

ANTAGONISME ENTRE RHIZOBIUM MELILOTI ET FUSARIUM OXYSPORUM EN RELATION AVEC L'EFFICACITE SYMBIOTIQUE

H. ANTOUN¹, L. M. BORDELEAU², et C. GAGNON²

¹Département de Phytologie, Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation, Université Laval, Ste-Foy, Québec G1K 7P4 et ²Station de Recherches, Agriculture Canada, 2560 chemin Gomin, Ste-Foy, Qué. G1V 2J3. Contribution no 111, reçue le 12 mai 1977, acceptée le 6 sept. 1977.

ANTOUN, H., BORDELEAU, L. M. ET GAGNON, C. 1978. Antagonisme entre *Rhizobium meliloti* et *Fusarium oxysporum* en relation avec l'efficacité symbiotique. Can. J. Plant Sci. 58: 75-78.

L'antagonisme de 49 souches de *Rhizobium meliloti* envers *F. oxysporum* a été étudié en cultures pures. On n'a pu démontrer aucune corrélation significative entre l'efficacité symbiotique des souches et leur pouvoir d'antagonisme. Aucune souche de *R. meliloti* n'a produit de substances antibiotiques.

Antagonism of 49 strains of *Rhizobium meliloti* towards *F. oxysporum* was studied in pure cultures. No significant correlation was found between symbiotic effectiveness of the strains and their antagonistic ability. None of the strains of *R. meliloti* tested produced antibiotics.

L'inoculation des légumineuses avec des souches efficaces de *Rhizobium* a un effet bénéfique, car elle leur fournit de l'azote (Nutman 1976), et de plus, elle peut diminuer ou empêcher leur invasion par certaines espèces de *Fusarium* (Johnston 1967; Mew et Howard 1969). En effet, Johnston (1967) a montré que la présence de *Rhizobium meliloti* Dangeard dans la rhizosphère de la luzerne avait un certain effet protecteur contre l'invasion des racines par *Fusarium roseum* Link; cet effet est le résultat d'une compétition nutritive dans laquelle la source de carbone est le facteur critique. D'autre part, il existe une corrélation négative et très significative entre l'utilisation du mannitol en cultures pures et l'efficacité symbiotique chez *R. meliloti* (Lalande 1976). Le but de ce travail est d'étudier la relation entre l'efficacité de diverses souches de *R. meliloti* et le degré d'antagonisme qu'elles exercent envers une souche de *F. oxysporum* Schlecht.

MATERIEL ET METHODES

L'efficacité des 49 souches de *R. meliloti* utilisées dans ce travail a déjà été rapporté par

Can. J. Plant Sci. 58: 75-78 (Jan. 1978)

Bordeleau et al. (1977). La souche de *F. oxysporum* (no 109) utilisée provient de la collection de la Station de Recherches d'Agriculture Canada à Sainte-Foy. Les milieux de culture utilisés ont été: le bouillon d'extrait de levure et de mannitol (YMB) de Vincent (1970), contenant 1 g/litre d'extrait de levure (Difco); le milieu YMB solidifié avec 15 g/litre d'agar (YMA); l'extrait de pomme de terre enrichi de dextrose (PDA, Difco). L'antagonisme entre *R. meliloti* et *F. oxysporum* a été testé dans des plats de Pétri contenant deux couches de gélose. La première couche a été préparée par l'inoculation de 15 ml du milieu YMA refroidi à 45 C avec 1 ml de YMB contenant la souche, âgée de 5 jours, du *Rhizobium* à tester. Après une période d'incubation de 10 jours à 21 C, les plats ont été recouverts d'une deuxième couche constituée de 10 ml de PDA contenant 200 µg/ml de sulfate de streptomycine. Pour permettre la diffusion des substances entre les deux couches de gélose, les plats ont été incubés pendant une nuit à 4 C et ensuite inoculés avec une rondelle de *F. oxysporum* (8 mm de diamètre) provenant de la périphérie d'une colonie active. Après 6 jours d'incubation à 21 C, les diamètres des colonies de *F. oxysporum* ont été mesurés sur deux axes perpendiculaires. Tous les essais ont été répétés cinq fois.

Pour vérifier la présence de métabolites à propriétés antifongiques, diffusibles dans la

Tableau 1. Antagonisme des souches de *R. meliloti* envers *F. oxysporum*

Souches de <i>Rhizobium</i>	Efficacité†	Diamètre moyen en mm de <i>F. oxysporum</i>	Pourcentage du témoin
S1	E	37.8	70.26
S2	E	44.5	82.71
S3	E	34.3	63.75
S4	TE	40.1	74.53
S5	E	38.8	72.11
S6	E	29.1	54.08
S7	E	28.8	53.53
S8	E	39.5	73.42
S9	E	36.5	67.84
S10	E	27.8	51.67
S11	E	44.1	81.97
S12	E	35.9	66.72
S13	E	36.4	67.65
S14	TE	39.4	73.23
S15	E	34.7	64.49
S16	E	50.4	93.68
S19	E	40.9	76.02
S20	E	36.6	68.02
S21	E	30.0	55.76
S22	E	42.4	78.75
V1	E	39.6	73.60
V2	E	30.9	57.43
V3	TE	35.4	65.79
V4	E	43.0	79.92
V5	E	29.3	54.46
V6	NE	40.9	76.02
V7	E	40.5	75.27
D1	NE	39.6	73.60
D2	E	35.0	65.05
D3	E	35.7	66.35
A1	NE	30.4	56.50
A2	TE	38.6	71.78
A3	TE	40.0	74.34
A4	TE	36.9	68.58
A5	E	28.0	52.04
I1	NE	51.1	94.98
I2	NE	48.8	90.7
I3	E	45.5	84.57
I4	NE	43.0	79.92
R1	E	37.1	68.95
E1	NE	46.7	86.80
E2	TE	36.4	67.65
23A	E	33.1	61.52
3Doa2oa	E	38.5	71.56
3Doa8	TE	38.7	71.93
C1	NE	36.4	67.65
54032	E	38.3	71.18
54033	E	41.5	77.13
Alfalfa D	NE	43.1	80.11
Témoin	—	53.8	100.0

†Basée sur les poids secs obtenus à la deuxième coupe de luzerne (Bordeleau et al. 1977). NE, inefficace; E, efficace; TE, très efficace.

gélose, les souches de *R. meliloti* ont été cultivées dans des plats de Pétri à deux couches. La première couche contenait 20 ml du milieu YMA, et la deuxième 8 ml du même milieu à 0.8% d'agar inoculé (à 45 C) massivement avec la souche à tester. Après 2 semaines d'incubation à 21 C, des disques de 8 mm de diamètre ont été découpés et posés à 1 cm d'une colonie active de *F. oxysporum* poussant sur le milieu PDA. Quatre disques ont été utilisés dans chaque plat et tous les essais ont été faits en duplicata. Les plats ont été incubés à 21 C et observés quotidiennement pour la formation de zones d'inhibition.

RESULTATS ET DISCUSSION

Parmi les 49 souches de *R. meliloti* testées, aucune n'a stimulé la croissance de *F. oxysporum* en cultures pures. L'inhibition du champignon a varié beaucoup d'une souche à l'autre; la plus petite inhibition a été obtenue avec la souche inefficace II (5%) et la plus grande inhibition (48%) a été obtenue avec les souches efficaces A5 et S10. Aucune souche n'a donné une réaction neutre (Tableau 1). Il n'existe aucune corrélation significative entre l'efficacité symbiotique des souches de *R. meliloti* et leur pouvoir d'antagonisme envers *F. oxysporum*. En effet, l'analyse de régression entre le rendement de la luzerne exprimé en poids sec à la deuxième coupe (Bordeleau et al. 1977) et le pourcentage d'inhibition de *F. oxysporum* donne un facteur de corrélation ($r = 0.220$) non significatif. Le tableau 2 montre qu'à tous les niveaux d'inhibition, on retrouve des souches inefficaces et efficaces, alors qu'aucune souche très

efficace n'a donné une inhibition inférieure à 25%. La majorité des souches (63%) donnent une inhibition variant de 21 à 40%. Aucune souche de *R. meliloti* n'a produit de métabolites diffusibles à propriétés antifongiques. Nos observations sont semblables à celles rapportées par Marshall et Alexander (1960), et Finstein et Alexander (1962) avec d'autres bactéries telluriques. La réaction d'antagonisme observée est donc le résultat d'une compétition nutritive. En effet, comme aucune corrélation significative ne fut trouvée entre l'efficacité symbiotique et l'antagonisme des souches de *R. meliloti* vis-à-vis de *F. oxysporum*, la réaction d'antagonisme observée ne provient donc pas uniquement d'une compétition nutritive pour le carbone, comme observé par Johnston (1967) avec *F. roseum*. Lalande (1976) a démontré qu'il existe une corrélation significative entre l'utilisation du carbone et l'efficacité symbiotique. D'autre part, même si le carbone est un facteur critique dans la compétition nutritive entre *Agrobacterium radiobacter* Conn. et *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *ubense* (E. F. Smith) Snyder & Hansen (Marshall et Alexander 1960), Finstein et Alexander (1962) ont également démontré qu'en éliminant l'effet du carbone, d'autres éléments comme l'azote et le phosphore peuvent aussi être des facteurs critiques. La compétition pour les substances nutritives dans la rhizosphère de la luzerne, déterminera donc la capacité d'une souche de *R. meliloti* d'empêcher l'invasion de la racine par *F. oxysporum*.

Tableau 2. Distribution de l'efficacité des souches de *R. meliloti* en fonction de leur pouvoir d'antagonisme envers *F. oxysporum*

Pourcentage d'inhibition	NE†	E	TE	Total
0-10	2	1	0	3
11-20	3	4	0	7
21-30	2	10	5	17
31-40	1	10	3	14
41-50	1	7	0	8

†Écarts des inhibitions observées: NE 5.02-43.50, E 6.32-47.96, TE 25.47-32.35.

- BORDELEAU, L. M., ANTOUN, H. et LACHANCE, R. A. 1977. Effets des souches de *Rhizobium meliloti* et des coupes successives de la luzerne (*Medicago sativa*) sur la fixation symbiotique d'azote. Can. J. Plant Sci. **57**: 433-439.
- FINSTEIN, M. S. et ALEXANDER, M. 1962. Competition for carbon and nitrogen between *Fusarium* and bacteria. Soil Sci. **94**: 334-339.
- JOHNSTON, W. H. 1967. Potential of the *Rhizobium-Fusarium* interactions on the incidence of alfalfa root rot. Ph.D. Thesis. University of Rhode Island.
- LALANDE, R. 1976. Activités métaboliques et efficacité symbiotique chez *Rhizobium meliloti*. Thèse de Maîtrise. Université Laval, Québec.
- MARSHALL, K. G. et ALEXANDER, M. 1960. Competition between soil bacteria and *Fusarium*. Plant Soil **12**: 143-153.
- MEW, T. W. et HOWARD, F. L. 1969. Root rot of soybean (*Glycine max*) in relation to antagonism of *Rhizobium japonicum* and *Fusarium oxysporum*. Phytopathology **59**: 401.
- NUTMAN, P. S. 1976. IBP field experiments on nitrogen fixation by nodulated legumes. In P. S. Nutman, ed. Symbiotic nitrogen fixation in plants. IBP No. 7, Chap. 19, Cambridge University Press, London.
- VINCENT, J. M. 1970. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. IBP Handbook No. 15. Blackwell Scientific Publication, Oxford and Edinburgh.