

# Inhibition de champignons phytopathogènes par des bactéries isolées du sol et de la rhizosphère de légumineuses<sup>1</sup>

S. GAGNÉ ET H. ANTOUN

Département des sols, Université Laval, Québec (Qué.), Canada G1K 7P4

ET

C. RICHARD<sup>2</sup>

Station de recherches, Agriculture Canada, 2560, boulevard Hochelaga, Sainte-Foy (Qué.), Canada G1V 2J3

Accépté le 31 mai 1985

GAGNÉ, S., H. ANTOUN et C. RICHARD. 1985. Inhibition de champignons phytopathogènes par des bactéries isolées du sol et de la rhizosphère de légumineuses. *Can. J. Microbiol.* **31**: 856–860.

Nous avons obtenu à partir du sol et de la rhizosphère de certaines légumineuses, 644 cultures bactériennes dont nous avons vérifié les effets sur la croissance de six champignons pathogènes associés aux légumineuses ou aux graminées et sur celle d'un hyperparasite. Plus de la moitié (51,2%) des isolats bactériens ont inhibé au moins un champignon, alors que seulement 1,7% ont eu un effet inhibiteur sur tous les champignons testés. Le *Stemphylium sarcinaeforme* fut le plus sensible (inhibé par 27,0% des bactéries testées), alors que les plus résistants ont été le *Fusarium solani* et le *Gliocladium roseum* (inhibés respectivement par 7,6 et 7,8% des isolats). Le *Verticillium albo-atrum* et le *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*, deux agents pathogènes importants de la luzerne, furent inhibés par 17,7 et 14,7% des bactéries, respectivement. Parmi les 166 bactéries les plus inhibitrices des champignons, 7,2% ont inhibé la souche A2 de *Rhizobium meliloti* et 21,1%, la souche S14. En général, on a obtenu des pourcentages de bactéries inhibitrices beaucoup plus élevés à partir de la rhizosphère qu'à partir du sol non rhizosphérique et ce, autant pour les champignons que pour le *Rhizobium meliloti*. Parmi les bactéries isolées, des *Pseudomonas* spp. et des *Bacillus* spp. incorporés dans la gélose ont réduit de plus de 90% la surface de croissance des champignons. Certaines bactéries ont entraîné une réduction de la densité du mycélium plutôt qu'une diminution de la surface de croissance.

GAGNÉ, S., H. ANTOUN, and C. RICHARD. 1985. Inhibition de champignons phytopathogènes par des bactéries isolées du sol et de la rhizosphère de légumineuses. *Can. J. Microbiol.* **31**: 856–860.

The antifungal activity of 644 bacterial isolates obtained from soil and from the rhizosphere of some leguminous plants was studied with one hyperparasite and six pathogenic fungi frequently associated with leguminous or gramineous plants. More than half (51.2%) of the bacterial isolates inhibited at least one fungus and 1.7% had an inhibitory effect on all the fungi tested. *Stemphylium sarcinaeforme* was the most sensitive fungus (inhibited by 27.0% of the bacteria tested), while *Fusarium solani* and *Gliocladium roseum* were the most resistant (inhibited by only 7.6 and 7.8% of the isolates, respectively). *Verticillium albo-atrum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*, important pathogens of alfalfa, were inhibited by 17.7 and 14.7% of the bacteria, respectively. Among the 166 bacteria showing the most important inhibitory effect on fungi, 7.2% inhibited strain A2 of *Rhizobium meliloti* and 21.1%, strain S14. In general, we obtained higher percentages of bacteria inhibiting fungi and *Rhizobium meliloti* from rhizospheric than from nonrhizospheric soil. When incorporated in the growth medium, some *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* spp. reduced the growth surface of the tested fungi by more than 90%. Some bacteria reduced the mycelium density rather than the growth surface.

## Introduction

Il est bien connu que les légumineuses peuvent grandement bénéficier de leur association symbiotique avec le *Rhizobium* qui fixe l'azote atmosphérique. Cependant, l'efficacité de cette symbiose peut être influencée par les effets néfastes des micro-organismes pathogènes des racines (Kush 1982) ou par un antagonisme entre le *Rhizobium* et la microflore tellurique (Angle et al. 1981; Chhonkar et Subba-Rao 1966; Hattingh et Louw 1969; Patel 1974; Pugashetti et al. 1982). Par ailleurs, le développement de certaines maladies peut être considérablement atténué par la présence dans le sol et dans la rhizosphère de micro-organismes inhibiteurs des agents pathogènes (Cook et Baker 1983; Schroth et Hancock 1982; Vidaver 1982). Antoun et al. (1978a) ont démontré le pouvoir inhibiteur d'un actinomycète contre certains champignons pathogènes de la luzerne et son potentiel comme agent protecteur du *Rhizobium*. Les bactéries sont cependant beaucoup plus compétitives que les actinomycètes (Baker et Cook 1982). Par conséquent, l'utilisation de certaines bactéries antifongiques, mais inoffensives pour le *Rhizobium*, pourrait être fort avan-

tageuse comme moyen de lutte biologique chez une culture d'importance telle que la luzerne (*Medicago sativa* L.). Toutefois, les interactions entre les bactéries telluriques, le *R. meliloti* Dangeard et les champignons pathogènes sont peu connues.

Le but du présent travail est d'étudier l'effet des bactéries du sol et de la rhizosphère de certaines légumineuses sur la croissance de quelques champignons pathogènes et du *R. meliloti*.

## Matériel et méthodes

### Isolement des bactéries

Nous avons prélevé de la terre ainsi que des racines de luzerne (*Medicago sativa* L.), de trèfle (*Trifolium* spp.) et de gourgane (*Vicia faba* var. *major* L.) dans différentes régions du Québec (tableau 1). Le pH du sol a été déterminé dans l'eau (1:2, sol:eau), alors que la matière organique a été déterminée par la méthode de Walkley-Black (McKeague 1978). Les échantillons de terre furent mis en suspension dans un tampon phosphate 0,01 M (pH 7) et agités vigoureusement durant 15 min. Les bactéries furent isolées par dilution et étalement sur les milieux de culture suivants: (i) gélose nutritive (Nutrient agar, Difco) + pénicilline G, 1,0 mg/L (GNG); (ii) gélose nutritive + polymixine B, 5,0 mg/L (GNB); (iii) milieu à base d'extrait de sol (Parkinson et al. 1971) + pénicilline G, 1,0 mg/L (ESG); (iv) milieu à base d'extrait de sol + polymixine B, 5,0 mg/L (ESB) et (v) milieu de Rennie (1981) pour l'isolement des bactéries fixatrices d'azote (R). Afin de restreindre la croissance de contaminants fongiques, nous

<sup>1</sup>Contribution n° 270 de la Station de recherches d'Agriculture Canada.

<sup>2</sup>Auteur à qui faire parvenir toute correspondance.

TABLEAU 1. Caractéristiques des échantillons de sols utilisés pour l'isolement des bactéries

Échantillon	Endroit	Culture	pH	Matière organique (%)
SFG	Sainte-Foy	Gourgane	6,1	2,9
SFT	Sainte-Foy	Trèfle	5,7	4,7
LPL1	La Pocatière	Luzerne	6,2	5,0
LPL2	La Pocatière	Luzerne	6,0	3,7
LPT	La Pocatière	Trèfle	6,0	3,2
NT	Normandin	Trèfle	6,3	4,0
NL	Normandin	Luzerne	6,3	5,5
SAL	Saint-Augustin	Luzerne	5,6	2,4
SLL	Saint-Lambert	Luzerne	5,9	7,0
SLT	Saint-Lambert	Trèfle	7,0	1,3

avons ajouté 50 mg de cycloheximide par litre de milieu de culture, à tous les milieux, sauf le dernier sur lequel la croissance fongique est négligeable. Après 4 à 7 jours de croissance à la température de la pièce, les colonies isolées furent triées et repiquées en éprouvettes sur des pentes de gélose nutritive (Nutrient agar, Difco). Pour l'isolement des bactéries de la rhizosphère proche (rhizoplan), nous avons utilisé le même procédé de suspensions—dilutions, mais à partir de segments de racines débarrassés du sol non adhérent.

#### Effet antifongique des bactéries

Nous avons utilisé la méthode des disques de gélose de Patel et Brown (1969) pour vérifier l'effet inhibiteur des bactéries envers les champignons. Nous avons fait croître les bactéries sur gélose nutritive en boîtes de Pétri (Nutrient agar, Difco) et, après 2 à 4 jours de croissance à 28°C, nous avons découpé des rondelles de 7 mm de diamètre dans la gélose à l'aide d'un emporte-pièce. Ces rondelles furent déposées en boîtes de Pétri à la surface d'une gélose glucosée à base d'extrait de pommes de terre (PDA, Difco) contenant 50 mg de pénicilline G et 50 mg de polymixine B par litre, puis le champignon à l'essai fut inoculé au centre. Nous avons gardé les boîtes de Pétri durant une nuit à 4°C pour permettre la diffusion des métabolites bactériens, après quoi nous les avons incubées à la température de la pièce et observées quotidiennement pour la formation de zones d'inhibition. Tous les isolats de bactéries furent testés envers chacun des sept champignons suivants: le *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth., le *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* (Weimer) Snyd. & Hans., le *F. graminearum* Schwabe, le *F. culmorum* (W. G. Smith) Sacc., le *F. solani* (Mart.) Sacc., le *Gliocladium roseum* (Link) Bainier et le *Stemphylium sarcinaeforme* (Cav.) Wiltsh. Ces champignons proviennent de la collection de la station de recherches d'Agriculture Canada à Sainte-Foy.

#### Effet des bactéries sur la croissance du *R. meliloti*

Afin de vérifier si les bactéries antifongiques affectaient la croissance du *R. meliloti*, nous avons choisi celles qui produisaient les zones d'inhibitions les plus marquées ou qui inhibaient au moins trois champignons et les avons testées envers les souches A2 et S14 de *R. meliloti* (gracieusement fournies par L. M. Bordeleau, Agriculture Canada, Sainte-Foy). À cet effet, nous avons ensemencé des milieux de culture à base de mannitol et d'extrait de levure (Vincent 1970), avec les souches de *R. meliloti*, et les avons versés en boîtes de Pétri à raison de 18 mL par boîte. Lorsque les milieux furent refroidis, nous les avons recouverts de 10 mL d'eau gélosée contenant 50 mg de cycloheximide par litre, et y avons déposé des rondelles de 7 mm de diamètre, découpées dans des cultures de chaque isolat bactérien à tester. Les boîtes de Pétri ont été gardées durant 18 h à 4°C et ensuite 7 jours à la température de la pièce pour permettre la croissance du *R. meliloti* dans la gélose. Nous avons alors examiné les boîtes pour la formation de zones d'inhibition.

#### Effet antifongique des bactéries incorporées dans le milieu de culture

Nous avons choisi 25 isolats bactériens fortement inhibiteurs des

TABLEAU 2. Pourcentages de bactéries inhibitrices, isolées du sol et de la rhizosphère, pour chacun des champignons testés

Champignon	Sol	Rhizosphère	Total
<i>V. albo-atrum</i>	12,9	22,2	17,7
<i>F. culmorum</i>	17,4	25,1	21,4
<i>F. oxysporum</i>			
f. sp. <i>medicaginis</i>	9,0	20,1	14,7
<i>F. graminearum</i>	15,8	33,8	25,1
<i>F. solani</i>	4,2	10,8	7,6
<i>G. roseum</i>	3,9	11,4	7,8
<i>S. sarcinaeforme</i>	30,0	24,2	27,0
Nombre d'isolats	310	334	644

NOTA: Les bactéries ont été isolées sur les milieux listés au tableau 4.

champignons et inoffensifs pour le *R. meliloti*, et les avons identifiés selon le Bergey's Manual (Buchanan et Gibbons 1974). Nous avons mesuré leur potentiel inhibiteur selon la méthode des couches superposées (Antoun et al. 1978b) qui tient compte, à la fois, de leur capacité à produire des substances antibiotiques et de leur pouvoir compétiteur pour l'utilisation des éléments nutritifs. À cet effet, nous avons fait croître les bactéries pendant 2 jours sur un agitateur rotatif à 25°C, dans des Erlenmeyer de 250 mL contenant 30 mL de bouillon de culture NBY de Schaad (1980). Nous en avons ensuite prélevé 0,2 mL que nous avons incorporé aseptiquement à 18 mL de gélose NBY, lors du remplissage des boîtes de Pétri. Les boîtes furent incubées à 25°C pendant 4 jours pour permettre une croissance bactérienne appréciable et furent ensuite recouvertes d'une couche de gélose. Nous avons alors prélevé des rondelles de 7 mm à la périphérie de colonies actives des champignons et les avons déposées au centre des boîtes de Pétri. Après 7 à 14 jours d'incubation (selon le champignon) à la température de la pièce et à l'obscurité, leur surface de croissance a été calculée en mesurant le diamètre de la colonie selon deux axes perpendiculaires. Des boîtes de Pétri ne contenant pas de bactéries dans le milieu NBY ont servi de témoin. Dans un but de comparaison, nous avons ajouté différentes doses de bénomyl au milieu de culture en remplacement des bactéries. Tous les essais furent effectués en trois répétitions avec les champignons suivants: le *V. albo-atrum*, le *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* et le *F. solani*.

### Résultats et discussion

#### Effet antifongique des bactéries

Nous avons obtenu 644 isolats de bactéries dont 310 provenaient du sol non rhizosphérique et 334 des racines de luzerne, de trèfle et de gourgane. Près de la moitié des isolats, soit 48,8%, n'ont inhibé aucun des sept champignons testés, alors que 51,2% en ont inhibé au moins un. Seulement 1,7% des bactéries ont eu un effet inhibiteur envers tous les champignons. Les pourcentages de bactéries inhibitrices envers chacun des champignons sont indiqués au tableau 2. Les champignons les moins affectés furent le *F. solani* et le *G. roseum* (inhibés par 7,6 et 7,8% des isolats bactériens, respectivement). Le *S. sarcinaeforme* s'est révélé le plus sensible (inhibé par 27,0% des bactéries testées). Antoun et al. (1978a) ont également observé qu'un pourcentage relativement élevé des actinomycètes du sol inhibaient ce champignon, alors que pour le *F. solani* et le *G. roseum*, les pourcentages d'isolats inhibiteurs étaient beaucoup plus faibles.

La rhizosphère des plantes échantillonnées a fourni, en général, plus de bactéries inhibitrices que le sol non rhizosphérique (tableau 2). Par exemple, 22,2% des isolats provenant de la rhizosphère ont inhibé le *V. albo-atrum* comparativement à seulement 12,9% des bactéries provenant du sol. Cette tendance marquée a été observée avec tous les champignons

TABLEAU 3. Pourcentages de bactéries inhibitrices pour chacun des champignons testés, selon le lieu d'échantillonnage

Champignon	SFG	SFT	LPL1	LPL2	LPT	NT	NL	SAL	SLL	SLT
<i>V. albo-atrum</i>	40,5	30,0	8,5	2,6	7,5	19,8	18,9	7,6	0	14,3
<i>F. culmorum</i>	39,3	43,0	17,0	0	1,9	19,8	30,2	12,6	0	14,3
<i>F. oxysporum</i>										
f. sp. <i>medicaginis</i>	30,9	35,0	2,1	0	1,9	14,6	3,8	8,4	3,1	19,0
<i>F. graminearum</i>	45,2	25,0	53,2	10,2	17,0	15,6	22,6	18,5	43,7	42,8
<i>F. solani</i>	29,8	10,0	2,1	0	0	5,2	3,8	4,2	0	4,8
<i>G. roseum</i>	8,3	27,0	2,1	0	1,9	3,1	9,4	4,2	0	4,8
<i>S. sarcinaeforme</i>	46,4	60,0	6,4	0	1,9	19,8	15,1	12,4	0	14,3
Nombre d'isolats	84	100	47	39	53	96	53	119	32	21

NOTA: Les lieux d'échantillonnage sont décrits dans le tableau 1.

TABLEAU 4. Pourcentages de bactéries inhibitrices pour chacun des champignons testés, selon le milieu de culture

Champignon	GNG	GNB	ESG	ESB	R
<i>V. albo-atrum</i>	20,8	24,2	11,1	11,7	15,4
<i>F. culmorum</i>	20,0	26,8	26,7	14,4	16,2
<i>F. oxysporum</i>					
f. sp. <i>medicaginis</i>	17,3	20,9	17,8	3,6	11,1
<i>F. graminearum</i>	31,8	27,4	36,7	14,4	13,7
<i>F. solani</i>	6,3	12,4	7,8	3,6	6,8
<i>G. roseum</i>	12,7	7,2	8,9	2,7	5,1
<i>S. sarcinaeforme</i>	32,9	34,0	24,4	17,1	20,5
Nombre d'isolats	173	153	90	111	117

NOTA: GNG, gélose nutritive (Nutrient agar, Difco) + pénicilline G; GNB, gélose nutritive + polymyxine B; ESG, milieu à base d'extrait de sol + pénicilline G; ESB, milieu à base d'extrait de sol + polymyxine B; R, milieu de Rennie (1981).

testés, sauf le *S. sarcinaeforme* pour lequel le pourcentage de bactéries inhibitrices fut légèrement supérieur dans le sol non rhizosphérique.

Les pourcentages de bactéries montrant un effet antifongique ont varié de façon très marquée d'un lieu d'échantillonnage à l'autre (tableau 3). Dans certains sols (LPL2, LPT, SLL), on a retrouvé des pourcentages d'isolats inhibiteurs très faibles ou même nuls envers la majorité des champignons testés, alors que d'autres (SFG, SFT) contenaient une forte proportion de bactéries inhibitrices.

Les pourcentages d'isolats inhibiteurs envers les champignons se sont révélés, en général, plus élevés dans le milieu ESG que dans le milieu ESB (tableau 4). Sur le milieu R, les pourcentages d'isolats inhibiteurs obtenus sont comparables à ceux observés sur le milieu ESB. Selon Parkinson et al. (1971), l'addition de pénicilline G favorise l'isolement de bactéries à Gram négatif en inhibant particulièrement celles à Gram positif, alors que la polymyxine B produit l'effet inverse. Notons cependant que dans le cas des milieux constitués de gélose nutritive (GNG et GNB), l'addition de l'un ou l'autre de ces antibiotiques n'a pas eu d'effet notable sur les pourcentages de bactéries inhibitrices isolées.

#### Effet des bactéries sur la croissance du *R. meliloti*

Des 166 isolats bactériens fortement antifongiques mis en présence de deux souches efficaces de *R. meliloti*, 7,2% ont inhibé la souche A2 et 21,1%, la souche S14. Ces résultats indiquent que la majorité des bactéries ayant des propriétés antifongiques n'inhibent pas la croissance du *R. meliloti*. Hattingh et Louw (1969) ont d'ailleurs rapporté que seulement 7,6% des 1091 bactéries qu'ils ont isolées des racines de trèfle

(*Trifolium repens* L., *T. pratense* L. et *T. subteraneum* L.), inhibaient le *R. trifolii* Dangeard. De même, Pugashetti et al. (1982) ont trouvé, pour différents échantillons de sol, des proportions de bactéries inhibitrices du *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) Jordan variant de 1 à 10%.

La proportion de bactéries inhibant le *R. meliloti* a été plus élevée avec les isolats obtenus de la rhizosphère qu'avec ceux du sol non rhizosphérique. Ainsi, 27,9% des bactéries de la rhizosphère ont inhibé la croissance de l'une ou l'autre des deux souches de *R. meliloti*, comparativement à seulement 9,1% pour celles provenant du sol. Smith et Miller (1974) ont aussi trouvé que les bactéries rhizosphériques avaient un effet inhibiteur plus marqué envers le *B. japonicum* que celles ne provenant pas de la rhizosphère.

#### Effet antifongique des bactéries incorporées dans le milieu de culture

Les 25 isolats bactériens utilisés dans cet essai ont été identifiés au genre. Ce sont des *Pseudomonas* spp. et des *Bacillus* spp. Incorporées dans le milieu de culture, certaines de ces bactéries ont réduit considérablement la croissance des champignons (tableau 5). Par exemple, dans le cas des *Bacillus* 547B et 733B, cette réduction a été de plus de 90%, ce qui est comparable à l'effet de 2 µg de bénomyl par millilitre de milieu de culture.

Certaines bactéries ont causé une réduction de la surface de croissance fongique sans que la densité du mycélium ne soit visiblement très différente de celle du témoin. C'est ce type d'inhibition qu'on observe avec le bénomyl. D'autres, par contre, surtout les *Pseudomonas*, ont provoqué chez les champignons une croissance aérienne semblable à celle obtenue sur gélose. Il est possible que ce type d'inhibition soit causé par l'épuisement ou l'indisponibilité d'un ou de plusieurs éléments nutritifs essentiels à la croissance des champignons. En effet, au cours d'essais préliminaires, nous avons remarqué qu'en diminuant la concentration des éléments nutritifs dans le milieu de culture, on observait une diminution de la densité du mycélium plutôt qu'une réduction de la croissance radiale.

Selon Baker et Cook (1982), les essais d'antagonisme effectués en boîtes de Pétri ne permettent généralement pas de déceler d'autres types d'inhibitions que celles causées par les substances antibiotiques produites dans le milieu de culture. Par contre, la méthode que nous avons utilisée permet de mesurer et de comparer le potentiel inhibiteur des bactéries en tenant compte, à la fois, de leur capacité à produire des substances antibiotiques (volatiles ou non) et de leur pouvoir compétiteur pour l'utilisation des éléments nutritifs. Rosenzweig et Stotzky (1980) ont démontré que l'inhibition des champignons par les

TABLEAU 5. Effet de la présence de bactéries inhibitrices ou de bénomyl dans le milieu de culture sur la croissance radiale des champignons

Traitement	Surface de croissance par rapport au témoin (%)*		
	<i>V. albo-atrum</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>medicaginis</i>	<i>F. solani</i>
Témoin (sans bactérie ni bénomyl)	100 (2808)†	100 (3301)	100 (2696)
Bénomyl			
0,1 µg m.a./mL	100	97	88
0,5 µg m.a./mL	15	93	99
1,0 µg m.a./mL	0	91	83
2,0 µg m.a./mL	0	18	6
Gélose (1,5%)	Tr	Tr	Tr
<i>Pseudomonas</i> sp. (n°)			
46	Tr	Tr	Tr
367	96	90	85
713	44	24	5
733A	Tr	Tr	Tr
733C	Tr	Tr	Tr
733D	Tr	Tr	Tr
734	Tr	29	6
<i>Bacillus</i> sp. (n°)			
355B	45	79	84
364	31	49	32
370	83	85	84
373	49	42	46
511	Tr	10	Tr
515	Tr	29	Tr
540	11	52	41
542	46	83	87
547B	6	3	6
549	96	84	82
550	59	82	79
554	28	62	14
555	22	58	4
569	25	23	6
607	41	79	86
670	28	79	68
733B	9	11	5
737	42	24	6

NOTA: m.a., matière active; Tr, trace (mycélium aérien).

\* Surface de la rondelle: 38,5 mm<sup>2</sup>.

† Les valeurs entre parenthèses indiquent la surface de croissance en millimètres carrés.

bactéries, dans le sol, peut résulter de la compétition nutritive, principalement pour le carbone organique disponible, et que le degré d'inhibition est fonction du taux d'utilisation du glucose par les bactéries. La compétition pour le fer peut également être à l'origine de l'inhibition des champignons phytopathogènes dans la rhizosphère (Lockwood et Schippers 1984; Misaghi et al. 1982; Vandenberg et al. 1983). En effet, certaines bactéries, principalement du genre *Pseudomonas*, produisent des substances (sidérophores) qui chélatent le fer et le rendent inaccessible aux autres micro-organismes (Kloepper et al. 1980; Schroth et Hancock 1982; Suslow 1982). Les travaux de Moore-Landecker et Stotzky (1972, 1973) ont, d'autre part, démontré que certaines bactéries produisent des substances antibiotiques volatiles qui inhibent fortement la croissance et la sporulation de plusieurs champignons phytopathogènes et peuvent induire des anomalies morphologiques importantes. Il est donc possible que ce mécanisme soit également responsable de certaines des inhibitions observées.

## Conclusion

Les pourcentages de bactéries telluriques montrant un effet antifongique sur gélose ont varié de 7,6 à 27,0% selon le champignon testé. En général, la rhizosphère contient une plus grande proportion de bactéries inhibitrices que le sol non rhizosphérique. Il est bien connu que les bactéries rhizosphériques forment un groupe biochimiquement plus actif et sont dans une situation de compétition plus intense que celles du sol (Alexander 1977). La majorité des bactéries fortement inhibitrices de champignons n'ont pas eu d'effet sur le *R. meliloti*. La souche S14 s'est toutefois révélée plus sensible à la présence des bactéries que la souche A2.

Lorsqu'incorporées dans le milieu selon la méthode des couches superposées, certaines bactéries inoffensives pour le *R. meliloti* ont causé une inhibition comparable à celle causée par 2 µg de bénomyl par millilitre de milieu de culture. Ces inhibitions pourraient être le résultat de la compétition nutritive

ou de la production de substances antibiotiques ou de sidérophores.

Lors d'essais en serre, la plupart des 25 bactéries inoculées à des graines de luzerne n'ont pas eu d'effet néfaste sur la croissance de la plante en sol stérilisé (S. Gagné, H. Antoun et C. Richard, résultats non publiés). D'autres essais devront toutefois être effectués afin d'établir leur potentiel comme agent protecteur de la luzerne contre les champignons pathogènes du sol.

### Remerciements

Ce travail a été financé par le Conseil des recherches et services agricoles du Québec et par le Fonds pour la formation de chercheurs et l'aide à la recherche.

- ALEXANDER, M. 1977. Introduction to soil microbiology. 2<sup>e</sup> éd. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- ANGLE, J. S., B. K. PUGASHETTI et G. H. WAGNER. 1981. Fungal effects on *Rhizobium japonicum* — soybean symbiosis. *Agron. J.* **73**: 301–306.
- ANTOUN, H., L. M. BORDELEAU, C. GAGNON et R. A. LACHANCE. 1978a. Actinomycètes antagonistes de champignons et n'affectant pas le *Rhizobium meliloti*. *Can. J. Microbiol.* **24**: 558–562.
- 1978b. Effet du dextrose et de l'extrait de levure sur l'interaction entre deux espèces de *Rhizobium* et quelques champignons. *Phytoprotection*, **59**: 85–91.
- BAKER, K. F., et R. J. COOK. 1982. Biological control of plant pathogens. 2<sup>e</sup> éd. American Phytopathological Society, St-Paul, MN.
- BUCHANAN, R. E., et N. E. GIBBONS (Éditeurs). 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8<sup>e</sup> éd. Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD.
- CHHONKAR, P. K., et N. S. SUBBA-RAO. 1966. Fungi associated with legume root nodules and their effect on rhizobia. *Can. J. Microbiol.* **12**: 1253–1261.
- COOK, R. J., et K. F. BAKER. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. American Phytopathological Society, St-Paul, MN.
- HATTINGH, M. J., et H. A. LOUW. 1969. Clover rhizoplane bacteria antagonistic to *Rhizobium trifolii*. *Can. J. Microbiol.* **15**: 361–364.
- KLOPPER, J. W., J. LEONG, M. TEINTZE et M. N. SCHROTH. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature (London)*, **286**: 885–886.
- KUSH, A. K. 1982. Interaction between symbiosis and root pathogenesis in green gram (*Vigna radiata* L. Welczek). *Plant Soil*, **65**: 133–135.
- LOCKWOOD, J. L., et B. SCHIPPERS. 1984. Evaluation of siderophores as a factor in soil mycostasis. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **82**: 589–594.
- MCKEAGUE, J. A. (Éditeur). 1978. Manuel de méthodes d'échantonnage et d'analyse des sols. Société canadienne de la science du sol.
- MISAGHI, I. J., L. J. STOWELL, R. G. GROGAN et L. C. SPEARMAN. 1982. Fungistatic activity of water-soluble fluorescent pigments of fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, **72**: 33–36.
- MOORE-LANDECKER, E., et G. STOTZKY. 1972. Inhibition of fungal growth and sporulation by volatile metabolites from bacteria. *Can. J. Microbiol.* **18**: 957–962.
- 1973. Morphological abnormalities of fungi induced by volatile microbial metabolites. *Mycologia*, **65**: 519–530.
- PARKINSON, D., T. R. G. GRAY et S. T. WILLIAMS. 1971. Methods for studying the ecology of soil micro-organisms. IBP Handbook, n° 19. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford.
- PATEL, J. J. 1974. Antagonism of actinomycetes against rhizobia. *Plant Soil*, **41**: 395–402.
- PATEL, J. J., et M. E. BROWN. 1969. Interactions of azotobacter with rhizosphere and root-surface microflora. *Plant Soil*, **31**: 273–281.
- PUGASHETTI, B. K., J. S. ANGLE et G. H. WAGNER. 1982. Soil microorganisms antagonistic towards *Rhizobium japonicum*. *Soil Biol. Biochem.* **14**: 45–49.
- RENNIE, R. J. 1981. A single medium for the isolation of acetylene-reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Can. J. Microbiol.* **27**: 8–14.
- ROSENZWEIG, W. D., et G. STOTZKY. 1980. Influence of environmental factors on antagonism of fungi by bacteria in soil: nutrient levels. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**: 354–360.
- SCHAAD, N. W. 1980. Initial identification of common genera. Dans *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. Éditeur: N. W. Schaad. American Phytopathological Society, St-Paul, MN. pp. 1–11.
- SCHROTH, M. N., et J. G. HANCOCK. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science (Washington, D. C.)*, **216**: 1376–1381.
- SMITH, R. S., et R. H. MILLER. 1974. Interactions between *Rhizobium japonicum* and soybean rhizosphere bacteria. *Agron. J.* **66**: 564–567.
- SUSLOW, T. V. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. Dans *Phytopathogenic prokaryotes*. Tome 1. Éditeurs: M. S. Mount et G. H. Lacy. Academic Press, Inc., New York. pp. 187–233.
- VANDENBERGH, P. A., C. F. GONZALEZ, A. M. WRIGHT et B. S. KUNKA. 1983. Iron-chelating compounds produced by soil pseudomonads: correlation with fungal growth inhibition. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**: 128–132.
- VIDAVER, A. K. 1982. Biological control of plant pathogens with prokaryotes. Dans *Phytopathogenic prokaryotes*. Tome 2. Éditeurs: M. S. Mount et G. H. Lacy. Academic Press, Inc., New York. pp. 387–397.
- VINCENT, J. M. 1970. A manual for the practical study of root nodule bacteria. IBP Handbook, n° 15. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford.