

Pouvoir pathogène des bactéries endoracinaires de la luzerne

Serge Gagné, Claude Richard et Hani Antoun

Département des sols, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation,
Université Laval, Québec, Québec G1K 7P4, et (C.R.)
Station de recherches, Agriculture Canada, 2560, boul. Hochelaga, Sainte-Foy, Québec, G1V 2J3.
Contribution no. 358.

Adresse actuelle de S. Gagné : Centre de recherche Premier, Les Tourbières Premier Ltée,
454, chemin Témiscouata, C.P. 2600, Rivière-du-Loup, Québec G5R 4C9.

Accepté 1988 12 05

On isole fréquemment des bactéries à partir du xylème de racines de luzerne apparemment saines. Nous avons évalué la capacité de 33 isolats de ces bactéries endoracinaires à dégrader les tissus végétaux en les inoculant à des morceaux de pomme de terre, de carotte et de laitue. Environ la moitié des bactéries ont provoqué des réactions pathologiques sur l'un ou l'autre des tissus testés, mais, en général, les symptômes ont été peu marqués et se sont limités à de légères nécroses ou pourritures. Nous avons également vérifié sur la luzerne le pouvoir pathogène de 25 bactéries endoracinaires. Un des isolats a provoqué une diminution importante de la levée des plantules, du développement racinaire et du rendement. Dans certains cas, les bactéries ont provoqué l'apparition de stries brunâtres dans les éléments vasculaires. D'autre part, le *Pseudomonas fluorescens* CHRAS-3 a augmenté significativement le rendement et la masse racinaire des plantes de 19 et 22% respectivement. Cependant, les autres bactéries endoracinaires testées n'ont pas eu d'effet statistiquement significatif sur le rendement, la masse racinaire ou encore sur l'indice de brunissement des racines de la luzerne.

Gagné, S., C. Richard, et H. Antoun. 1989. Pouvoir pathogène des bactéries endoracinaires de la luzerne. Can. J. Plant Pathol. 11: 22-27.

Bacteria are constantly present in the root xylem of healthy alfalfa plants. We determined the ability of 33 isolates of xylem-residing bacteria to rot potato, carrot, and lettuce tissues. About half of the bacteria produced pathological reactions on at least one of the inoculated tissues, but in most cases these reactions were limited to slight necrosis or rot and the bacteria were weak pathogens. We also determined the pathogenicity of 25 xylem-residing bacteria on alfalfa plants. One of the isolates decreased significantly the emergence of seedlings, root development, and plant yield. In certain cases, bacteria produced brownish streaks in the vascular elements. On the other hand, *Pseudomonas fluorescens* CHRAS-3 increased significantly yield and root weight of plants by 19 and 22%, respectively. However, the other xylem-residing bacteria tested had no statistically significant effect on yield, root weight, or root vascular browning of alfalfa.

Chez la luzerne (*Medicago sativa* L.), Sandford (1948), Richard (1981) et Gagné et al. (1987) ont démontré la présence de bactéries dans les racines des plantes saines. D'autres auteurs ont également rapporté leur présence à l'intérieur des graines (Evans et al. 1972; Gulash et al. 1984; Handelsman et Brill 1985; Mundt et Hinkle 1976). Lukezic (1979) a aussi isolé de racines saines de luzerne cultivée en serre une espèce bactérienne qu'il a identifié comme étant le *Pseudomonas corrugata* Roberts et Scarlett. L'inoculation de cette bactérie a causé des nécroses localisées sur les tiges et les racines de la luzerne de même qu'une pourriture des tissus d'oignon et des lésions nécrotiques sur les feuilles de laitue.

En Pennsylvanie, différentes bactéries ont été isolées des racines de plantes de luzerne montrant des symptômes de flétrissement ainsi qu'une coloration brunâtre du cylindre vasculaire. Parmi les bactéries régulièrement isolées ayant un effet pathologique sur la luzerne, on a identifié le *P. marginalis* (Brown) Stevens (Shinde et Lukezic

1974a), le *Serratia marcescens* Bizio (Lukezic et al. 1982) décrit en premier lieu comme l'*E. amylovora* (Burrill) Winslow (Shinde et Lukezic 1974b), le *P. viridiflava* (Burkholder) Dowson (Lukezic et al. 1983) et une bactérie du genre *Flexibacter* (Lukezic et al. 1981). Ces organismes semblent être en association constante avec des *Fusarium* spp. dans les racines des plantes malades, et Shinde et Lukezic (1974c) ont observé un effet pathologique additif lorsque les bactéries étaient inoculées en combinaisons avec le *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *medicaginis* (Weimer) Snyder et Hans. ou avec le *F. tricinctum* (Corda) Sacc., ce qui indique que ces bactéries ont un rôle défini dans le développement de la pourriture fusarienne. Les travaux de Turner et Van Alfen (1981, 1983) ont également démontré qu'en Utah, des bactéries étaient fréquemment associées avec des *Fusarium* spp. dans les racines et les collets de la luzerne montrant des symptômes de pourriture et qu'elles étaient capables de produire ce brunissement des racines, tout comme le *F. solani* (Mart.) Sacc. d'ailleurs.

Puipene (1971) a aussi rapporté qu'en U.R.S.S., des bactéries isolées de racines de luzerne malades étaient pathogènes lorsque les plantes étaient réinfectées artificiellement. Il a isolé le *P. radiciperda* (Zhavoronkoya) Savulescu, l'*E. carotovora* (Jones) Bergey et le *P. fluorescens* (Trevisan) Migula dans respectivement 35%, 24% et 10% des échantillons testés.

Le sainfoin (*Onobrychis viciaefolia* Scop.) est aussi affecté par une détérioration de la racine et du collet semblable à ce qu'on observe chez la luzerne. Alors que les premières investigations laissaient croire que le *F. solani* était principalement responsable de cette maladie (Sears et al. 1975), Gaudet et al. (1980) ont montré que certaines bactéries dont le *P. syringae* van Hall, le *P. marginalis* et l'*E. amylovora*, isolées régulièrement de plantes malades, produisaient les symptômes typiques de la maladie lorsqu'elles étaient réinoculées à des plantes en serre. Ces observations permettent de croire que les bactéries jouent un rôle prépondérant dans le développement de la pourriture des racines et du collet.

Ces différents travaux démontrent que les bactéries associées au complexe du pourridié fusarien ont effectivement un effet pathologique lorsqu'on les inocule à des plantes saines. Nous avons donc vérifié si différents isolats bactériens provenant de racines ne montrant pas de symptômes de pourriture étaient potentiellement phytopathogènes en les inoculant à des tissus végétaux. On a également déterminé si les bactéries endoracinaires avaient un effet sur l'état sanitaire des racines et la croissance de la luzerne.

Matériel et méthodes

Isolement et conservation des bactéries. Nous avons isolé toutes les bactéries utilisées (sauf le *P. viridiflava* 531) à partir du xylème de racines de luzerne saines sur milieu NAG (Nutrient agar, Difco + 2,5% de glycérine) ou milieu NBY (Schaad 1980) et les avons conservées à 4°C sur ces mêmes milieux ou à -20°C dans une solution de sels minéraux et glycérine. La souche de *P. viridiflava* 531 provient de la collection du Dr F.L. Lukezic, Pennsylvania State University, et fut isolée de racines de luzerne montrant des symptômes de brunissement.

Réaction pathologique sur des tissus végétaux. Afin d'avoir une idée du potentiel phytopathogène des bactéries du xylème, nous avons déterminé la capacité de 33 isolats différents de bactéries endoracinaires à dégrader les tissus de tubercules de pommes de terre, de carottes et de feuilles de laitue. Les bactéries testées furent choisis arbitrairement parmi les groupes morphologiquement différents.

Les tubercules et les carottes ont été lavés à l'eau savonneuse, rincés et asséchés, puis désinfectés en surface dans de l'alcool éthylique à 70%, et flambés. On en a prélevé aseptiquement des tranches de 5-8 mm d'épaisseur qu'on a déposées dans des boîtes de Petri contenant 10 mL d'eau distillée stérile et on a inoculé les bactéries au centre des tranches. On a aussi inoculé les bactéries sur la face abaxiale de morceaux de feuilles de laitue placés également dans des boîtes de Petri contenant de l'eau distillée stérile. Les boîtes furent incubées à 25°C à l'obscurité pendant 48 h, après quoi on a noté la présence de pourriture molle ou de nécroses (- = aucun symptôme; + = légère pourriture ou nécrose; ++ = tissus complètement pourris ou nécroses importantes).

Pouvoir pathogène envers la luzerne. Les repiquages successifs des microorganismes peuvent entraîner la perte de leur pouvoir pathogène ou infectieux. Dans cette expérience, nous avons donc vérifié, sur la luzerne, l'effet de bactéries endoracinaires nouvellement isolées pour éviter qu'elles aient perdu leurs propriétés originales. Certaines des bactéries testées ont été identifiées selon les critères utilisés pour les *Pseudomonas* non pathogènes (Stolp et Gadkari 1981) et selon le *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Lelliott et Dickey 1984). On a aussi utilisé le système API-NFT pour les bactéries Gram-négatif non fermentatives (DMS Laboratories, Dart Mill, Flemington, NJ). Des graines de luzerne cv. Saranac ont été désinfectées en surface (2 min dans de l'alcool éthylique à 95%, 10 min dans de l'hypochlorite de sodium à 6% et plusieurs rinçages avec de l'eau distillée stérile) et semées à raison de 12 graines par pot de 10 cm de diamètre dans un mélange terreau-vermiculite (5:1) stérilisé. On a effectué une première inoculation des bactéries au moment du semis. À cet effet, on a fait croître pendant 5 jours à 18°C sur milieu NAG les 25 bactéries à tester. Les cellules furent recueillies et suspendues dans du tampon phosphate (0,01 M, pH 7) stérile. On a inoculé chaque pot en versant directement sur le lit de semences 20 mL de suspension bactérienne contenant 10¹¹ cellules par mL. Les pots témoins ont reçu la même quantité de tampon phosphate. Dix jours après le semis, les plantules furent éclaircies à cinq par pot et on a ajouté à chaque pot 10 mL d'une suspension de la souche Balsac du *Rhizobium meliloti* Dangeard contenant 10⁹ cellules par mL. Après 5 semaines en chambre de croissance (photopériode de 16 h par jour avec une intensité d'éclairage de 400 µE.sec⁻¹.m⁻² et une température de 20°C le jour et 15°C la nuit), on a coupé les plantes et inoculé les chaumes en y déposant avec un écouvillon stérile

Tableau 1. Effet de divers isolats de bactéries endoracinaires inoculés à des morceaux de pomme de terre, de carotte, et de laitue.

Isolat (No)	Pomme de terre	Carotte	Laitue	Isolat (No)	Pomme de terre	Carotte	Laitue
470	-	-	-	681	-	-	-
471	-	-	-	849	-	-	-
472	-	+	-	879	-	-	-
473	-	-	+	901	++	-	+
474	+	-	-	963	-	-	-
479	+	-	+	1115	++	-	++
480	-	-	-	B1	-	-	-
485	+	-	-	B2	-	-	+
486	-	-	-	B3	-	-	-
488	++	-	++	B4	-	-	+
510	+	-	-	B5	-	-	+
520	+	-	-	B6	-	-	-
536	-	-	-	B8	-	+	-
637	-	-	-	B9	-	+	-
643	-	-	-	B10	-	-	-
645	+	-	-	B11	-	-	-
678	+	+	-				

Note: - = aucun symptôme; + = légère pourriture ou nécrose; ++ = tissus complètement pourris ou nécroses importantes.

des bactéries cultivées pendant 6 jours sur milieu NAG à 18°C. Les pots furent ensuite recouverts de sacs de polyéthylène transparent pendant 5 jours afin de restreindre les risques de contamination et également pour accroître le niveau d'humidité et ainsi favoriser l'infection des plantes.

Après 4 semaines de repousse, on a effectué une deuxième coupe et les racines furent lavées et coupées au niveau du collet. On a évalué leur état sanitaire en déterminant leur indice de brunissement selon l'échelle Horsfall-Barratt (Horsfall et Cowling 1978). On a par la suite mesuré le poids des racines en matière sèche. Le dispositif expérimental comprenait 10 blocs complets aléatoires et 26 traitements. L'analyse de la variance a été effectuée et les moyennes des traitements furent comparées au témoin selon le test du LSD.

Résultats

Réaction pathologique sur des tissus végétaux.

L'effet des bactéries sur les tissus végétaux est rapporté dans le tableau 1. Parmi les isolats testés, 17 (51%) ont provoqué des nécroses ou une pourriture des tissus végétaux. Les isolats 488, 901 et 1115 ont provoqué un pourrissement complet des tranches de pomme de terre et des nécroses importantes sur les feuilles de laitue. Quatre isolats seulement ont produit une légère pourriture sur les tranches de carotte.

Pouvoir pathogène envers la luzerne. Un des isolats (15) a provoqué un effet inhibiteur très marqué sur la germination de telle sorte que dans

certains pots, aucune plantule n'a survécu. Ceci explique que les rendements et la masse racinaire soient très faibles pour ce traitement (tableau 2). Chez les plantes ayant survécu, on a observé un indice de brunissement des racines relativement élevé comparativement aux autres traitements. Ce brunissement apparaît sous forme de stries partant du collet et descendant dans la racine en suivant les vaisseaux du xylème. L'isolat 15 a été exclu de l'analyse de variance du fait que le nombre de plantes par pot n'était pas constant et était nul dans certains cas.

Parmi les autres bactéries testées, cinq isolats ont provoqué des augmentations significatives ($P \leq 0,05$) de l'indice de brunissement des racines par rapport au témoin, mais dans tous les cas, les symptômes de brunissement ont été peu prononcés et n'ont pas affecté les rendements.

Le *P. fluorescens* CHRAS-3 a augmenté significativement ($P \leq 0,05$) le rendement des plantes en matière sèche à la première coupe (+22%). Par contre, les augmentations de 20% à la deuxième coupe et de 21% au total ne sont pas statistiquement significatives ($P > 0,05$). Cette bactérie a également provoqué une augmentation significative ($P \leq 0,05$) de la masse racinaire de 19% supérieure au traitement témoin. D'autre part, les rendements les plus faibles ont été observés chez les plantes inoculées avec l'isolat LPS-2-3 (*P. syringae*), accusant une baisse de 11% par rapport au témoin. Cette différence n'est toutefois pas significative ($P > 0,05$). De plus, aucune bactérie n'a diminué significativement la masse racinaire.

Tableau 2. Effet des bactéries endoracinaires sur l'état sanitaire des racines, la masse racinaire et les rendements de la luzerne

Traitement	Indice de brunissement des racines†	Masse racinaire (g mat. sèche/pot)	Rendement (g mat. sèche/pot)		
			1 ^{re} coupe	2 ^e coupe	Total
Isolat no.					
I2	0,04	1,60	1,29	2,03	3,32
I5††	3,39	0,50	0,71	0,80	1,51
I8	0	1,40	1,41	2,11	3,52
I10	0,04	1,59	1,18	2,10	3,28
I14	0,06	1,65	1,30	1,98	3,28
I17	0,42*	1,84	1,23	2,15	3,37
I18	0,62*	1,75	1,26	2,14	3,41
I20	0,16	1,91	1,29	2,13	3,42
I24	0,08	1,92	1,41	2,04	3,45
I26	0,22	1,75	1,46	2,35	3,82
I27	0,50*	1,68	1,38	2,09	3,47
I29	0,06	1,68	1,25	1,91	3,16
I38	0,16	1,69	1,32	1,95	3,27
I41	0,46*	1,77	1,42	2,15	3,57
<i>P. syringae</i>					
LPS-2-3	0	1,68	1,20	1,72	2,93
LPI-2-1	0,38*	1,48	1,37	2,00	3,37
CHRAS-1	0,12	1,91	1,44	2,36	3,80
488	0,30	1,58	1,35	2,09	3,44
<i>E. herbicola</i>					
B4	0,06	1,89	1,46	1,96	3,42
NORAI-1	0,30	1,88	1,58	2,37	3,95
<i>P. facilis</i>					
LPI-5-3	0,06	1,80	1,44	2,18	3,62
<i>P. fluorescens</i>					
CHRAS-4	0	1,74	1,44	1,88	3,32
CHRAS-3	0,32	1,95*	1,65*	2,33	3,98
<i>P. putida</i>					
LPS-4-3	0,08	1,73	1,52	2,09	3,61
<i>P. viridiflava</i>					
531	0,20	1,53	1,37	1,92	3,29
Témoin	0,02	1,64	1,35	1,94	3,29

†Échelle Horsfall-Barratt : 0 = sain, 11 = complètement nécrosé.

††Traitement exclu de l'analyse de variance (voir texte).

Bactérie provenant de la collection du Dr F.L. Lukezic, Pennsylvania State University, PA.

*Moyenne significativement différente du témoin selon le test LSD ($P = 0,05$).

Discussion et conclusion

Le test effectué sur les tissus végétaux permet de caractériser la population de bactéries endoracinaires selon leur potentiel comme agent pathogène. Seulement trois isolats (9%) ont produit des réactions pathologiques importantes sur les tissus alors que dans les autres cas, les bactéries n'ont eu aucun effet ou ont provoqué des symptômes très peu marqués. Il semble donc que la majorité des bactéries endoracinaires sont des saprophytes ou ont un faible pouvoir pathogène. Ces résultats sont comparables à ceux de Gardner et al. (1982) qui ont rapporté qu'environ 5% des isolats provenant du xylème des racines d'agrumes étaient potentiellement phytopathogènes.

Sur la luzerne, parmi les 24 bactéries testées, seul l'isolat I5 a produit un effet pathologique très

marqué, causant une réduction du taux de levée des plantules ainsi qu'un brunissement des éléments vasculaires. Ce brunissement des vaisseaux est d'ailleurs très fréquent dans les racines des plantes cultivées au champ et constitue probablement la première manifestation pathologique conduisant aux symptômes du pourridié fusarien. Il est donc probable que certaines bactéries endoracinaires contribuent à la longue à détériorer les racines des plantes dans les luzernières. On sait que plusieurs espèces de champignons sont associés au pourridié fusarien (Richard et al. 1980) mais leur interaction avec les populations bactériennes reste à déterminer ainsi que le rôle respectif de ces organismes.

Le *P. viridiflava* 531, isolé de racines de luzerne montrant des symptômes de pourriture, n'a pas provoqué d'effet pathologique sur les plantes lors de cet essai alors que Lukezic et al. (1983) avaient

démonstré son pouvoir pathogène sur la luzerne, le trèfle rouge (*Trifolium pratense* L.) et le lotier corniculé (*Lotus corniculatus* L.). Il est probable que les méthodes d'inoculation différentes qui ont été utilisées expliquent en partie ces différences dans les résultats obtenus. Dans cette expérience nous n'avons pas infligé de blessures aux racines et les bactéries furent inoculées dans le sol au moment du semis et sur les chaumes lors de la coupe. Si cette méthode d'inoculation permet effectivement à certaines bactéries de coloniser le xylème racinaire tel que démontré par Gagné et al. (1987), elle ne favorise sans doute pas autant l'infection par les organismes moins virulents et peu agressifs que lorsqu'on provoque des lésions sur les racines. Le *P. viridiflava* est reconnu comme un organisme pathogène opportuniste et il est possible que son effet délétère soit conditionnel à un affaiblissement préalable des tissus racinaires causé par des blessures. De plus, Lukezic et al. (1983) ont mentionné la difficulté à maintenir la virulence de cette bactérie et il est possible que son pouvoir pathogène eut été amoindri au moment où nous avons réalisé l'expérience.

Gardner et al. (1984, 1985) ont rapporté que certaines rhizobactéries (*P. putida* (Trevisan) Migula et *P. fluorescens*) isolées des racines d'agrumes stimulaient la croissance des plantules. Nous avons observé un effet semblable sur la luzerne avec le *P. fluorescens* CHRAS-3. Il a été démontré que l'effet bénéfique des rhizobactéries pouvait être vraisemblablement dû à la suppression des organismes pathogènes mineurs présents sur les racines des plantes ou encore à la production d'hormones (Burr et Caesar 1984, Schroth et Hancock 1982, Schroth et Weinhold 1986). D'autres études devront être effectuées en vue de sélectionner des bactéries endoracinaires bénéfiques et de déterminer leur effet en présence d'organismes pathogènes de la luzerne.

La majorité des bactéries testées n'ont pas eu d'effet visible sur la croissance de la luzerne et sur l'indice de brunissement des racines. On peut donc affirmer que les bactéries présentes dans les racines de la luzerne ont des caractéristiques très semblables à celles qu'on retrouve en général dans la rhizosphère des plantes (rhizobactéries) qui peuvent être classées en délétères, bénéfiques ou neutres selon leur effet sur la plante. La dernière catégorie englobe la majorité des rhizobactéries alors que celles qui sont bénéfiques comptent pour seulement 2 à 5% (Burr et Caesar 1984). Il semble donc qu'on retrouve ces mêmes catégories et dans des proportions semblables parmi les bactéries endoracinaires de la luzerne.

Ce travail a été financé par le Fonds F.C.A.R. et par le Conseil de la recherche en pêche et agro-alimentaire du Québec.

- Burr, T.J., et A. Caesar. 1984. Beneficial plant bacteria. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 2: 1-20.
- Evans, H.J., N.E.R. Campbell, et S. Hill. 1972. Asymbiotic nitrogen-fixing bacteria from the surfaces of nodules and roots of legumes. *Can. J. Microbiol.* 18: 13-21.
- Gagné, S., C. Richard, H. Rousseau, et H. Antoun. 1987. Xylem-residing bacteria in alfalfa roots. *Can. J. Microbiol.* 33: 996-1000.
- Gardner, J.M., J.L. Chandler, et A.W. Feldman. 1984. Growth promotion and inhibition by antibiotic-producing fluorescent pseudomonads on citrus roots. *Plant Soil* 77: 103-113.
- Gardner, J.M., J.L. Chandler, et A.W. Feldman. 1985. Growth response and vascular plugging of citrus inoculated with rhizobacteria and xylem-resident bacteria. *Plant Soil* 86: 333-345.
- Gardner, J.M., A.W. Feldman, et R.M. Zablotowicz. 1982. Identity and behavior of xylem-residing bacteria in rough lemon roots of Florida citrus trees. *Appl. Env. Microbiol.* 43: 1335-1342.
- Gaudet, D.A., D.C. Sands, D.E. Mathre, et R.L. Ditterline. 1980. The role of bacteria in the root and crown rot complex of irrigated sainfoin in Montana. *Phytopathology* 70: 161-167.
- Gulash, M., P. Ames, R.C. Larosilière, et K. Bergman. 1984. Rhizobia are attracted to localized sites on legume roots. *Appl. Env. Microbiol.* 48: 149-152.
- Handelsman, J., et W.J. Brill. 1985. *Erwinia herbicola* isolates from alfalfa plants may play a role in nodulation of alfalfa by *Rhizobium meliloti*. *Appl. Env. Microbiol.* 49: 818-821.
- Horsfall, J.G., et E.B. Cowling. 1978. Pathometry: the measurement of plant disease. Pages 119-136 in J.G. Horsfall, et E.B. Cowling, réd., *Plant disease, an advanced treatise*. Academic Press, Inc., New York.
- Lelliott, R.A., et R.S. Dickey. 1984. *Erwinia*. Pages 469-476 in N.R. Krieg, (réd.), *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Lukezic, F.L. 1979. *Pseudomonas corrugata*, a pathogen of tomato, isolated from symptomless alfalfa roots. *Phytopathology* 69: 27-31.
- Lukezic, F.L., K.T. Leath, et R.G. Levine. 1983. *Pseudomonas viridiflava* associated with root and crown rot of alfalfa and wilt of birdsfoot trefoil. *Plant Dis.* 67: 808-811.
- Lukezic, F.L., R.G. Levine, et M.G. Bookbinder. 1981. *Flexibacter* associated with root rot of alfalfa. *Phytopathology* 71: 238 (Résumé).
- Lukezic, F.L., D.C. Hildebrand, M.N. Schroth, et P.A. Shinde. 1982. Association of *Serratia marcescens* with crown rot of alfalfa in Pennsylvania. *Phytopathology* 72: 714-718.
- Mundt, J.O., et N.F. Hinkle. 1976. Bacteria within ovules and seeds. *Appl. Env. Microbiol.* 32: 694-698.
- Puipene, I.K. 1971. [Specific composition of the pathogens of root bacteriosis of lucerne in Lithuania.](en russe). *Liet. TSR Mokslu Acad. Darb. Ser. C.* 55: 75-81. (Résumé dans *Rev. Plant Pathol.* 54: 176.)
- Richard, C. 1981. Examen de la microflore endoracinaire de la luzerne en fonction de l'âge, de l'état sanitaire, et de l'emplacement dans la racine. *Phytoprotection* 62: 67-78.
- Richard, C., R. Michaud, A. Frève, et C. Gagnon. 1980. Selection for root and crown rot resistance in alfalfa. *Crop Sci.* 20: 691-695.
- Sandford, G.B. 1948. The occurrence of bacteria in normal potato plants and legumes. *Sci. Agric.* 28: 21-25.

- Schaad, N.W.** 1980. Initial identification of common genera. Pages 1-11 in N.W. Schaad, (réd.), Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Schroth, M.N., et J.G. Hancock.** 1982. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216: 1376-1381.
- Schroth, M.N., et A.R. Weinhold.** 1986. Root-colonizing bacteria and plant health. *HortScience* 21: 1295-1298.
- Sears, R.G., R.L. Ditterline et D.E. Mathre.** 1975. Crown and root rotting organisms affecting sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) in Montana. *Plant Dis. Rep.* 59: 423-426.
- Shinde, P.A., et F.L. Lukezic.** 1974a. Isolation, pathogenicity and characterization of fluorescent pseudomonads associated with discolored alfalfa roots. *Phytopathology* 64: 865-871.
- Shinde, P.A., et F.L. Lukezic.** 1974b. Characterization and serological comparisons of bacteria of the genus *Erwinia* associated with discolored alfalfa roots. *Phytopathology* 64: 871-876.
- Shinde, P.A., et F.L. Lukezic.** 1974c. Interactions of *Pseudomonas marginalis* var. *alfalfae*, *Erwinia amylovora* var. *alfalfae* and an unidentified bacterium (WB-3) with certain root pathogens of alfalfa. *Phytopathology* 64: 1169-1173.
- Stolp, H., et D. Gadkari.** 1981. Non-pathogenic members of the genus *Pseudomonas*. Pages 719-741 in M.P. Starr, H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, et H.G. Schlegel, (réd.), *The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria.* Springer-Verlag, Berlin.
- Turner, V., et N.K. Van Alfen.** 1981. Role of bacteria in crown rot of alfalfa in Utah. *Phytopathology* 71: 109 (Résumé).
- Turner, V., et N.K. Van Alfen.** 1983. Crown rot of alfalfa in Utah. *Phytopathology* 73: 1333-1337.