



Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers. II. Chélation du fer et répartition taxonomique chez les *Pseudomonas* fluorescents

M. Mamoun, J.M. Olivier

► To cite this version:

M. Mamoun, J.M. Olivier. Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers. II. Chélation du fer et répartition taxonomique chez les *Pseudomonas* fluorescents. *Agronomie*, EDP Sciences, 1989, 9 (4), pp.345-351. <hal-00885204>

HAL Id: hal-00885204

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00885204>

Submitted on 1 Jan 1989

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.

Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers.

II. Chélation du fer et répartition taxonomique chez les *Pseudomonas* fluorescents

M. Mamoun et J.M. Olivier

INRA, Station de recherches sur les champignons, Centre de recherches de Bordeaux, Villenave-d'Ornon, 33140 Pont-de-la-Maye, France

(reçu le 27-7-1988, accepté le 22-12-1988)

Résumé — Pour préciser l'environnement de *Tuber melanosporum* artificiellement associée au noisetier, les populations bactériennes des sols de truffières ont été analysées de façon quantitative (dénombrement) et qualitative (aptitude à chélater le fer et identification taxonomique). Les *Pseudomonas* fluorescents sont surtout actifs au niveau du rhizoplan où l'espèce *P. fluorescens sensu stricto* représente le taxon principal. Un groupe taxonomique intermédiaire entre *P. fluorescens* et *P. putida* s'est révélé caractéristique de la zone racinaire. Les germes ayant les plus fortes aptitudes à chélater le fer sont également localisés dans la proche rhizosphère. La discussion porte sur la valeur écologique des résultats dans le cas particulier des sols calcaires de truffières fortement chlorosants et intègre les conséquences microbiologiques de variations du potentiel hydrique précédemment mises en évidence. Enfin, les hypothèses concernant le rôle des bactéries du sol sur la pérennité d'une mycorrhization artificielle sont avancées.

truffe – Tuber – bactéries – Pseudomonas fluorescens – P. putida – hydroxy-8-quinoléine – fer – chlorose – potentiel hydrique

Summary — Dynamics of fungal and bacterial populations in the rhizosphere of truffle producing hazelnut trees. II. Iron chelation and taxonomic distribution in fluorescent *Pseudomonads* populations. Bacterial populations were analysed to determine the biological interactions in the rhizosphere of hazelnut trees artificially mycorrhized with *Tuber melanosporum*. Studies were carried out by selective countage (quantitative analysis), taxonomical identification and bacterial iron chelating properties (qualitative analysis). Fluorescent *Pseudomonads*, and especially *P. fluorescens sensu stricto* are dominant on the rhizoplane. A taxonomic group intermediate between *P. fluorescens* and *P. putida* was shown to be characteristic of the rhizoplane. The more chelating powerful strains are also closely related to the mycorrhized roots surface. Discussion is based on the ecological value of such results in the particular situation of strongly chlorotic calcareous soils of truffle areas. Previous results on the microbiological effects of water potential variations are also considered. Hypothesis concerning the incidence of soil bacteria on the perenniality of the artificial mycorrhization are finally proposed.

truffe – Tuber – bacteria – P. fluorescens – P. putida – 8-hydroxyquinoline – iron – chlorotic soil – matrix potential

Introduction

L'étude microbiologique des sols de truffières a été entreprise pour identifier les facteurs conditionnant la pérennité et l'extension de la symbiose ectomycorhizienne entre la truffe noire *Tuber melanosporum* et la plante hôte.

Un antagonisme entre *Pseudomonas* et mycélium de *Tuber* a été observé *in vitro* (Mamoun *et al.*, 1985). Puis une corrélation étroite entre les effectifs de *Pseudomonas* fluorescents et la teneur en eau du sol a été mise en évidence au niveau du rhizoplan de noisetiers truffiers, alors qu'elle n'existe pas dans le sol nu (Olivier et

Mamoun, 1988). La colonisation bactérienne du rhizoplan est à son maximum en période hivernale, à son minimum en période estivale lorsque l'activité mycélienne de la truffe s'intensifie. L'irrigation de la truffière peut perturber cet équilibre naturel. En effet, les observations «au champ» de Le Tacon *et al.* (1982) et Verlhac (communication personnelle) montrent qu'une irrigation modérée a un effet bénéfique, tandis que des apports importants entraînent un arrêt de la production. Il semble donc qu'une teneur en eau excessive (ou au moins au delà d'un certain seuil) soit favorable à certaines bactéries et dépressive pour le champignon. En sols de truffières, calcaires et fortement chosants, le statut hydrique n'est pas le seul paramètre pouvant intervenir dans la compétition entre *Pseudomonas* et *Tuber*. Poitou et Cassin (1987) ont observé une teneur en fer élevée dans des ascocarpes de *Tuber melanosporum* (100 à 300 ppm). La production de sidérophores a été mise en évidence chez les champignons ectomycorrhiziens (Szanislo *et al.*, 1981) et chez les *Pseudomonas* fluorescents (Hohnadel et Meyer, 1986; Scher, 1986). Kloepper *et al.* (1980) attribuent à ces sidérophores un rôle d'intermédiaire dans la mobilisation du fer dans la rhizosphère.

En conditions de carence en fer assimilable, comme c'est le cas dans les truffières, on peut envisager l'hypothèse d'une compétition pour cet élément entre *Pseudomonas* et *Tuber*, le potentiel hydrique influençant l'équilibre Fe II/Fe III (Lindsay, 1974). Dans le présent travail, le pouvoir complexant des *Pseudomonas* est quantifié selon leur site d'isolement (rhizoplan, rhizosphère et sol nu) et selon leur rattachement taxonomique.

Des bactéries autres que les *Pseudomonas* produisant des sidérophores (Byers, 1986), les germes non fluorescents, sont également prises en considération.

Matériel et méthodes

Les isollements bactériens sont effectués au mois de décembre, période d'intense activité des *Pseudomonas* (Olivier et Mamoun, 1988), à partir d'échantillons prélevés sur la truffière expérimentale INRA de Coulaures (Dordogne). Pour chaque site de prélèvement (rhizoplan, rhizosphère et sol nu) deux collections de micro-organismes sont constituées, l'une regroupant des *Pseudomonas* fluorescents, l'autre des germes non fluorescents. Les isolats sont prélevés à partir des étalements de suspensions-dilutions de sol en boîtes de Petri selon la méthode décrite par Olivier et Guillaumes, (1976).

Un premier tri est effectué d'après l'aspect macroscopique des colonies, selon la détermination de Samson (communication personnelle), de manière à sélec-

tionner un ensemble de germes représentatif des différents phénotypes observés dans chaque site.

L'isolement et la purification des isolats se font sur milieu B de King (King *et al.*, 1954) permettant en outre de vérifier pour chacun d'entre eux le caractère de fluorescence.

Les collections obtenues se composent respectivement, pour les *Pseudomonas*, de 95 isolats provenant du rhizoplan, 93 de la rhizosphère, et 47 du sol nu, et pour les germes non fluorescents, de 44 isolats récoltés sur le rhizoplan, 38 dans la rhizosphère et 29 dans le sol nu.

Détermination des capacités chélatantes vis-à-vis du fer

Le pouvoir chélatant des isolats est déterminé selon la technique adaptée par Lemanceau (1988). La croissance bactérienne est mesurée sur le milieu de Meyer et Abdallah (1978) en présence de doses croissantes d'un ligand de synthèse: l'hydroxy-8-quinoléine, complexant préférentiellement le fer dans les conditions expérimentales décrites (Lemanceau *et al.*, 1988).

Les cultures sont conduites en plaques de microtitration. Chaque puit reçoit 150 µl de substrat nutritif et 50 µl d'une suspension bactérienne (environ 10⁷ germes/ml) obtenue à partir d'une culture âgée de 24 h. La gamme de concentrations d'hydroxy-8-quinoléine utilisée correspond à des apports de 0-2-4-8-16-32 et 64 ppm dans le milieu final. De l'eau «ultra pure» (milli-Q® Millipore) est utilisée pour la confection du milieu de culture et la mise en suspension des bactéries. Chaque isolat est apporté dans 4 puits par milieu, et l'expérience est renouvelée 3 fois.

Le développement bactérien est évalué, après 4 jours d'incubation, par mesure de la turbidimétrie à 620 nm (photomètre Titertek Multiscan MCC). La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'hydroxy-8-quinoléine correspond au plus faible apport de ligand pour lequel la valeur obtenue est inférieure à un seuil fixé à 0,1 unité de densité optique (DO).

Les résultats sont exprimés, pour chaque classe de CMI, soit en pourcentages (PI), soit en logarithme des effectifs calculés (E), ces derniers intégrant l'effectif total dénombré précédemment pour le site étudié (Olivier et Mamoun, 1988).

$PI (\%) = e \times 100/n$ où e = effectif bactérien pour une classe donnée et n = nombre total d'isolats dans la collection;

$E (CFU/g \text{ MS}) = PI \times ET$ où ET = effectif total dénombré (en CFU/gMS) à la date d'isolement et CFU = nombre d'unités donnant naissance à une colonie.

Pour chaque représentation graphique les valeurs moyennes sont indiquées, accompagnées de leurs écarts types.

Les comparaisons entre sites de prélèvements sont effectuées selon le test 2i d'après Sokal et Rohlf (1969). Les valeurs indiquées pour P donnent la probabilité d'avoir 2 distributions identiques.

Taxonomie

Les *Pseudomonas* fluorescents sont classés au sein des espèces *fluorescens* et *putida*, et des deux groupes intermédiaires définis selon Palleroni (1984). Ce classement est basé sur la mise en évidence de deux aptitudes métaboliques (la protéolyse et l'utilisa-

tion du tréhalose). Les deux sont présentes chez *P. fluorescens* et absentes chez *P. putida*, alors que l'une ou l'autre seulement s'exprime dans les groupes intermédiaires.

Les groupes intermédiaires sont nommés respectivement: i1 pour les bactéries utilisant le tréhalose et non protéolytiques, i2 pour les isolats protéolytiques, mais n'utilisant pas le tréhalose.

Protéolyse

Les *Pseudomonas* sont ensemencés par traits sur un milieu de culture gélosé contenant de la gélatine (Luisetti *et al.*, 1972). Après incubation à 25° C pendant 4 jours, l'ajout de réactif de Frazier (1926) met en évidence les colonies protéolytiques produisant un halo clair.

Utilisation du tréhalose

Une solution de tréhalose (stérilisée par filtration sur membrane Millipore® 0,22 µm) est apportée au milieu de Ayers *et al.* (1919) à la concentration finale en carbone de 0,3%. Le substrat est réparti en plaques de microtitration à raison de 150 µl par puit. Chaque cupule reçoit 50 µl d'une suspension bactérienne effectuée à partir d'une culture âgée de 24h (environ 10⁷ germes/ml). Chaque isolat est apporté dans 4 puits, et l'expérience est renouvelée 3 fois.

Le développement des *Pseudomonas* est mis en évidence par le virage de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol) contenu dans le milieu de culture. Les notations sont effectuées pendant 3 semaines.

Résultats

La détermination du pouvoir chélatant à l'intérieur de chaque collection de bactéries montre que, chez les *Pseudomonas* fluorescents (Fig. 1) les distributions, quoique centrées sur les mêmes CMI (8-16ppm) pour les 3 sites d'isolement, diffèrent significativement entre elles (0,001<P≤0,01). Le pourcentage de germes ayant les plus fortes capacités chélatantes (CMI>64ppm) diminue si on s'éloigne de la racine.

Les bactéries non fluorescentes (Fig. 2) présentent également des distributions significativement différentes (P<0,001) selon le site d'isolement.

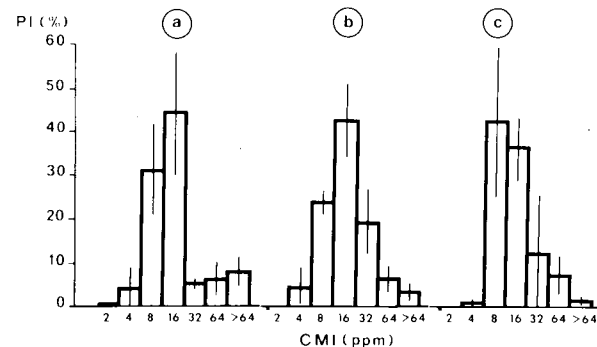


Fig. 1. Pouvoir chélatant des *Pseudomonas* selon le site d'isolement. Résultats exprimés en % des isolats (PI) pour chaque concentration inhibitrice (CMI) d'hydroxy-8-quinoléine. a) rhizoplan, b) rhizosphère, c) sol nu.

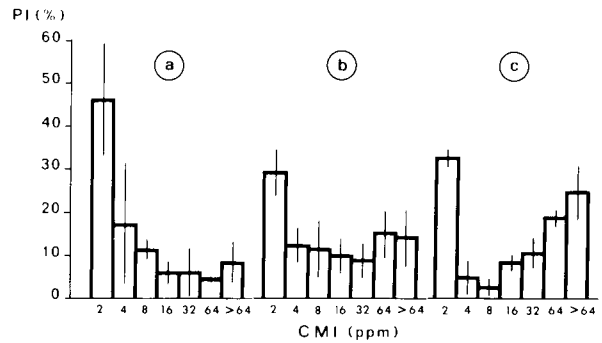


Fig. 2. Pouvoir chélatant des bactéries non fluorescentes selon le site d'isolement. Résultats exprimés en % des isolats (PI) pour chaque concentration inhibitrice (CMI) d'hydroxy-8-quinoléine. a) rhizoplan, b) rhizosphère, c) sol nu.

ment. Les isolats à faible pouvoir chélatant (CMI = 2ppm) dominent sur le rhizoplan. Cette dominance s'atténue dans la rhizosphère avec une tendance à une répartition équilibrée entre les différentes classes. Dans le sol nu, la distribution devient bimodale, le pourcentage de germes diminue au niveau des classes moyennes, puis augmente progressivement et de manière importante aux plus fortes CMI.

Les effectifs calculés à partir des résultats précédents font apparaître, pour les *Pseudomonas* du rhizoplan, un pouvoir chélatant global nettement supérieur à celui détecté dans le sol nu, avec une différence particulièrement marquée pour la plus forte CMI (Fig. 3). Les germes de la rhizosphère ont un comportement intermédiaire.

Les bactéries non fluorescentes à faible ou moyenne capacité chélatante sont davantage représentées au niveau du rhizoplan (Fig. 4). Par contre aucune différence liée au site d'isolement

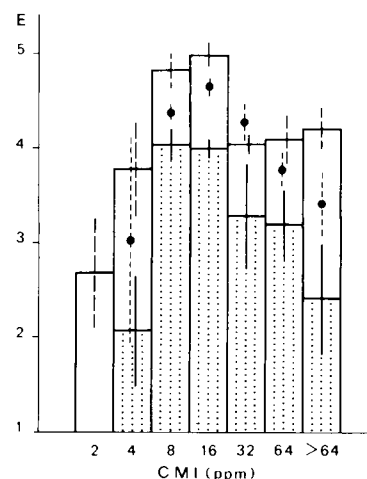


Fig. 3. Répartition du pouvoir chélatant des *Pseudomonas* dans les 3 sites d'isolement. Résultats exprimés en effectifs calculé (E = log CFU/g MS) pour chaque concentration inhibitrice (CMI) d'hydroxy-8-quinoléine. □ rhizoplan, ♦ rhizosphère, ▢ sol nu.

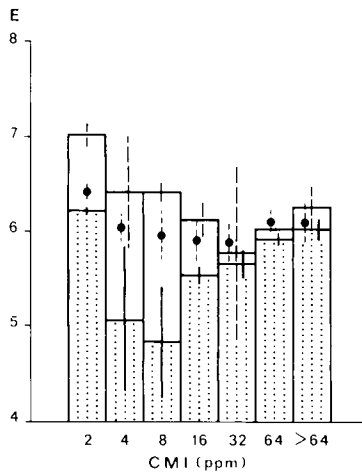


Fig. 4. Répartition du pouvoir chélatant des bactéries non fluorescentes dans les 3 sites d'isolement. Résultats exprimés en effectifs calculé ($E = \log \text{CFU/g MS}$) pour chaque concentration inhibitrice (CMI) d'hydroxy-8-quinoléine (cf. Fig. 3.).

n'est observée pour les CMI les plus élevées ($\geq 32 \text{ ppm}$).

Le classement taxonomique des *Pseudomonas* montre que l'espèce *P. fluorescens* constitue l'essentiel de la population isolée, quelle que soit la zone de prélèvement (Fig. 5). Le groupe intermédiaire i2, représentant 20 à 25% des isolats provenant du rhizoplan et de la rhizosphère, n'a pas été détecté dans le sol nu. La figure 6 montre, pour toutes les espèces, une baisse des effectifs, du rhizoplan vers le sol nu. Cependant ces variations sont à la limite du seuil de signification, sauf en ce qui concerne le groupe intermédiaire i2, absent au niveau du sol nu.

En intégrant données taxonomiques et pouvoir chélatant (Fig.7), il ressort que c'est essentiellement l'espèce *P. fluorescens* qui est représentée au niveau des plus fortes CMI.

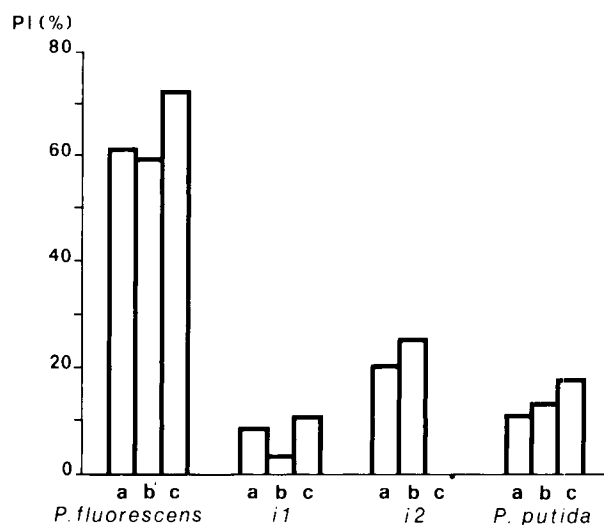


Fig. 5. Répartition taxonomique des *Pseudomonas* selon le site d'isolement. a rhizoplan, b rhizosphère, c sol nu. Résultats exprimés en % des isolats pour chaque taxon.

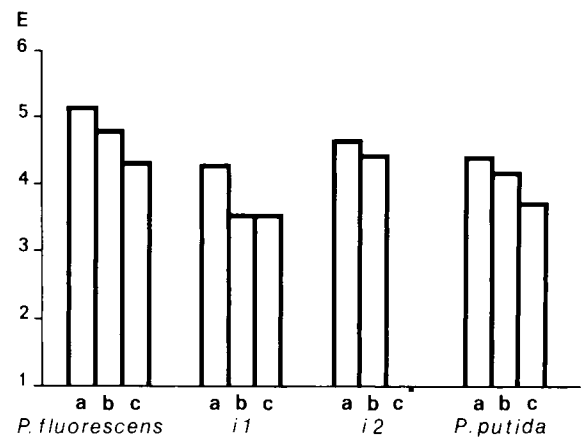


Fig. 6. Répartition taxonomique des *Pseudomonas* selon le site d'isolement. a rhizoplan, b rhizosphère, c sol nu. Résultats exprimés en effectif calculé ($E = \log \text{CFU/g MS}$) pour chaque taxon.

Discussion

Les résultats concernant les propriétés chélatantes des *Pseudomonas* fluorescents vis-à-vis du fer sont à rapprocher des travaux de Lemaire *et al.* (1988) sur le sol calcaire de Châteaurenard, résistant aux fusarioses. Dans les deux cas, les bactéries sont réparties selon une gamme étendue de CMI avec, pour le sol de truffière, apparition de 2 classes supérieures (64 et $> 64 \text{ ppm}$). Compte tenu des effectifs totaux, cela suppose l'existence au niveau du rhizoplan du noisetier truffier, d'un pouvoir chélatant particulièrement puissant principalement lié aux *Pseudomonas*.

Les distributions diffèrent significativement selon le site d'isolement pour les deux origines géographiques (Châteaurenard et Coulaures), les bactéries du rhizoplan étant plus chélatantes que celles du sol nu. Cette différence est d'environ 10 fois dans le sol de truffière.

Ceci va dans le sens des données rapportées par différents auteurs, en particulier Reid *et al.* (1986), qui évaluent la concentration en sidérophores de la rhizosphère comme étant 10 à 50 fois plus élevée que celle présente dans le sol nu.

Dans le sol de truffière, les bactéries non fluorescentes représentent une forte proportion du pouvoir chélatant total. Paradoxalement leurs distributions, exprimées en effectifs, ne sont pas significativement différentes entre rhizoplan et sol nu pour les CMI les plus élevées ($\geq 32 \text{ ppm}$). Les méthodes utilisées ne permettent pas de leur attribuer un rôle précis. Il ne faut cependant pas rejeter une éventuelle intervention de ces germes, en particulier en cas de perturbations de l'écosystème.

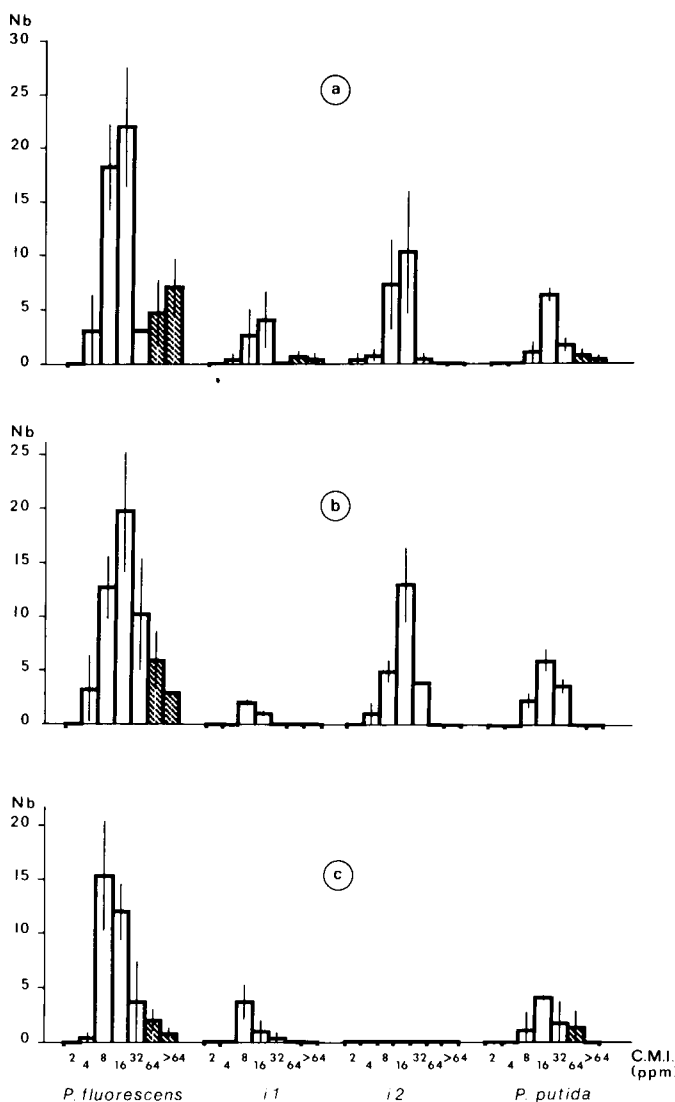


Fig. 7. Pouvoir chélatant des *Pseudomonas* selon le taxon et le site d'isolement. Résultats exprimés en nombre d'isolats (Nb) pour chaque concentration inhibitrice (CMI) d'hydroxy-8-quinoléine. a rhizoplan, b rhizosphère, c sol nu.

Du point de vue taxonomique, les densités de *P. fluorescens* (*sensu stricto*) et de *P. putida* au niveau racinaire sont en accord avec les données de Vančura (1980) pour les plantes de grandes cultures. En revanche hors rhizosphère, *P. fluorescens* est plus abondant en sol de truffière (72%) que dans les parcelles étudiées par Vančura (50%), et l'inverse est observé avec *P. putida* (respectivement: 17% et 30%).

En truffière, aucune différence significative liée au site d'isolement n'a été mise en évidence pour les *P. fluorescens* et *putida*, espèces connues pour leur implication dans différents systèmes d'antagonisme (Howell et Stipanovic, 1980; Olivier et Guillaumes, 1983; Scher, 1986; Weller et Cook, 1986).

Les effectifs indiqués (Fig. 7) sont trop faibles, quelque soit le groupe taxonomique, pour autoriser une transformation valable des résultats en

effectifs calculés (E) par classe de CMI. Toutefois, les populations totales de *Pseudomonas* dénombrées précédemment sur le rhizoplan étant 10 fois supérieures à celles du sol nu, une transformation en effectifs réels accentuerait les différences constatées sur l'histogramme, en particulier l'importance, sur la racine, de *P. fluorescens* à pouvoir chélatant élevé. Le même raisonnement, appliqué aux *P. putida* et aux isolats appartenant au groupe i1, soulignerait leur fort pouvoir chélatant au niveau du rhizoplan. La teneur en eau du sol modifie les effectifs de *Pseudomonas* des sols de truffières (Olivier et Mamoun, 1988). Le potentiel hydrique influence l'équilibre Fe II/Fe III. Lemanceau *et al.* (1988) observent une baisse du pouvoir chélatant des *Pseudomonas* en fonction de l'augmentation du pF. Un déséquilibre hydrique peut entraîner une modification sélective de la population de *Pseudomonas*, touchant plus particulièrement un

taxon ou certaines classes de CMI. Les conséquences sur la symbiose peuvent être de 2 ordres, soit la création de conditions défavorables compromettant l'extension de la mycorrhization, soit au contraire la stimulation de populations ayant un effet bénéfique. Garbaye et Bowen (1987) avancent le concept de micro-organismes auxiliaires à la mycorrhization. Mosse (1962) note, en conditions axéniques, une stimulation de l'infection endomycorrhizienne du trèfle induite par un *Pseudomonas*. Meyer et Linderman (1986) observent, en sol non stérile, une augmentation de l'infection VA du trèfle due à un apport de *P. putida*.

Il est envisageable, comme le suggère De Oliveira (1988), de favoriser l'installation et la progression «au champ» de la mycorrhization établie en serre. Dans le cas de *T. melanosporum*, cela consisterait en une bactérisation contrôlée du plant truffier et des techniques culturales stimulant les germes utiles. Des pratiques culturales extrêmes (irrigation trop élevée, apport excessif de chélates de fer, amendement organique trop important) pourraient perturber les populations bactériennes. Les observations sur la fructification de la truffe semblent claires, mais les effets sur la mycorrhization elle-même restent à déterminer. Ce point fait l'objet du travail en cours.

Remerciements

Ce travail a bénéficié d'une aide du Conseil régional d'Aquitaine (contrat INRA-Région) et d'une subvention européenne dans le cadre du Plan d'Intégration Méditerranéenne.

Références

- Ayers S.M., Rupp P. & Johnson W.T. (1919) A study of the alkali forming bacteria in milk. *Bull. US Dept. Agric.*, 782
- Byers B.R. (1986) Siderophores and biological systems : an overview. In : *Iron, Siderophores and Plant diseases*. (Swinburne T.R., ed.) NATO-Plenum, Londres, pp. 1-6
- De Oliveira V.L. (1988) *Interactions entre les micro-organismes du sol et l'établissement de la symbiose ectomycorrhizienne chez le hêtre (Fagus sylvatica) avec Hebeloma crustuliniforme (Bull. ex Saint-Amans) Qué. et Paxillus involutus Batsch. ex Fr.* Thèse Doct. d'Univ., Nancy-I
- Frazier W.C. (1926) A method for the detection of change in gelatin due to bacteria. *J. Inf. Dis.* 39, 302
- Garbaye J. & Bowen G.D. (1987) Effect of different microflora on the success of ectomycorrhizal inoculation of *Pinus radiata*. *Can. J. For. Res.* 17, 941-943
- Hohnadel D. & Meyer J.M. (1986) Pyoverdine - facilitated iron uptake among fluorescent *Pseudomonads*. In: *Iron, Siderophores and Plant diseases*. (Swinburne T.R., ed.) NATO-Plenum, Londres, pp. 119-129
- Howell C.R. & Stipanovic R.D. (1980) Suppression of *Pythium ultimum* - induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin. *Phytopathology* 70, 712-715
- King E.D., Ward M.K. & Raney D.E. (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44, 301-307
- Kloepper J.W., Leong J., Teintze M. & Schroth M.N. (1980) *Pseudomonads* siderophores: A mechanism explaining disease - suppressive soils. *Curr. Microbiol* 4, 317-320
- Lemanceau P. (1988) *Réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires: étude critique des théories proposées*. Thèse Doct. d'Univ., Lyon-I
- Lemanceau P., Samson R. & Alabouvette C. (1988) Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XV. Comparaison des populations de *Pseudomonas* fluorescents dans un sol résistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires. *Agronomie* 8, 243-249
- Le Tacon F., Delmas J., Gleyze R. & Bouchard D. (1982) Influence du régime hydrique du sol et de la fertilisation sur la fructification de la truffe noire du Périgord. (*Tuber melanosporum* Vitt.) dans le sud-est de la France. *Acta Oecologia, Oecol. appl.* 3, 4, 291-306
- Lindsay W.L. (1974) Role of chelation in micronutrient availability. In: *The Plant Root and its Environment*. (Corson E.W., ed) University Press, Charlottesville, Virginia, pp. 507-527
- Luisetti J., Prunier J.P. & Gardan L. (1972) Un milieu pour la mise en évidence de la production d'un pigment fluorescent par *Pseudomonas mors-prunorum*. *Ann. Phytopathol.* 4, 3, 295-296
- Mamoun M., Poitou N. & Olivier J.M. (1985) Etude des interactions entre *Tuber melanosporum* Vitt. et son environnement biotique. In: *Aspects physiologiques et génétiques des mycorrhizes*. Actes du 1^{er} Symposium européen sur les mycorrhizes, Dijon, INRA, Paris, pp. 761-765
- Meyer J.M. & Abdallah M.A. (1978) The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107, 319-328
- Meyer J.M. & Linderman R.G. (1986) Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. Biochem.* 18, 185-190
- Mosse B. (1962) The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions. *J. gen Microbiol.* 27, 509-520
- Olivier J.M. & Guillaumes J. (1976) Etude écologique des composts de champignonnières. I. Evolution de la microflore pendant l'incubation. *Ann. Phytopathol.* 8, 3, 283-301
- Olivier J.M. & Guillaumes J. (1983) Propriétés antagonistes des *Pseudomonas* fluorescents. In: *Les antagonismes microbiens, 18^e colloque S.F.P. Colloq. INRA*, 18, éd. INRA Publ., Versailles
- Olivier J.M. & Mamoun M. (1988) Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers. I. Relation avec le statut hydrique du sol. *Agronomie* 8, 8, 711-717

- Palleroni N.J. (1984) *Pseudomonadacea*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. I. Williams et Wilkins, Baltimore, Londres, pp. 141-199
- Poitou N. & Cassin C. (1987) Interaction entre le cuivre et différents champignons ectomycorhiziens comestibles. (FAL Braunschweig éd.) *Mush. Sci.* XII (sous presse).
- Reid C.P.P., Szanislo P.J. & Crowley D.E. (1986) Siderophore involvement in plant iron nutrition. In: *Iron, Siderophores and Plant diseases*, (Swinburne T.R., ed.) NATO-Plenum, Londres, pp. 29-42
- Scher F.M. (1986) Biological control of *Fusarium* wilts by *Pseudomonas putida* and its enhancement by eddha. In: *Iron, Siderophores and Plant diseases*. (Swinburne T.R., ed.) NATO-Plenum, Londres, pp. 109-117
- Sokal R. & Rohlf J. (1969) *Biometry*. Chap. 16, W.H. Freeman and Co, ed.)
- Szanislo P.J., Powell P.E., Reid C.P.P. & Cline G.R. (1981) Production of hydroxamate siderophore iron chelators by ectomycorrhizal fungi. *Mycologia* 73, 1158-1174
- Vančura V. (1980) Fluorescent *Pseudomonas* in the rhizosphere of plants and their relations to root exudates. *Folia microbiol.* 25, 168-173
- Weller D.M. & Cook R.J. (1986) Suppression of root diseases of wheat by fluorescent *Pseudomonads* and mechanisms of action. In: *Iron, Siderophores and Plant diseases*. (Swinburne T.R., éd.) NATO-Plenum, Londres, pp. 99-107