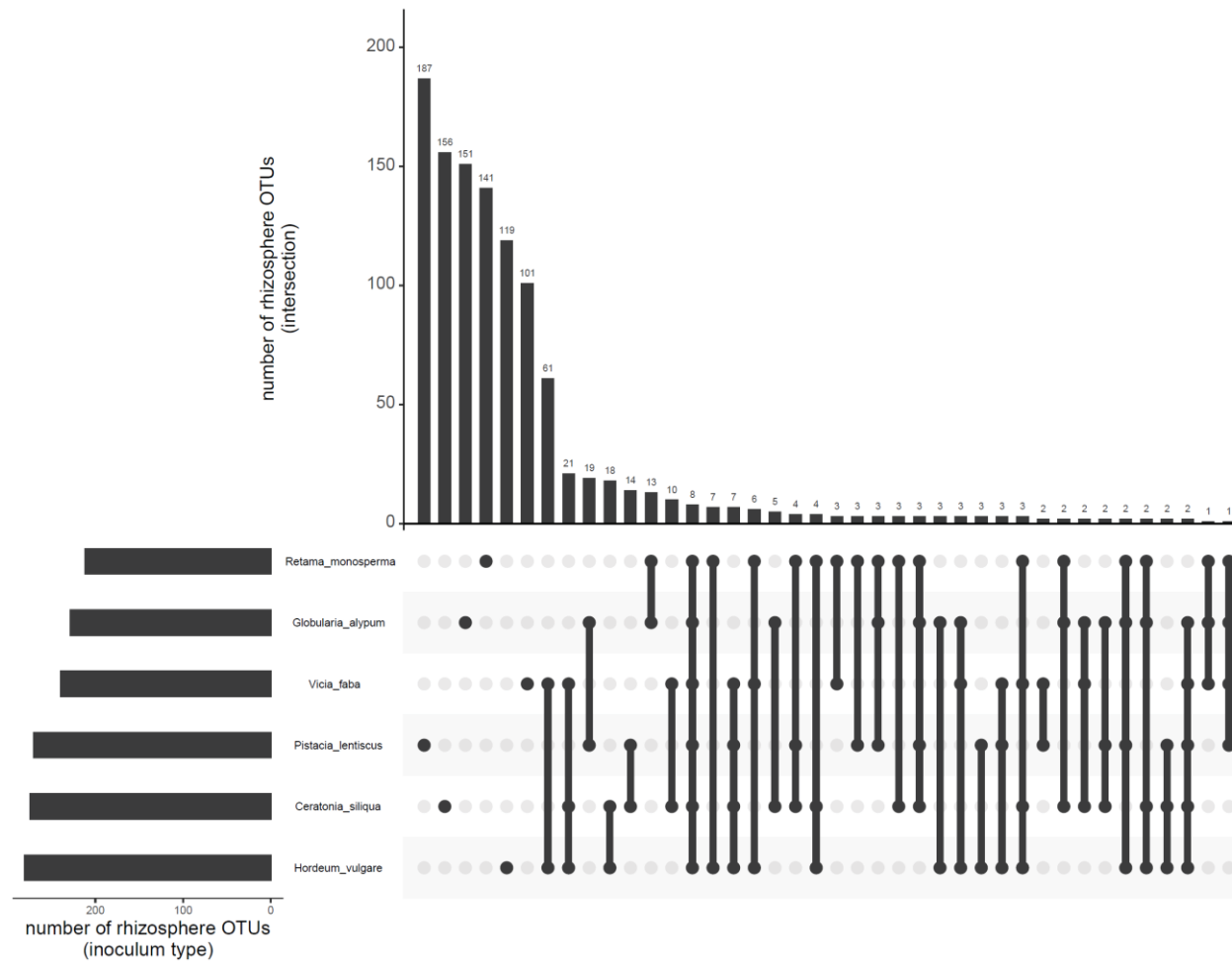


**Figure III.S1.** Hierarchical clustering analysis of native soils based on the phylum composition of the bacterial (A) and fungal (B) communities. The native soils were sampled under six plant species (*C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*) representative of natural carob habitats and carob-based traditional agrosystems (A). Relative abundance of microbial taxa at the phylum level were log<sub>1p</sub> transformed before clustering (Euclidean distance, Ward's method). Heatmaps were split in 3 soil origin clusters and 3-4 microbiota clusters.

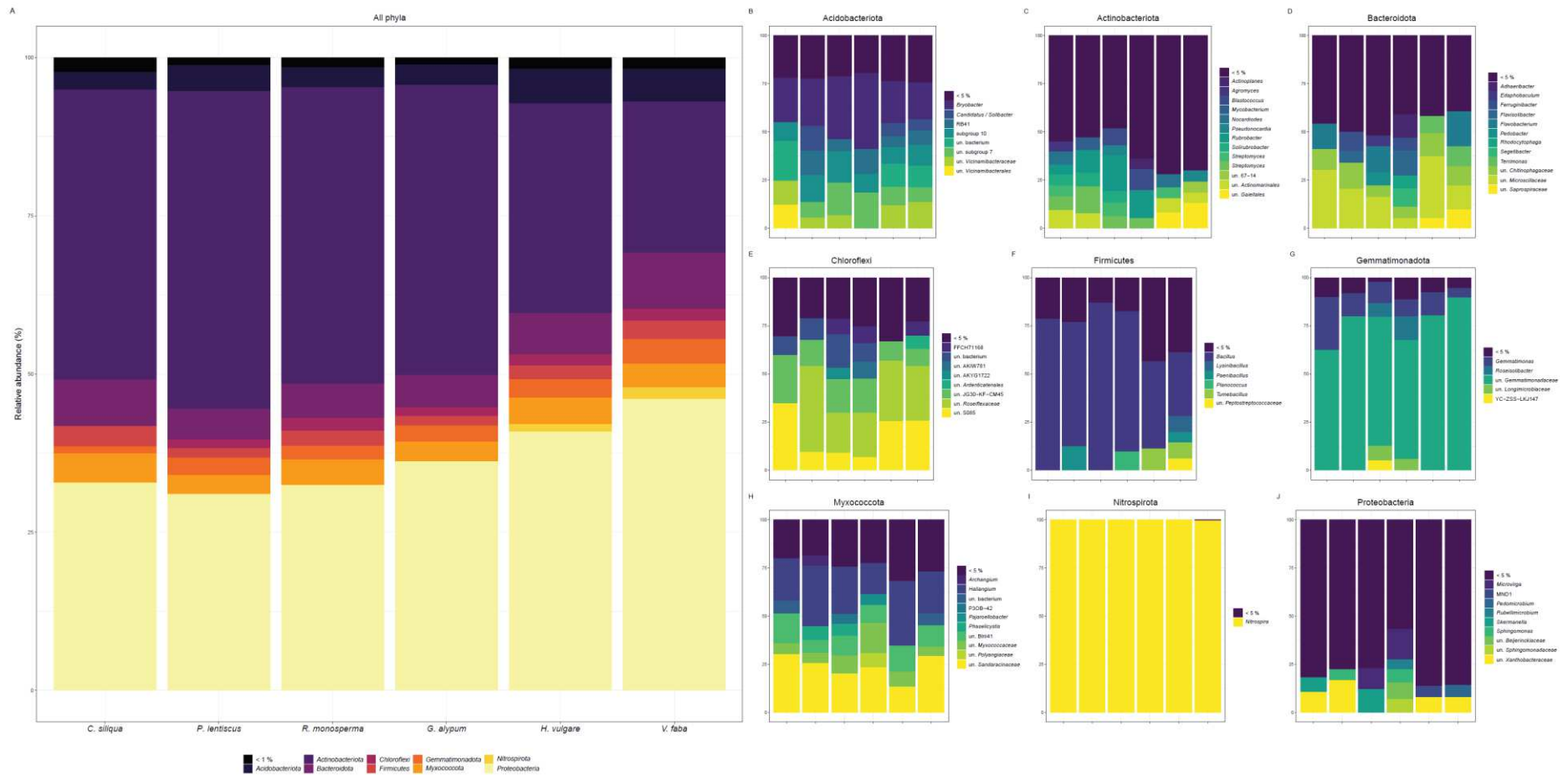


**Figure III.S2.** Membership analysis of soil bacterial OTUs among SoBIOS from six origins *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*.

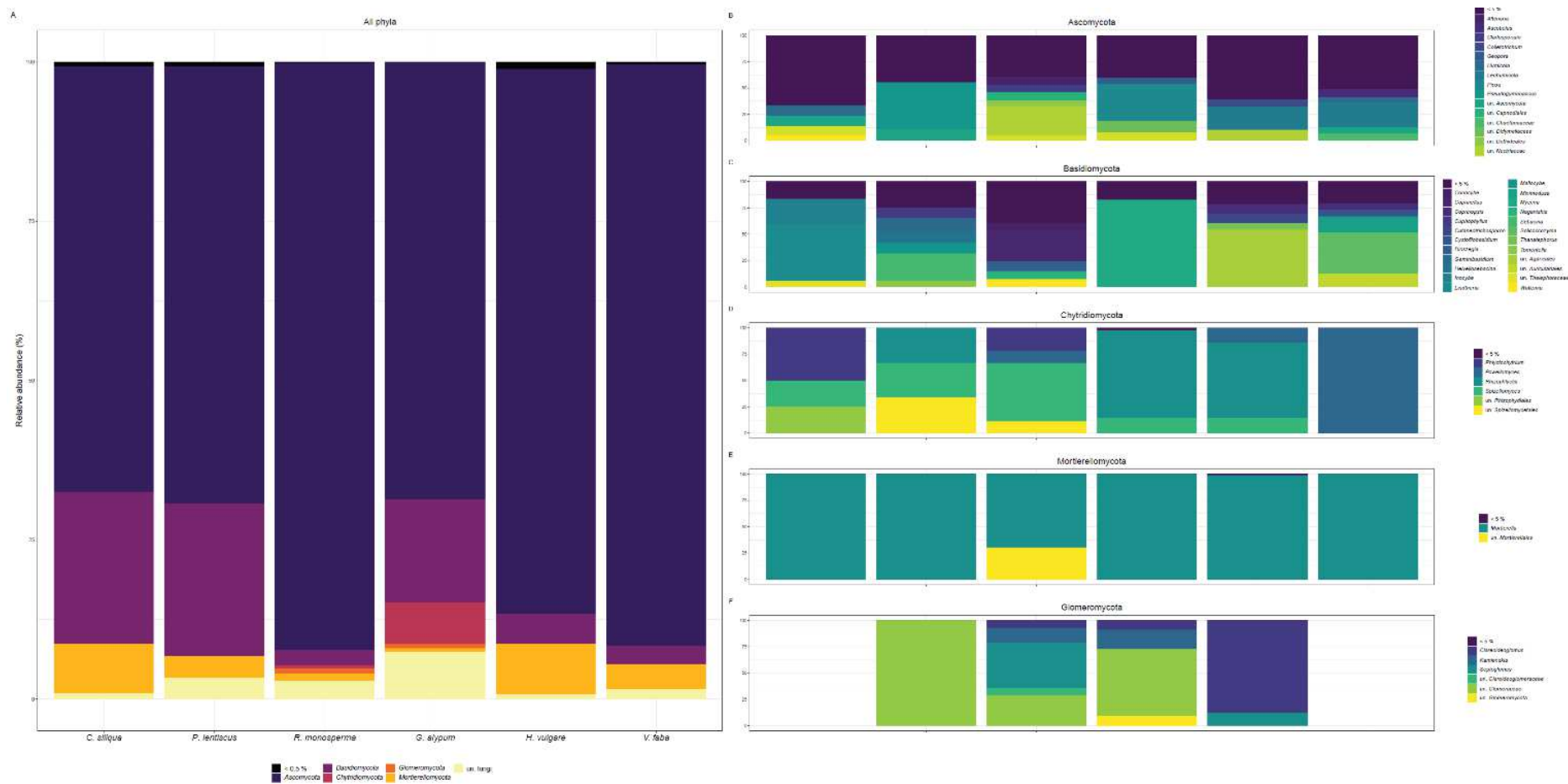




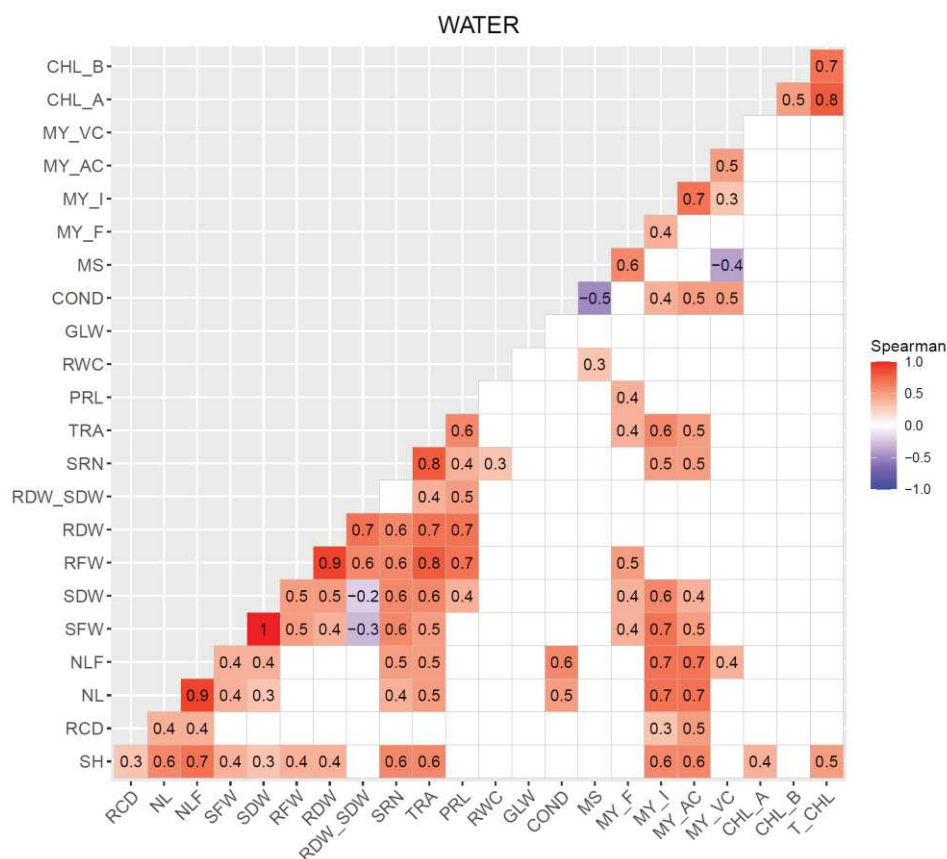
**Figure III.S3.** Membership analysis of soil fungal OTUs among SoBIOS from six origins, *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*.



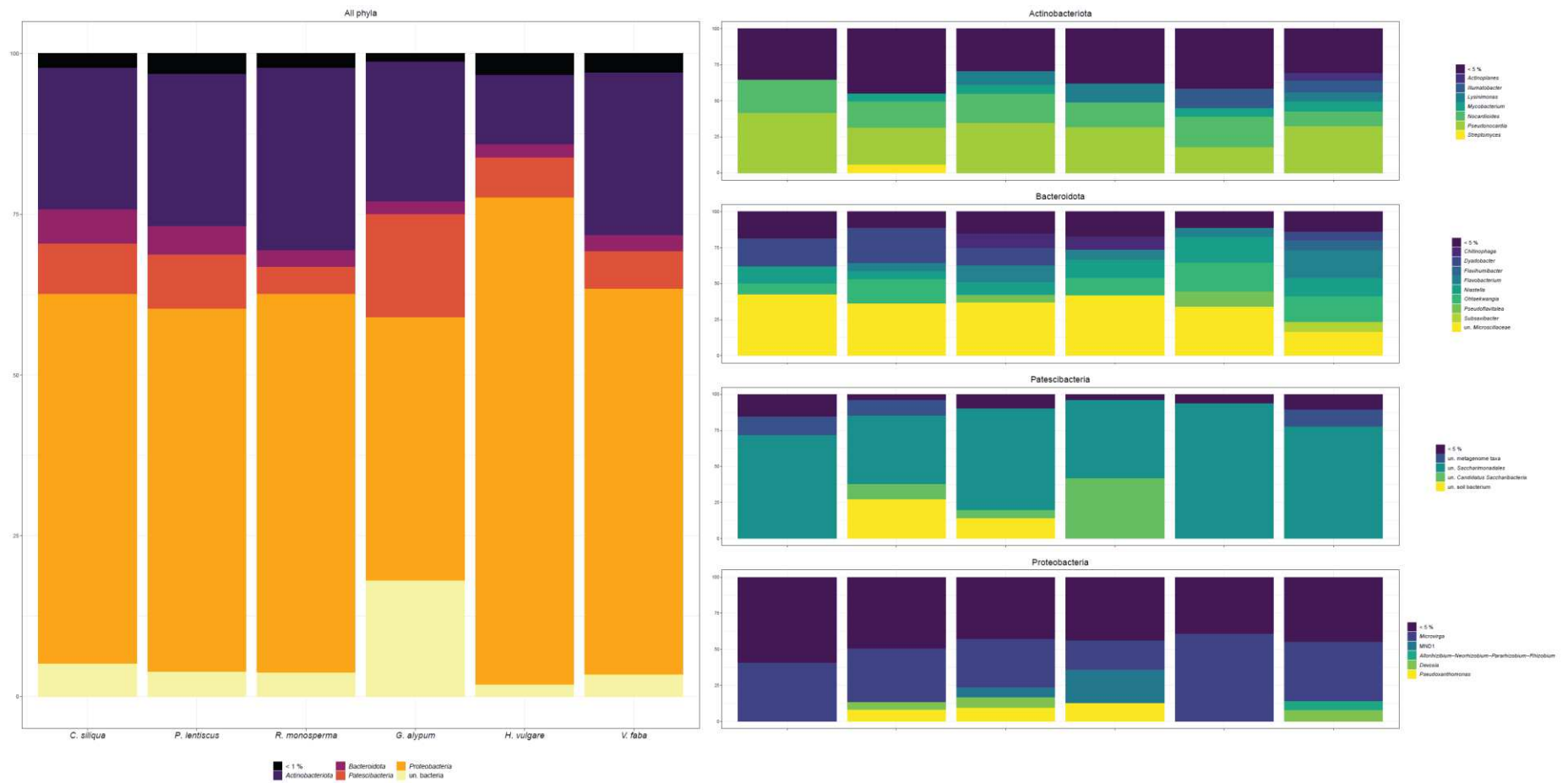
**Figure III.S4.** Taxonomic composition of bacterial community at (A) the phylum and (B-F) genus levels for each SoBIO origin, *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*.



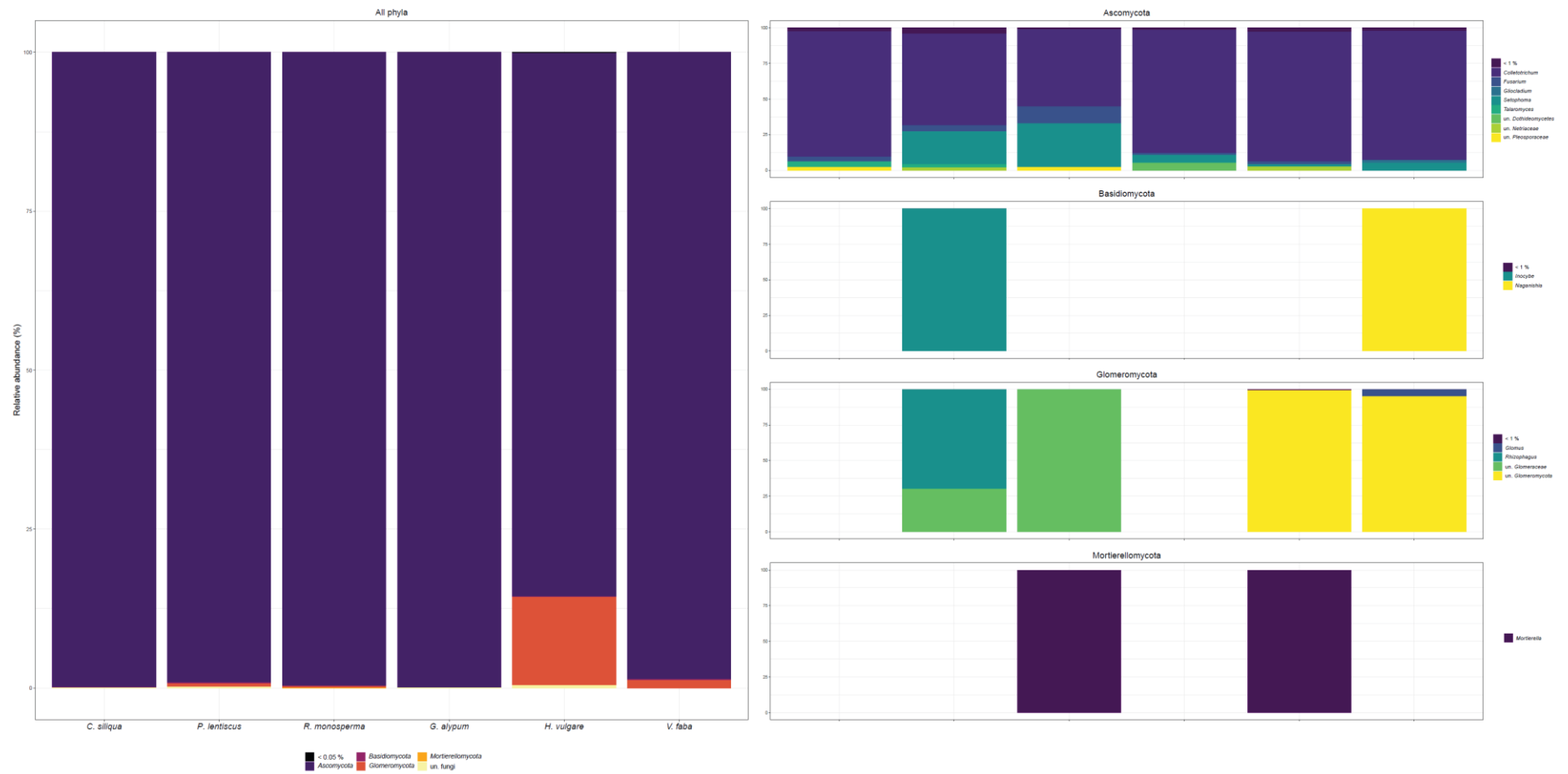
**Figure III.S5.** Taxonomic composition of fungal community at (A) the phylum and (B-F) genus levels for each SoBio origin, *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*.



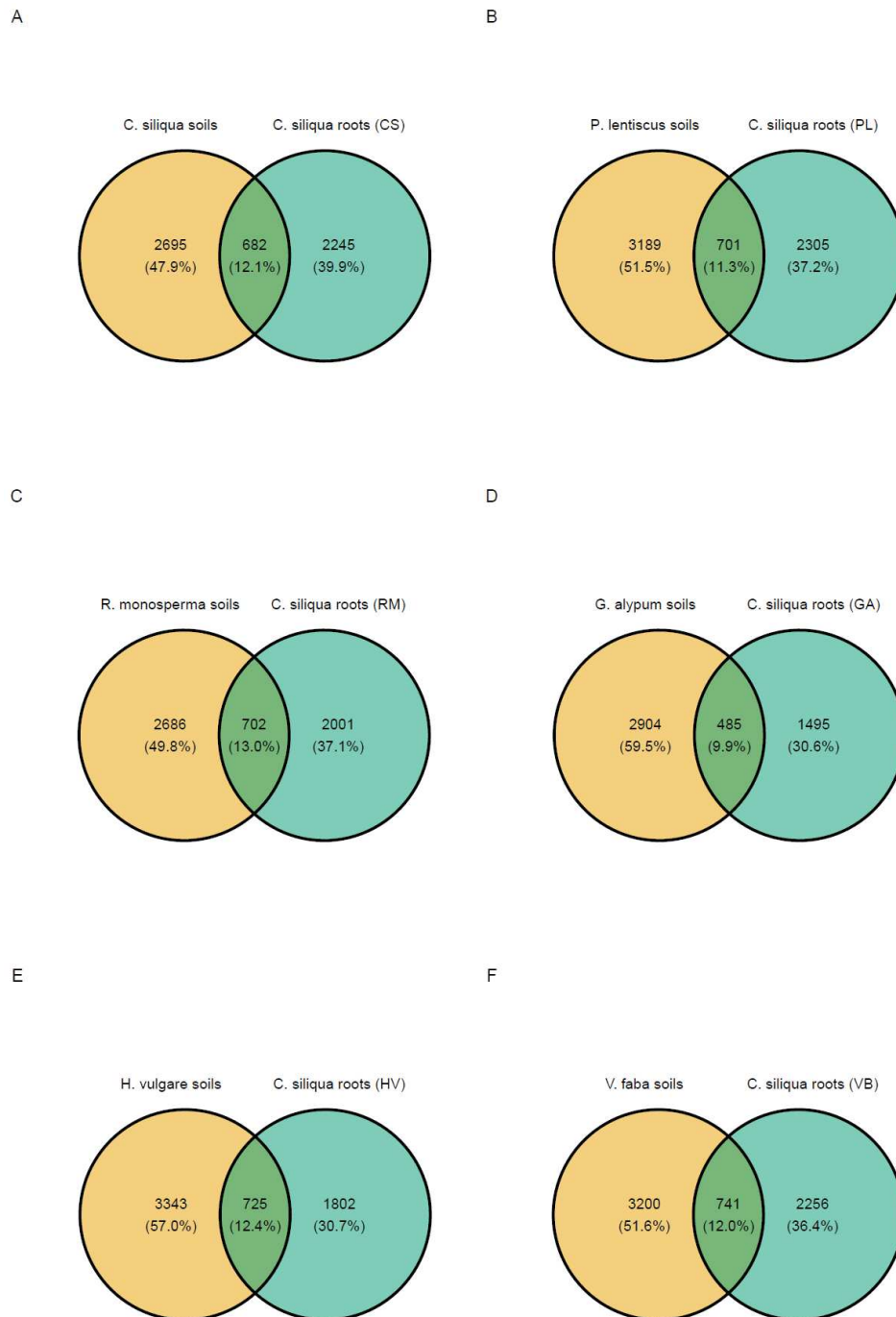
**Figure III.S6.** Heatmap of Spearman Rho correlations among the 23 main carob measured in WATER condition. The number in each square correspond to R estimated by Spearman correlation. White square indicates no significant correlation ( $P > 0.05$ ). SH, shoot height (SH); RCD, root collar diameter; NL, number of leaves; NLF, number of leaflets; SFW, shoot fresh weight; SDW, shoot dry weight; RFW, root fresh weight; RDW, root dry weight; RDW\_SDW, root / shoot ratio; SRN, secondary root number; TRA, total root area; PRL, primary root length; RWC, relative water content; GLW gradual loss of water; COND, stomatal conductance; CHL\_A, chlorophyll A; CHL\_B, chlorophyll B; T\_CHL, total chlorophyll content; MS, membrane stability; MY\_F, mycorrhizal colonization frequency; MY\_I, mycorrhizal colonization intensity; MY\_AC, mycorrhizal arbuscular content; MY\_VC, mycorrhizal vesicular content.



**Figure III.S7.** Taxonomic composition of carob root bacterial community at (A) the phylum and (B-F) genus levels associated with SoBIO origins, *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*.

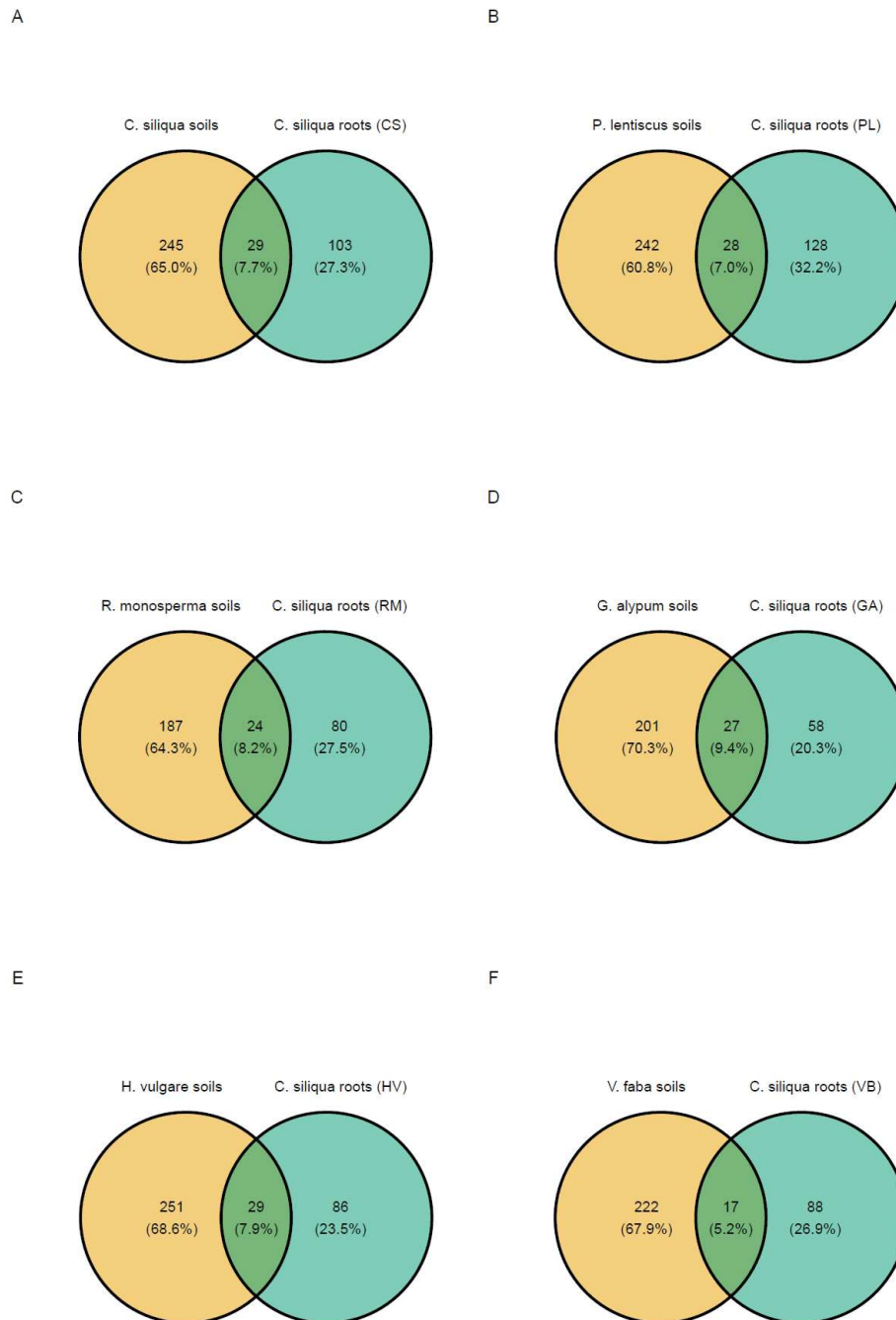


**Figure III.S8.** Taxonomic composition of carob root fungal community at (A) the phylum and (B-F) genus levels associated with SoBio origins, *C. siliqua*, *P. lentiscus*, *R. monosperma*, *G. alypum*, *H. vulgare*, *V. faba*.



**Figure III.S9.** Estimation of selection rate of bacterial (A-F) taxa in the carob roots from the SoBIOS; *C. siliqua* (A), *P. lentiscus* (B), *R. monosperma* (C), *G. alypum* (D), *H. vulgare* (E), *V. faba* (F). For each category, the number and percentage of OTUs are indicated.





**Figure III.S10.** Estimation of selection rate of bacterial (A-F) taxa in the carob roots from the SoBIOS; *C. siliqua* (A), *P. lentiscus* (B), *R. monosperma* (C), *G. alypum* (D), *H. vulgare* (E), *V. faba* (F). For each category, the number and percentage of OTUs are indicated.

**Table III.S1.** Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with Moroccan carob habitats<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum	Class	Order	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
17	877	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	uni_Micrococcaceae	uni_Micrococcaceae
7	558	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae
39	513	Actinobacteriota	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Blastococcus	uni_Blastococcus
23	466	Actinobacteriota	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	uni_Rubrobacter
18	395	Actinobacteriota	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	uni_Rubrobacter
100	389	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	uni_Micrococcaceae	uni_Micrococcaceae
119	373	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	Skermanella	uni_Skermanella
73	351	Actinobacteriota	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Blastococcus	uni_Blastococcus
109	333	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Microvirga	uni_Microvirga
126	316	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	Skermanella	uni_Skermanella
54	315	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	Pseudonocardia	uni_Pseudonocardia
89	299	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	uni_Sphingomonadaceae	uni_Sphingomonadaceae
136	269	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Microvirga	uni_Microvirga
120	263	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Burkholderiales	Nitrosomonadaceae	MND1	unc_beta_proteobacterium
5	247	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	uni_Streptomyces
90	246	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	uni_Bacillus
203	233	Actinobacteriota	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	uni_Rubrobacter
314	213	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Microvirga	uni_Microvirga
153	212	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Pedomicrobium	uni_Pedomicrobium
104	200	Actinobacteriota	Thermoleophilia	Gaiellales	uni_Gaiellales	uni_Gaiellales	uni_Gaiellales
280	196	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	Skermanella	uni_Skermanella
247	176	Actinobacteriota	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Geodermatophilus	uni_Geodermatophilus
229	173	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	uni_Bacillus
319	173	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methyloligellaceae	uni_Methyloligellaceae	uni_Methyloligellaceae
130	169	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	Pseudonocardia	uni_Pseudonocardia
316	168	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Azospirillales	Azospirillaceae	Skermanella	uni_Skermanella

OTU	Reads	Phylum	Class	Order	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
42	168	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae
213	167	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Actinomarinales	uni_Actinomarinales	uni_Actinomarinales	uni_Actinomarinales
217	167	Actinobacteriota	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	uni_Rubrobacter
309	166	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	uni_Rhizobiales	uni_Rhizobiales	uni_Rhizobiales
747	160	Actinobacteriota	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Modestobacter	Modestobacter_marinus
296	155	Gemmatimonadota	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	Gemmatimonadaceae	uni_Gemmatimonadaceae	uni_Gemmatimonadaceae
48	155	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	uni_Actinoplanes
320	154	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	uni_Nocardiodaceae	uni_Nocardiodaceae
107	151	Actinobacteriota	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	67-14	uni_67-14	uni_67-14
110	150	Actinobacteriota	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	uni_Rubrobacter
454	149	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rubellimicrobium	uni_Rubellimicrobium
36	147	Actinobacteriota	Thermoleophilia	Gaiellales	uni_Gaiellales	uni_Gaiellales	uni_Gaiellales
287	146	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	uni_Streptomyces
61	146	Actinobacteriota	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	67-14	uni_67-14	uni_67-14
347	143	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	Nocardioides	uni_Nocardioides
24	136	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae
79	135	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Reyranellales	Reyranellaceae	Reyranella	Reyranella_soli
235	133	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	Crossiella	uni_Crossiella
31	132	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	Kribbella	uni_Kribbella
898	131	Actinobacteriota	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Blastococcus	uni_Blastococcus
244	129	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methyloligellaceae	uni_Methyloligellaceae	uni_Methyloligellaceae
271	124	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	uni_Actinoplanes
548	124	Actinobacteriota	Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	Blastococcus	uni_Blastococcus
93	124	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Steroidobacterales	Steroidobacteraceae	uni_Steroidobacteraceae	uni_Steroidobacteraceae

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 12819 are shown

(2) unc, uncultured. uni, unidentified

**Table III.S2.** Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with Moroccan carob habitats<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
8	619	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	uni_Nectriaceae	Nectriaceae_sp
229	537	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Pseudeurotiaceae	<i>Pseudogymnoascus</i>	<i>Pseudogymnoascus_pannorum</i>
820	370	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Pyronemataceae	<i>Picoa</i>	<i>Picoa_juniperi</i>
760	314	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	<i>Leohumicola</i>	<i>Leohumicola_verrucosa</i>
1001	295	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	<i>Leohumicola</i>	<i>Leohumicola_verrucosa</i>
25	248	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	uni_Capnodiales	uni_Capnodiales	uni_Capnodiales
9	230	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium_flabelliforme</i>
944	222	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Stephanosporaceae	<i>Lindtneria</i>	<i>Lindtneria_flava</i>
14	181	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	uni_Didymellaceae	uni_Didymellaceae
1151	129	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Tricholomataceae	<i>Mycena</i>	<i>Mycena_zephyrus</i>
38	105	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Chaetomiaceae	<i>Humicola</i>	<i>Humicola_grisea</i>
1233	102	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Tricholomataceae	<i>Mycena</i>	<i>Mycena_zephyrus</i>
168	95	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	<i>Ascochyta</i>	<i>Ascochyta_rabiei</i>
19	95	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Glomerellaceae	<i>Colletotrichum</i>	<i>Colletotrichum_gloeosporioides</i>
260	94	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Ascobolaceae	<i>Ascobolus</i>	<i>Ascobolus_sp</i>
2109	92	Ascomycota	Dothideomycetes	Dothideales	uni_Dothideales	uni_Dothideales	uni_Dothideales
2216	91	Chytridiomycota	Rhizophlyctidomycetes	Rhizophlyctidales	Rhizophlyctidaceae	<i>Rhizophlyctis</i>	<i>Rhizophlyctis_rosea</i>
7	85	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Glomerellaceae	<i>Colletotrichum</i>	<i>Colletotrichum_gloeosporioides</i>
115	82	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Paraphoma</i>	<i>Paraphoma_chrysanthemicola</i>
1467	79	Basidiomycota	Agaricomycetes	Sebacinales	Sebacinaceae	<i>Sebacina</i>	<i>Sebacina_sp</i>
213	79	Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	Ascomycota_sp
2700	75	Ascomycota	Sordariomycetes	Xylariales	Sporocadaceae	<i>Discosia</i>	<i>Discosia_neofraxinea</i>
324	75	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Clavicipitaceae	<i>Metarhizium</i>	<i>Metarhizium_anisopliae</i>
840	70	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Leptosphaeriaceae	uni_Leptosphaeriaceae	uni_Leptosphaeriaceae
386	69	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Pyronemataceae	<i>Geopora</i>	<i>Geopora_sp</i>
35	68	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	uni_Alternaria

OTU	Reads	Phylum	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
587	66	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Chaetomiaceae	uni_Chaetomiaceae	Chaetomiaceae_sp
11	62	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella_alpina</i>
112	62	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria_subcucurbitae</i>
2630	61	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Tuberaceae	uni_Tuberaceae	Tuberaceae_sp
86	60	Ascomycota	Dothideomycetes	Dothideales	Dothideaceae	<i>Endoconidioma</i>	<i>Endoconidioma_populi</i>
1064	58	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Ascobolaceae	<i>Ascobolus</i>	<i>Ascobolus_sp</i>
74	57	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Chaetomiaceae	<i>Humicola</i>	<i>Humicola_grisea</i>
18	52	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Neonectria</i>	<i>Neonectria_sp</i>
1683	50	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Pyronemataceae	<i>Picoa</i>	<i>Picoa_juniperi</i>
1703	50	Ascomycota	Sordariomycetes	Microascales	uni_Microascales	uni_Microascales	Microascales_sp
162	48	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	<i>Stagonosporopsis</i>	<i>Stagonosporopsis_dennisii</i>
2526	47	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni_Pleosporales	uni_Pleosporales	Pleosporales_sp
3126	47	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	<i>Montagnula</i>	<i>Montagnula_scabiosae</i>
40	47	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella_exigua</i>
3156	46	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Inocybaceae	<i>Inocybe</i>	<i>Inocybe_griseovelata</i>
3930	45	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incertae_sedis	<i>Leohumicola</i>	<i>Leohumicola_verrucosa</i>
65	45	Ascomycota	Dothideomycetes	Dothideales	Aureobasidiaceae	<i>Aureobasidium</i>	<i>Aureobasidium_leucospermi</i>
2431	44	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	uni_Agaricales	uni_Agaricales	Agaricales_sp
1347	42	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Inocybaceae	<i>Mallocybe</i>	<i>Mallocybe_sp</i>
4002	41	Basidiomycota	Agaricomycetes	Sebacinales	Sebacinaceae	<i>Helvellosebacina</i>	<i>Helvellosebacina_sp</i>
4873	41	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Inocybaceae	<i>Inocybe</i>	<i>Inocybe_griseovelata</i>
302	40	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella_elongata</i>
128	38	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	<i>Gibellulopsis</i>	<i>Gibellulopsis_piscis</i>
404	38	Ascomycota	Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	Dothideomycetes_sp

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 1107 are shown

(2) unc, uncultered. uni, unidentified

**Table III.S3.** Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with carob roots without water stress<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class	Order	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
16	17584	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
82	14245	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
5	11695	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
111	10980	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	Rhizobium_rosettiformans
50	10523	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Rhizorhapis</i>	uni_Rhizorhapis
186	9148	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales
97	8793	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Devosiaceae	<i>Devosia</i>	uni_Devosia
3	6706	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	uni_Rhizobiaceae	uni_Rhizobiaceae
170	4410	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Pseudoxanthomonas</i>	uni_Pseudoxanthomonas
21	4121	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
44	4109	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
215	4006	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	unc_Candidatus_Saccharibacteria_bacterium	uni_unc_Candidatus_Saccharibacteria_bacterium	uni_unc_Candidatus_Saccharibacteria_bacterium
208	3964	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
10	3661	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Pseudonocardia</i>	Pseudonocardia_sp._3-33-9A
35	3657	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
149	3465	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class	Order	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
402	3138	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales
465	2986	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae
20	2913	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Erwiniaceae	<i>Pantoea</i>	uni_Pantoea
1	2879	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Ensifer</i>	uni_Ensifer
820	2642	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
60	2447	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas</i>	uni_Sphingomonas
368	2271	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	unc_soil_bacterium	uni_unc_soil_bacterium	uni_unc_soil_bacterium
657	2204	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingobium</i>	uni_Sphingobium
687	2073	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Cellvibrionaceae	<i>Cellvibrio</i>	uni_Cellvibrio
494	2057	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
177	2041	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	<i>Lysinimonas</i>	unc_Actinobacteridae_bacterium
676	1811	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales
116	1804	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	<i>Salinicola</i>	Halomonas_sp._ny1-3
397	1649	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	uni_Microbacteriaceae	uni_Microbacteriaceae
85	1500	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Pseudonocardia</i>	Pseudonocardia_sp._3-33-9A
22	1456	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	<i>Nocardioides</i>	uni_Nocardioides
45	1433	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
797	1414	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Cellvibrionaceae	<i>Cellvibrio</i>	uni_Cellvibrio
655	1338	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Pseudonocardia</i>	Pseudonocardia_sp._RI44-RCaA106
1006	1263	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	[Rhizobium]_sphaerophysae_group	Rhizobium_sphaerophysae
487	1216	Actinobacteriota	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	uni_Mycobacterium
99	1210	Actinobacteriota	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	uni_Mycobacterium
1060	1173	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales
330	1160	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Hyphomicrobium</i>	uni_Hyphomicrobium



OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class	Order	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
13	1156	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
182	1148	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	<i>Phytohabitans</i>	uni_Phytohabitans
328	1137	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptosporangiales	Streptosporangiaceae	<i>Nonomuraea</i>	uni_Nonomuraea
704	1131	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingopyxis</i>	uni_Sphingopyxis
908	1114	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	Rhizobium_sp._B2059
9	1106	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardaceae	<i>Pseudonocardia</i>	uni_Pseudonocardia
163	1100	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingopyxis</i>	uni_Sphingopyxis
845	1082	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	uni_Caulobacteraceae	unc_Caulobacter_sp.
529	1079	Bacteroidota	Bacteroidia	Cytophagales	Spirosomaceae	<i>Dyadobacter</i>	uni_Dyadobacter
242	1072	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	<i>Actinoplanes</i>	Actinoplanes_italicus

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 6930 are shown

(2) unc, uncultured. uni, unidentified

**Table III.S4.** Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with roots without water stress<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
7	24363	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Glomerellaceae	<i>Colletotrichum</i>	<i>Colletotrichum_gloeosporioides</i>
19	7699	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Glomerellaceae	<i>Colletotrichum</i>	<i>Colletotrichum_gloeosporioides</i>
39	3921	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Setophoma</i>	<i>Setophoma_terrestris</i>
136	1936	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Setophoma</i>	<i>Setophoma_terrestris</i>
43	1759	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_concentricum</i>
104	910	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni_Pleosporales	uni_Pleosporales	Pleosporales_sp
35	640	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	uni_Alternaria
216	583	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni_Pleosporales	uni_Pleosporales	Pleosporales_sp
92	511	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Gibberella</i>	<i>Gibberella_avenacea</i>
15	492	Ascomycota	Sordariomycetes	Microascales	uni_Microascales	uni_Microascales	Microascales_sp
197	483	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	uni_Pleosporaceae	Pleosporaceae_sp
1157	409	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
172	371	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Talaromyces</i>	<i>Talaromyces_sayulitensis</i>
9	317	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium_flabelliforme</i>
1117	296	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_concentricum</i>
754	288	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	uni_Hypocreales	uni_Hypocreales	Hypocreales_sp
1790	237	Ascomycota	Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	Dothideomycetes_sp
1167	213	Ascomycota	Sordariomycetes	Diaporthales	Diaporthaceae	<i>Diaporthe</i>	<i>Diaporthe_helicis</i>
127	200	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreales_fam_Incertae_sedis	<i>Gliocladium</i>	<i>Gliocladium_cibotii</i>
77	175	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria_betae-kenyensis</i>
18	165	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Neonectria</i>	<i>Neonectria_sp</i>
2790	159	Ascomycota	Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	Dothideomycetes_sp
2352	153	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
2478	151	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
2685	149	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
777	112	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Talaromyces</i>	<i>Talaromyces_sayulitensis</i>

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
8	105	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	uni_Nectriaceae	Nectriaceae_sp
150	96	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni_Pleosporales	uni_Pleosporales	Pleosporales_sp
322	89	Ascomycota	Dothideomycetes	Botryosphaeriales	Botryosphaeriaceae	<i>Macrophomina</i>	<i>Macrophomina_phaseolina</i>
1355	85	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	uni_Pleosporaceae	Pleosporaceae_sp
246	64	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Paraphoma</i>	<i>Paraphoma_chrysanthemicola</i>
4416	63	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
4892	63	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus_sojae</i>
4549	57	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
1575	56	Ascomycota	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae	<i>Exophiala</i>	<i>Exophiala_sp</i>
4564	53	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	<i>Rhizophagus</i>	<i>Rhizophagus_sp</i>
705	52	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreales_fam_Incertae_sedis	<i>Gliocladium</i>	<i>Gliocladium_cibotii</i>
29	50	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	uni_Nectriaceae	Nectriaceae_sp
6360	50	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus_sojae</i>
3235	49	Ascomycota	Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	Dothideomycetes_sp
999	46	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_nematophilum</i>
4017	45	Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota
671	45	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_sp</i>
57	44	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria_chlamydosporigena</i>
238	43	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	<i>Tetracladium</i>	<i>Tetracladium_furcatum</i>
2844	40	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Paraphoma</i>	<i>Paraphoma_chrysanthemicola</i>
31	40	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	<i>Plectosphaerella</i>	<i>Plectosphaerella_niemeijerarum</i>
34	39	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymellaceae	<i>Didymella</i>	uni_Didymella
4526	35	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Acericola</i>	<i>Acericola_italica</i>
8646	31	Ascomycota	Lecanoromycetes	Ostropales	Stictidaceae	<i>Cryptodiscus</i>	<i>Cryptodiscus_pini</i>

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 411 are shown

(2) unc, uncultured. uni, unidentified

**Table III.S5.** Taxonomic assignment of bacterial OTUs associated with carob roots under water stress condition<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
6	34518	uni_Bacteria	uni_Bacteria	uni_Bacteria	uni_Bacteria	uni_Bacteria	uni_Bacteria
16	28432	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
5	12391	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
50	11100	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Rhizorhapis</i>	uni_Rhizorhapis
97	9406	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Devosiaceae	<i>Devosia</i>	uni_Devosia
44	5837	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
3	5305	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	uni_Rhizobiaceae	uni_Rhizobiaceae
21	5251	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
111	4947	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	Rhizobium_rosetiformans
149	4429	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
35	4288	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
10	3873	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Pseudonocardia</i>	Pseudonocardia_sp._3-33-9A
177	3508	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	<i>Lysinimonas</i>	unc_Actinobacteridae_bacterium
397	3204	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Microbacteriaceae	uni_Microbacteriaceae	uni_Microbacteriaceae
82	3125	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
170	2969	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Pseudoxanthomonas</i>	uni_Pseudoxanthomonas
368	2849	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	unc_soil_bacterium	uni_unc_soil_bacterium	uni_unc_soil_bacterium
60	2824	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas</i>	uni_Sphingomonas
402	2406	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales
215	2305	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	unc_Candidatus_Saccharibacteria_bacterium	uni_unc_Candidatus_Saccharibacteria_bacterium	uni_unc_Candidatus_Saccharibacteria_bacterium
22	2197	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardioidaceae	<i>Nocardioides</i>	uni_Nocardioides
85	1904	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Pseudonocardia</i>	Pseudonocardia_sp._3-33-9A

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
328	1804	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptosporangiales	Streptosporangiaceae	<i>Nonomuraea</i>	uni_Nonomuraea
465	1767	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae	uni_Xanthobacteraceae
1491	1713	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	metagenome	uni_metagenome	uni_metagenome
208	1686	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
494	1663	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium	uni_Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium
13	1627	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
317	1620	Actinobacteriota	Actinobacteria	uni_Actinobacteria	uni_Actinobacteria	uni_Actinobacteria	uni_Actinobacteria
1	1586	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Ensifer</i>	uni_Ensifer
487	1487	Actinobacteriota	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	uni_Mycobacterium
466	1479	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
86	1476	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	<i>Nocardioides</i>	uni_Nocardioides
359	1405	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Microtrichales	Ilumatobacteraceae	uni_Ilumatobacteraceae	uni_Ilumatobacteraceae
434	1366	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Pseudoxanthomonas</i>	uni_Pseudoxanthomonas
633	1340	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	metagenome	uni_metagenome	uni_metagenome
163	1265	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingopyxis</i>	uni_Sphingopyxis
41	1259	Actinobacteriota	Actinobacteria	Streptomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	uni_Streptomyces
566	1255	Bacteroidota	Bacteroidia	Cytophagales	Microscillaceae	uni_Microscillaceae	uni_Microscillaceae
58	1247	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	uni_Rhizobiaceae	uni_Rhizobiaceae
657	1236	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingobium</i>	uni_Sphingobium
31	1226	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	<i>Kribbella</i>	uni_Kribbella
1235	1207	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales
48	1199	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	<i>Actinoplanes</i>	uni_Actinoplanes
687	1199	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Cellvibrionaceae	<i>Cellvibrio</i>	uni_Cellvibrio
182	1191	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micromonosporales	Micromonosporaceae	<i>Phytohabitans</i>	uni_Phytohabitans
676	1181	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales	uni_Saccharimonadales
877	1175	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	<i>Nocardioides</i>	uni_Nocardioides

<b>OTU</b>	<b>Reads</b>	<b>Phylum<sup>(2)</sup></b>	<b>Class<sup>(2)</sup></b>	<b>Order<sup>(2)</sup></b>	<b>Family<sup>(2)</sup></b>	<b>Genus<sup>(2)</sup></b>	<b>Species<sup>(2)</sup></b>
677	1146	Actinobacteriota	Actinobacteria	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	uni_Pseudonocardiaceae	uni_Pseudonocardiaceae
27	1143	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Promicromonosporaceae	<i>Promicromonospora</i>	uni_Promicromonospora

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 6830 are shown

(2) unc, uncultured. uni, unidentified

**Table III.S6.** Taxonomic assignment of fungal OTUs associated with carob roots under water stress condition<sup>(1)</sup>

OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
7	29383	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Glomerellaceae	<i>Colletotrichum</i>	<i>Colletotrichum_gloeosporioides</i>
19	4790	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Glomerellaceae	<i>Colletotrichum</i>	<i>Colletotrichum_gloeosporioides</i>
39	3346	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Setophoma</i>	<i>Setophoma_terrestris</i>
136	2014	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Setophoma</i>	<i>Setophoma_terrestris</i>
43	1918	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_concentricum</i>
104	786	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni_Pleosporales	uni_Pleosporales	Pleosporales_sp
150	490	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni_Pleosporales	uni_Pleosporales	Pleosporales_sp
197	442	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	uni_Pleosporaceae	Pleosporaceae_sp
754	436	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	uni_Hypocreales	uni_Hypocreales	Hypocreales_sp
127	338	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreales_fam_Incertae_sedis	<i>Gliocladium</i>	<i>Gliocladium_cibotii</i>
777	316	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Talaromyces</i>	<i>Talaromyces_sayulitensis</i>
172	298	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Talaromyces</i>	<i>Talaromyces_sayulitensis</i>
999	292	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_nematophilum</i>
216	247	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	uni_Pleosporales	uni_Pleosporales	Pleosporales_sp
8	241	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	uni_Nectriaceae	Nectriaceae_sp
35	192	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	uni_Alternaria
322	169	Ascomycota	Dothideomycetes	Botryosphaeriales	Botryosphaeriaceae	<i>Macrophomina</i>	<i>Macrophomina_phaseolina</i>
228	148	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium_flabelliforme</i>
9	144	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium_flabelliforme</i>
635	121	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Lasiosphaeriaceae	<i>Podospora</i>	<i>Podospora_communis</i>
848	121	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	uni_Hypocreales	uni_Hypocreales	Hypocreales_sp
671	108	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_sp</i>
512	105	Ascomycota	Sordariomycetes	Sordariales	Chaetomiaceae	uni_Chaetomiaceae	Chaetomiaceae_sp
1157	98	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
1355	98	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	uni_Pleosporaceae	Pleosporaceae_sp
3235	97	Ascomycota	Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	Dothideomycetes_sp



OTU	Reads	Phylum <sup>(2)</sup>	Class <sup>(2)</sup>	Order <sup>(2)</sup>	Family <sup>(2)</sup>	Genus <sup>(2)</sup>	Species <sup>(2)</sup>
1790	89	Ascomycota	Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	uni_Dothideomycetes	Dothideomycetes_sp
1117	83	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_concentricum</i>
238	82	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	<i>Tetracladium</i>	<i>Tetracladium_furcatum</i>
664	81	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria_metachromatica</i>
121	75	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium_flabelliforme</i>
4606	65	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	uni_Glomeraceae	Glomeraceae_sp
138	63	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	Fusarium_sp
31	61	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	<i>Plectosphaerella</i>	<i>Plectosphaerella_niemeijerarum</i>
4017	49	Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota	uni_Ascomycota
6582	47	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreales_fam_Incertae_sedis	<i>Sarocladium</i>	<i>Sarocladium_hominis</i>
1226	46	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria_chlamydospora</i>
64	46	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium_solani</i>
2352	40	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
25	39	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	uni_Capnodiales	uni_Capnodiales	uni_Capnodiales
2478	38	Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	uni_Glomeromycota	Glomeromycota_sp
439	38	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria_metachromatica</i>
2844	37	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Paraphoma</i>	<i>Paraphoma_chrysanthemicola</i>
125	36	Ascomycota	Sordariomycetes	Glomerellales	Plectosphaerellaceae	<i>Gibellulopsis</i>	<i>Gibellulopsis_piscis</i>
1031	35	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Acericola</i>	<i>Acericola_italica</i>
4526	34	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Phaeosphaeriaceae	<i>Acericola</i>	<i>Acericola_italica</i>
4430	33	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	<i>Funneliformis</i>	<i>Funneliformis_mosseae</i>
924	33	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	Fusarium_sp
4542	32	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	uni_Capnodiales	uni_Capnodiales	Capnodiales_sp
525	32	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	uni_Tremellales	uni_Tremellales	Tremellales_sp

(1) Only the 50 most dominant OTUs out of 472 are shown

(2) unc, uncultered. uni, unidentified