

ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ ET DE LA DURABILITÉ DES RÉSISTANCES À *GLOBODERA PALLIDA* Pa2/3, PROVENANT DE *SOLANUM VERNEI*, *S. SPEGAZZINII* ET *S. SPARSIPILUM*

D. Mugniéry*¹, O. Plantard*, S. Fournet*, É. Grenier*, B. Caromel**, M-C. Kerlan***,
D. Picard* et D. Ellissèche***

*INRA, UMR BiO3P, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex, France

**INRA, UGAFL, BP 94, 84143 Montfavet, France

***INRA, UMR APBV, Keraiber, 29260 Ploudaniel, France

Résumé. La culture de génotypes de pomme de terre dont la résistance provient de *S. vernei* entraîne des réductions de populations de *G. pallida* Pa2/3 corrélées à leur niveau de résistance. Ces réductions peuvent être de 90% sur sols très infestés. Sur sols très peu infestés, les génotypes les plus résistants stabilisent les populations. La durabilité de la résistance est estimée d'une part par l'étude de l'héritabilité de l'agressivité et de la virulence après croisement entre nématodes virulents et non, d'autre part par l'évolution du pouvoir pathogène après cinq ans de pression de sélection exercée par les génotypes résistants sur des populations naturelles. Les hybrides F1 et F2 de *G. pallida* n'héritent pas du caractère d'agressivité des parents vis-à-vis de la résistance provenant de *S. vernei*. Cette résistance pourrait être durable. Les pressions de sélection correspondantes n'entraînent un début de contournement que vis-à-vis des génotypes qui ont comme effet majeur de résistance de masculiniser les nématodes pénétrés. Quand cette résistance a comme premier effet de bloquer le développement des nématodes pénétrés, le contournement n'est pas observé. Vis-à-vis des résistances provenant de *S. spegazzinii* et de *S. sparsipilum*, dues à des QTL dominants majeurs, les hybrides F1 du nématode héritent presque complètement du caractère virulent du parent virulent. La durabilité de telles résistances ne pourra être durable que si les populations européennes de *G. pallida* ne possèdent pas les gènes de virulence correspondants.

Mots clefs: Avirulence, héritabilité, nématode à kyste, pomme de terre, virulence.

Summary. Evaluation of effectiveness and durability of resistance to *Globodera pallida* from *Solanum vernei*, *S. spegazzinii* and *S. sparsipilum*. Cultivation of resistant ex-*S. vernei* genotypes decreased populations of *Globodera pallida*, Pa2/3, to an extent highly correlated with the level of resistance of the genotypes. With highly resistant genotypes the nematode population declined by about 90% in heavily infested soils, but remained unchanged in very lightly infested soils. The durability of the resistance from *S. vernei*, *S. spegazzinii* and *S. sparsipilum* was estimated by studying the heritability of aggressiveness or virulence of hybrids made by crossing virulent and non-virulent nematodes. The F1 and F2 nematode progenies were non-aggressive towards ex-*S. vernei* resistance, but were virulent towards resistance from *S. spegazzinii* and *S. sparsipilum*. After five years of continuous selection pressure on natural nematode populations of cultivating *S. vernei* genotypes, some circumvention of the resistance was observed with some genotypes and not with others. It may be inferred that the resistance from *S. vernei* is durable in some genotypes and not in others, even when using the same resistant source. The durability of resistance from *S. spegazzinii* and *S. sparsipilum*, due to few and strong resistance QTLs, may only be durable if no corresponding virulence genes exist in European populations of the nematode.

Key words: Avirulence, cyst nematode, inheritance, potato, virulence.

De nombreux génotypes et quelques variétés de pomme de terre ont été créés, qui présentent des niveaux très élevés de résistance aux populations européennes de *Globodera pallida* (Stone) Behrens pathotype Pa2/3. Ces résistances proviennent d'origines génétiques diverses. Les plus anciennes viennent de *Solanum vernei* Bitter et Wittm. Originaires du génotype VTN² 62.33.3, elles ont conduit, par sélection récurrente, à la création de variétés telles Florijn et Karakter. La résistance de ces variétés est polygénique. Les résistances issues de *S. spegazzinii* Bitter et *S. sparsipilum* (Bitter) Juz. et Bukasov ont permis la création de nombreux géno-

types. Ces résistances sont dues à des QTL à effet très fort, respectivement GPaM1 (Caromel *et al.*, 2003), actuellement nommé GpaV_{spg} et GpaV_{spl} (Caromel *et al.*, 2005), chacun de ces deux QTL pouvant être accompagnés d'autres QTL qui, seuls, ont un effet marginal mais qui, associés avec le QTL à effet fort, augmentent l'intensité de la résistance (Mugniéry *et al.*, 2001; Caromel *et al.*, 2003). Le problème de l'efficacité de la résistance vis-à-vis des populations naturelles du nématode se pose, essentiellement avec les génotypes de pomme de terre dont la résistance provient de *S. vernei*, seuls disponibles sur le marché. Cette efficacité est abordée ici par l'analyse des évolutions des populations de *G. pallida* face à des génotypes de *Solanum* spp. ayant des niveaux de résistance très variés.

La question suivante est de savoir si ces résistances

¹ Correspondant: Didier.Mugniery@rennes.inra.fr

sont durables. La résistance monogénique du type H1 contre *G. rostochiensis* (Woll.) Skarbilovich a été contournée rapidement aux Pays-Bas (Huisman, 1961) par pression de sélection sur le gène de virulence correspondant (Janssen *et al.*, 1991) quand ce gène existait dans les populations naturelles de ce nématode. Elle ne l'a pas été en Grande-Bretagne, probablement parce que les populations britanniques ne possédaient pas ce gène de virulence (Zaheer *et al.*, 1993). La durabilité des résistances polygéniques vis-à-vis de *G. pallida* semble peu durable et est rapidement contournée (Turner, 1983, 1990; Beniers *et al.*, 1995; Schouten et Beniers, 1997; Turner et Fleming, 2002).

La durabilité peut être évaluée de deux manières:

- a) par l'étude du comportement sur des plantes résistantes d'hybrides F1 et F2 provenant de croisements entre nématodes virulents et nématodes avirulents. Elle est réalisée ici sur des variétés et génotypes très résistants, beaucoup plus résistants que ceux utilisés par Turner (1990) et à partir de F1 et de F2 provenant de croisements réalisés entre individus avirulents de *G. pallida* d'origine européenne et individus naturellement virulents à l'égard de *S. sparsipilum* (Mugniéry *et al.*, 2001), de *S. spegazzinii* et de *S. vernei*, provenant de populations péruviennes.
- b) par l'étude de l'évolution de l'agressivité de nématodes soumis plusieurs années durant à la pression de sélection due à la culture répétée de génotypes résistants. Elle est réalisée ici, avec des génotypes tétraploïdes issus de *S. vernei*, par la comparaison du comportement de nématodes ayant subi cinq années de suite une telle pression de sélection.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les populations de *G. pallida* utilisées sont les suivantes: pathotype Pa2/3 Chavornay (Suisse), Noirmoutier et Saint Malo (France), pathotype P5A Otuzco (Pérou), pathotype P6A Huamachuco (Pérou). Les populations péruviennes appartiennent au clade V, défini par Picard (2005). Les populations européennes appartiennent au clade I. Il s'agit donc des populations génétiquement les plus éloignées.

Les génotypes utilisés en conditions naturelles pour leur efficacité ont tous une résistance provenant de *S. vernei*. Leurs notes de résistance évaluée selon Ellis-sèche et Mugniéry (1992) varient de 2,07 à 7,43, c'est-à-dire de 2 à 9 selon les recommandations actuelles européennes (Anonyme, 2007).

Les génotypes utilisées pour leur durabilité proviennent de tubercules du cultivar tétraploïde Florijn, des génotypes tétraploïdes INRA et de sélectionneurs français 94T146.52, 91T261.5, 60.96.1, 360.96.21, 357.96.18, 96F376.16 et des génotypes INRA diploïdes 96D.32.65, 96D.32.76, 96D.31.5, 96D.31.51.

Le cv. Florijn et les génotypes 94T146.52, 91T261.5, 60.96.1, 360.96.21, 357.96.18 et 96F376.16 sont consi-

dérés comme fortement résistant à *G. pallida* Chavornay. Le génotype 91T261.5 est moyennement résistant. La résistance de ces génotypes et cultivar provient de *S. vernei* (Tableau I).

Les génotypes 96D.32 sont issus de croisements entre *S. spegazzinii* et *S. tuberosum*. Le génotype 96D.32.65 ne comporte aucun QTL de résistance à *G. pallida*. Le génotype 96D.32.76 comporte les trois QTL de résistance à *G. pallida*, mis en évidence par Caromel *et al.* (2003), nommés maintenant GpaV_{spg}, GpaVI_{spg} et GpaXII_{spg}.

Les génotypes 96D.31 sont issus de croisement entre *S. sparsipilum* et *S. tuberosum*. Le génotype 96D.31.5 ne comporte aucun QTL de résistance à *G. pallida*. Le génotype 96D.31.51 comporte le QTL majeur GpaV_{spl}, mis en évidence par Caromel *et al.* (2005).

Le témoin sans résistance est le cultivar Désirée.

Pour éviter toute contamination, les populations de *G. pallida* destinées à être croisées sont multipliées sur Désirée en récipients fermés selon la méthode de Foot (1976).

Efficacité de la résistance.

Trois années successives, des parcelles sans répétition ont été cultivées à Saint Malo et à Noirmoutier avec des génotypes résistants, issus de *S. vernei*, de telle manière que chacune des populations ait subi une, deux, trois années de pression de sélection exercée par chacun des génotypes. Ceux-ci ont été choisis selon une gamme de résistance faible à très élevée à *G. pallida* Pa2/3 Chavornay. Chaque année, les échantillons de sols ont été prélevés avant plantation et après récolte selon un quadrillage fixe. Ils sont constitués de 40 prises élémentaires. Les kystes extraits sont dénombrés puis écrasés pour évaluer le contenu après une dilution appropriée. Les résultats sont exprimés en J2/g. Les analyses statistiques sont réalisées par analyse de régression entre la note de résistance et le taux de multiplication. Les comparaisons entre années sont effectuées par analyse de covariance.

Le niveau initial de contamination des parcelles est extrêmement différent selon les lieux: 3 J2/g à Saint Malo contre 82 à Noirmoutier

Durabilité de la résistance évaluée

a) *Par hybridations.* Les hybridations sont réalisées in vitro selon la méthode d'élevage décrite par Mugniéry et Person (1976). Les femelles vierges sont obtenues par dépôt d'un seul juvénile de *G. pallida* sur racine de pomme de terre cv. Désirée, cultivée en boîte de Petri sur milieu simple à 2% d'agar. Les mâles sont obtenus par dépôt de plusieurs juvénile par boîte de Petri.

Les cultures sont réalisées au laboratoire à température ambiante. Dès l'apparition de la matrice sur les femelles vierges à hybrider, un mâle correspondant est déposé à proximité de la femelle. Les kystes obtenus sont conservés au froid (+4°C) pendant au moins deux mois. Les juvéniles hybrides sont obtenus en plaçant les kystes dans de l'exsudat radiculaire de pomme de terre.

Le comportement des juvéniles d'origine et de pre-

Tableau I. Caractéristiques des géotypes utilisés.

Géotype	Pédigrée	Obtenteur	Note de résistance*	Note de résistance**
Florijn	AM78.3736 × (Astarté × AM 66.42)	Hoiting	6,73	8
96F376.16	(AM78.3778 × Mondial) × 90F136.3	Bretagne-Plants	6,54	8
60.96.1	(AM78.3778 × Fanette) × Mélissa	Grocep	5,88	7
360.96.21	(Karna × AM78.3736) × (Katja × Amex)	Comité Nord	7,24	8
91T261.5	Korrigane × SCRI 12380	INRA	5,41	6
94T146.52	AM78.3778 × Van Gogh	INRA	8,22	9
357.96.18	(KA77.133 × AM78.3736) × (Producent × AM78.3787)	Comité Nord	6,61	8

Note calculée *selon Ellissèche et Mugniéry (1992), **selon Anonyme (2007).

mière génération (F1), provenant des hybridations entre populations européennes et péruviennes de *G. pallida* est évalué in vitro en les déposant par lot de dix sur racines de pommes de terre sans résistance ou avec résistance, que celle-ci provienne de *S. vernei*, de *S. spegazzinii* ou de *S. sparsipilum*.

Quinz jours après dépôt des juvéniles, les racines sont disséquées et les nématodes retrouvés sont identifiés selon leur stade de développement, J2 et J3 non développés, mâles et femelles. Les comparaisons des structures de populations sont réalisées en utilisant le test 2 \hat{I} rapporté par Arbonnier (1966). Sont analysés la pénétration, le développement, l'indice andrique (σ / φ) et le rapport "nombre de femelles développées par rapport au nombre de J2 inoculés".

Les juvéniles F1 restants sont déposés sur Désirée, cultivée en récipient clos. Les kystes obtenus contiennent des hybrides de deuxième génération F2. Le comportement des juvéniles F2 est évalué comme décrit précédemment pour les juvéniles F1.

Le caractère hybride des F1 est assuré de la manière suivante. De chaque kyste hybride obtenu, quel que soit le croisement effectué, au moins un juvénile éclos est écrasé et l'extrait est mélangé dans 150 μ l de tampon de

lyse (200 mM tris-HCl, pH 8,5, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA, 0,5% SDS), centrifugé à 10.000 g pendant une minute. Il est ajouté 0,5 volume d'acétate de sodium 3M pH 5,2 et l'ensemble est conservé à -20 °C pendant 10 minutes. Après centrifugation pendant 5 minutes à 10.000 g, le surnageant est récupéré et mélangé pendant 30 minutes avec 225 μ l d'isopropanol. Le culot est récupéré après centrifugation à 10.000 g pendant 15 minutes, lavé avec 1 ml EtOH 70%, centrifugé pendant 15 minutes à 10.000 g. Le culot est séché sous vide. Pour les réactions PCR, 20 μ l TE (10 mM tris HCl pH 4.5, 1 ml EDTA) sont ajoutés.

Les conditions de PCR, utilisant les amorces de Vrain *et al.* (1992) pour amplification de l'ITS du gène 5.8S, de restriction et de séparation de l'ADN sont réalisées comme indiqué par Thiéry et Mugniéry (1996). L'enzyme de restriction utilisée est la Rsa I car elle discrimine sans ambiguïté les populations péruviennes des populations européennes (Grenier *et al.*, 2001).

b) Par pression de sélection. Trois années successives, les géotypes 91T261.5, 94T146.52, 96F376.16, 60.96.1 et 360.96.21 ont été cultivés sur sols naturellement contaminés à Noirmoutier. Le même processus a été

suivi à Saint-Malo avec les génotypes 94T146.52, 96F376.16, 60.96.1, 357.96.18 et 360.96.21, Désirée comme témoin étant cultivé dans les mêmes conditions.

À l'issue de ces trois années, vingt litres de sol provenant des diverses parcelles ont été prélevés, placés en bacs de végétation et cultivés avec ces mêmes génotypes deux années supplémentaires. À l'issue de la cinquième culture, les kystes ont été extraits de la totalité des bacs. Les kystes apparemment néoformés ont été mis en éclosion dans de l'exsudat radiculaire. Les J2 éclos ont été déposés par lots de 10 sur des racines des génotypes dont ils étaient issus et sur racines de Désirée, cultivées en boîte de Petri comme décrit précédemment. Leur comportement a été évalué comme indiqué ci-dessus.

RÉSULTATS

Efficacité de la résistance

Quels que soient le lieu et l'année, la corrélation négative entre note de résistance et taux de multiplication est hautement significative (Fig. 1). La comparaison par analyse de covariance des droites de régression entre ces deux critères, selon que les populations aient subi une à deux, deux à trois années de pression de sélection (Figs 2 et 3) montre qu'il n'existe pas de différence significative, que ce soit pour la variance, la pente et l'intersection sur l'axe des ordonnées.

Il s'ensuit qu'il n'est pas possible de détecter une quelconque évolution de l'agressivité des populations après trois années de pression de sélection exercée par les génotypes à résistance provenant de *S. vernei*.

Hérédité de l'agressivité et de la virulence de *G. pallida*

Le caractère hybride des J2 obtenus est montré par la figure 4. Les 1.200 paires de base de l'ITS de *G. pallida* sont coupées en deux fragments de 670 et 530 paires de bases pour les populations européennes, en trois frag-

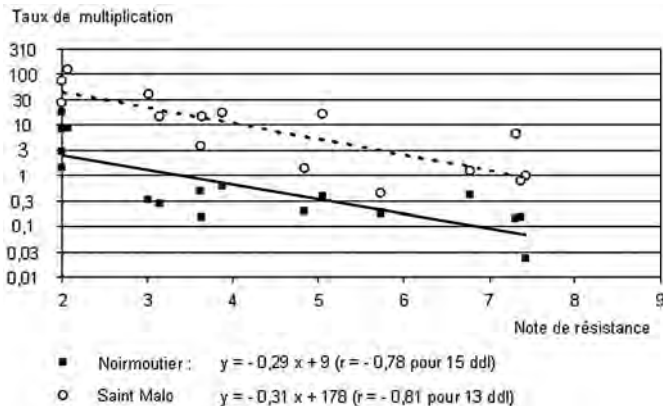


Fig. 1. Effet de génotypes de pomme de terre tétraploïdes à résistance partielle provenant de *S. vernei* sur deux populations de *G. pallida* Pa2/3, cultivés sur sols très infestés (Noirmoutier) ou très peu infestés (Saint Malo).

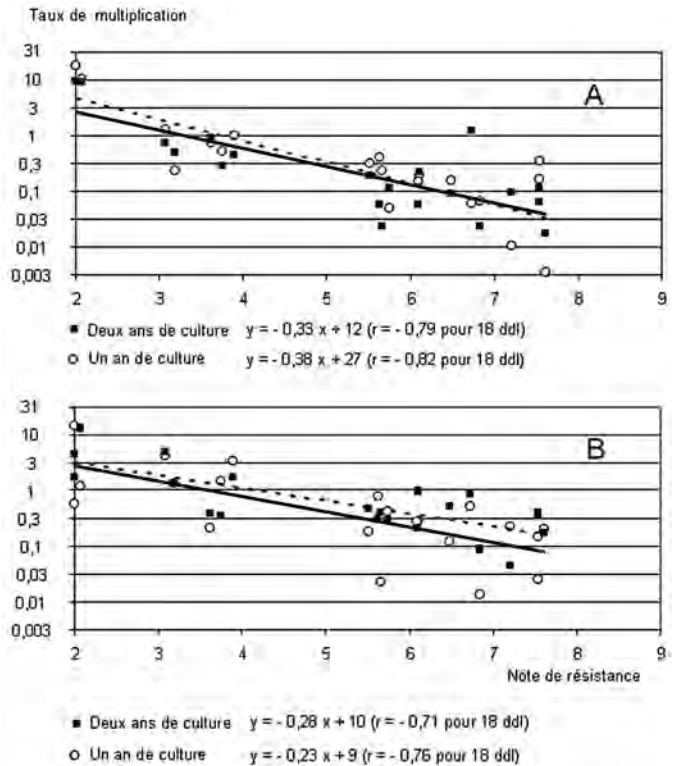


Fig. 2. Effet de une et deux années de culture de génotypes de pomme de terre tétraploïdes à résistance partielle provenant de *S. vernei* sur deux populations de *G. pallida* Pa2/3 (A: Saint Malo; B: Noirmoutier).

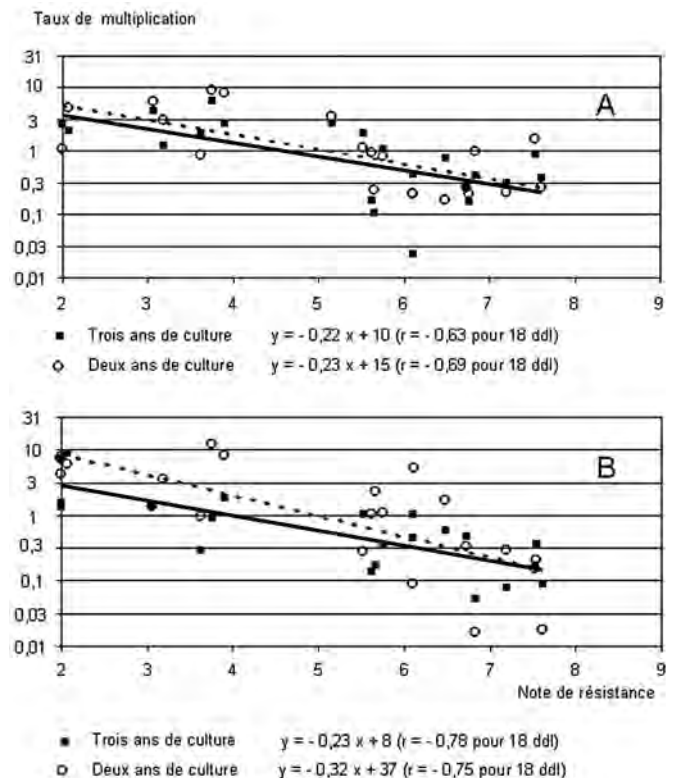


Fig. 3. Effet de deux et de trois années de culture de génotypes de pomme de terre tétraploïdes à résistance partielle provenant de *S. vernei* sur deux populations de *G. pallida* Pa2/3 (A: Saint Malo; B: Noirmoutier).

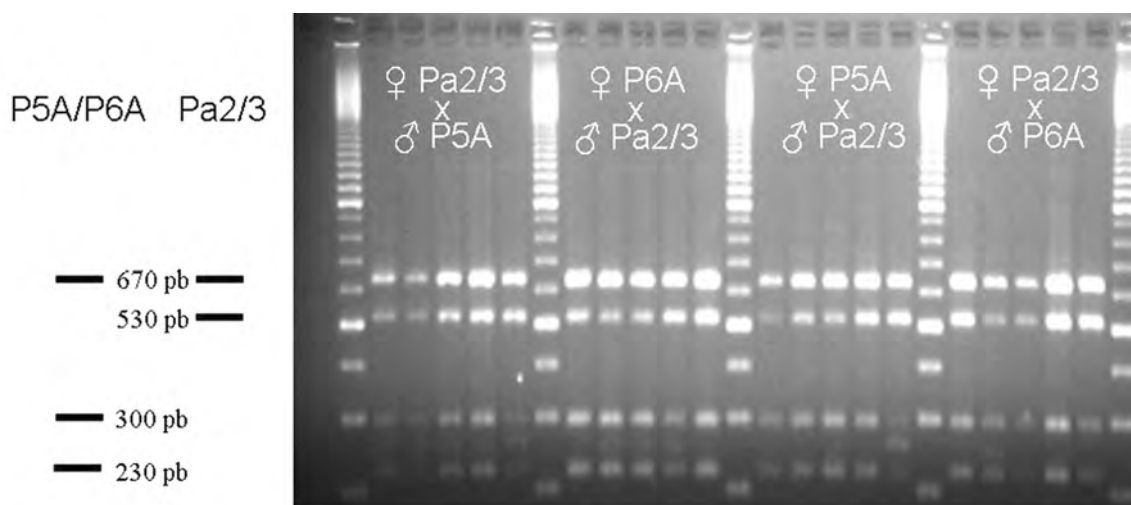


Fig. 4. Comparaison des profils PCR-RFLP avec *Rsa* I des populations parentales péruviennes, P5A et P6A, et européenne, Pa2/3 et de leurs hybrides.

ments de 670, 300 et 230 paires de bases pour les populations péruviennes. Les hybrides F1 présentent tous quatre fragments, correspondant à chacun des parents.

Tous les hybrides F1 testés se développent sur Désirée (Tableau II) comme le font leurs parents (Tableau III) et ceci, quel que soit le sens du croisement. Les conclusions sont identiques quand ces hybrides sont testés sur les génotypes 96D.32.65 et 96D.31.5 ne possédant pas de QTL de résistance (Tableau IV), malgré un déficit significatif de la pénétration. Dès lors que l'hôte testé présente un caractère de résistance à Pa2/3, les résultats diffèrent fortement.

1) *résistance issue de S. vernei*. La résistance du cv. Florijn s'exprime à l'égard de Pa2/3 par un déficit du développement (Tableau III). Cette caractéristique s'exprime de la même manière vis-à-vis des deux populations péruviennes. C'est essentiellement sur l'indice andrique que la résistance est notable. Par rapport à Désirée, celui-ci augmente significativement chez les populations péruviennes mais beaucoup moins que chez la population européenne. Globalement, les F1 et les F2 ne présentent pas des comportements significativement différents (Tableau II). Leur comportement sur cv. Désirée est le même que celui des parents (Tableau III). Sur

Tableau II. Développement des hybrides F1 et F2 de populations péruviennes et européenne de *G. pallida* sur les cultivars de pomme de terre Désirée, sans résistance, et Florijn, résistant à la population Chavornay *G. pallida* Pa2/3.

Croisement	Génération	Cultivar de pomme de terre	Pénétration (%)	Développement (%)	IA (σ/φ)	% φ
φ Pa2/3 \times σ P6A	F1	Désirée	89 a	95 a	0,06 a	81 a
	F2	Désirée	76 b	95 a	0,10 a	66 b
	F1	Florijn	51 a	65 a	49 a	1 b
	F2	Florijn	59 a	73 a	10 b	4 a
φ P6A \times σ Pa2/3	F1	Désirée	65 a	95 a	0,09 a	57 a
	F2	Désirée	68 a	92 a	0,18 a	53 a
	F1	Florijn	55 a	64 a	3 a	10 a
	F2	Florijn	49 a	62 a	4 a	6 a
φ P5A \times σ Pa2/3	F1	Désirée	82 a	100 a	0,04 a	78 a
	F2	Désirée	63 b	84 b	0,14 a	47 b
	F1	Florijn	49 a	72 a	13 a	3 a
	F2	Florijn	56 a	64 a	4 a	8 a
φ Pa2/3 \times σ P5A	F1	Désirée	81 a	99 a	0,01 a	79 a
	F2	Désirée	75 a	95 b	0,13 b	63 b
	F1	Florijn	69 a	84 a	10 a	5 a
	F2	Florijn	64 a	61 b	6 a	6 a

Les lettres placées après les données indiquent le niveau de signification du test 2 \hat{I} à 5%.

Tableau III. Développement des populations péruviennes et européenne de *G. pallida* sur les cultivars de pomme de terre Désirée, sans résistance, et Florijn, résistant à la population Chavornay de *G. pallida* Pa2/3.

Population	Cultivar	Pénétration(%)	Développement (%)	IA (σ / φ)	% φ
P5A	Florijn	72 a	69 b	0,57 b	32 b
P6A		65 a	68 b	0,40 b	32 b
Pa2/3		61 a	57 b	1,46 c	14 c
P5A	Désirée	68 a	93 a	0,02 a	62 a
P6A		69 a	91 a	0,02 a	61a
Pa2/3		72 a	97 a	0,03 a	68 a

Les lettres placées après les données indiquent le niveau de signification du test 2 \hat{I} à 5%.

Florijn, leur comportement est analogue à celui de Pa2/3 (Tableau III): il se manifeste essentiellement par une forte masculinisation des individus développés.

2) *résistance issue de S. spegazzinii*. L'effet des trois QTL issus de *S. spegazzinii* correspond exclusivement à une très forte masculinisation de la population Chavornay de *G. pallida*. Ils sont sans effet sur la population

péruvienne P5A et réduisent légèrement la pénétration de la population péruvienne P6A, ce qui se traduit, in fine, par un léger déficit en femelles développées.

Les hybrides présentent un déficit moyen à fort de pénétration en présence et en absence des QTL, le plus fort déficit étant enregistré quand le parent est P6A. Les QTL ont une forte action sur leur masculinisation, mais le rapport des sexes des F1, intermédiaire entre celui

Tableau IV. Pénétration et développement des hybrides F1 de *G. pallida* et de leurs parents sur génotypes de *Solanum* avec ou sans QTL de résistance à la population Chavornay de *G. pallida* Pa2/3.

Hybrides de <i>Solanum</i>	QTL	Hybrides du nématode et parents	Pénétration (%)	Développement (%)	IA (σ / φ)	% φ
A: résistance issue de <i>S. spegazzinii</i>						
96D.32.65	0 QTL	P5A	85 a	95 a	0,11 a	73 a
		P6A	85 a	91 a	0,04 a	74 a
		Pa2/3	82 a	92 a	0,63 b	47 bc
		φ Pa2/3 \times σ P5A	70 b	95 a	0,04 a	64 b
		φ Pa2/3 \times σ P6A	54 c	94 a	0,04 a	49 c
96D.32.76	GpaV _{spg} + GpaVI _{spg} + GpaXII _{spg}	P5A	88 a	93 a	0,05 a	79 a
		P6A	72 b	90 a	0,08 a	60 b
		Pa2/3	73 b	88 a	5,70 c	10 e
		φ Pa2/3 \times σ P5A	73 b	96 a	0,58 b	44 c
		φ Pa2/3 \times σ P6A	61 c	93 a	0,84 b	31 d
B: résistance issue de <i>S. sparsipilum</i>						
96D.31.5	0 QTL	P5A	82 a	96 a	0,14 bc	69 a
		P6A	80 a	97 a	0,07 ab	73 a
		Pa2/3	79 a	91 a	0,06 ab	68 a
		φ Pa2/3 \times σ P5A	67 b	94 a	0,02 a	61 a
		φ Pa2/3 \times σ P6A	53 c	95 a	0,03 a	49 b
96D.31.51	GpaV ^s _{spl}	P5A	81 a	92 a	0,14 bc	66 a
		P6A	82 a	95 a	0,11 ab	71 a
		Pa2/3	77 a	80 b	134 e	0,5 c
		φ Pa2/3 \times σ P5A	68 b	95 a	0,55 d	42 b
		φ Pa2/3 \times σ P6A	58 bc	94 a	0,27 c	43 b

Les lettres placées après les données indiquent le niveau de signification du test 2 \hat{I} à 5%.

des parents, est cependant beaucoup plus proche de celui des populations péruviennes que de celui de la population européenne (Tableau IVA).

3) *résistance issue de S. sparsipilum*. En l'absence du QTL GpaV^{s_{spl}}, les populations péruviennes et européenne ont un comportement très proche. Comme dans le cas précédent, les hybrides présentent un déficit marqué de pénétration surtout si le parent péruvien est P6A, ce qui se traduit par une moindre formation de femelles.

Vis-à-vis de la population Chavornay, le QTL GpaV^{s_{spl}} a comme premier effet de limiter modérément le développement des nématodes pénétrés, puis de masculiniser presque tous les nématodes pénétrés. Il est

sans effet sur les populations péruviennes. Comme précédemment, la pénétration des F1 est inférieure à celle des parents, que le QTL GpaV^{s_{spl}} soit ou non présent, mais leur développement n'est pas entravé. Le rapport des sexes des hybrides sur génotype portant le QTL GpaV^{s_{spl}} est intermédiaire à celui observé chez les parents, mais beaucoup plus proche de celui des populations péruviennes (Tableau IVB).

Évolution de l'agressivité

Aucun juvénile de la population de Noirmoutier n'a pu être obtenu sur 94T146.52. Aucune donnée n'est donc disponible. L'impossibilité de détecter des kystes néoformés a conduit à récupérer tous les kystes présents

Tableau V. Comportement des populations de *G. pallida* après cinq années de pression de sélection sur des génotypes de pomme de terre à résistance provenant de *S. vernei*. A: population Noirmoutier; B: population Saint Malo.

Génotype d'origine	Génotype testé	Pénétration (%)	Développement (%)	IA (σ / φ)	% φ
A: population Noirmoutier					
Désirée	Désirée	83 ab	98 a	0,09 a	74 a
91T261.5	Désirée	79 ab	99 a	0,05a	75 a
60.96.1	Désirée	85 a	98 a	0,07 a	77 a
Désirée	91T261.5	66 c	85 bcd	14 c	4 c
91T261.5	91T261.5	70 bc	91 b	2 b	21 b
Désirée	60.96.1	61 de	84 b	8 c	6 c
60.96.1	60.96.1	73 bc	87 bc	3 b	15 b
Désirée	96F376.16	54 e	67 e	12 c	3 c
96F376.16	96F376.16	53 e	73 de	9 c	4 c
Désirée	360.96.21	63 c	76 cde	94 d	0,5 c
360.96.21	360.96.21	66 c	86 bcd	2 b	17 b
B: population Saint Malo					
Désirée	Désirée	82 ab	97 a	0,22 c	65 b
94T146.52	Désirée	75 abcd	95 a	0,12 bc	63 b
60.96.1	Désirée	79 abc	99 a	0,04 b	74 a
96F376.16	Désirée	83 a	97 a	0,01 a	80 a
357.96.18	Désirée	65 defg	99 a	0,06 b	61 b
Désirée	60.96.1	59 fgh	83 bc	97 f	0,5 e
60.96.1	60.96.1	61 efgh	77 bc	2 e	14 d
Désirée	94T146.52	53 gh	52 d	∞ f	0 e
94T146.52	94T146.52	66 cdefg	55 d	35 f	1 e
Désirée	96F376.16	72 bcdef	75 bcd	45 f	1 e
96F376.16	96F376.16	62 efg	85 b	110 f	0,5 e
Désirée	357.96.18	61 efgh	66 cd	21 f	2 e
357.96.18	357.96.18	49 h	96 a	0,59 d	29 c

Les lettres placées après les données indiquent le niveau de signification du test 2 \hat{I} à 5%.

dans le sol et à les mettre en éclosion. Aucun J2 n'a éclos.

Les résultats obtenus avec les autres combinaisons se trouvent en Tableaux VA et VB.

Le génotype 94T146.52 n'a entraîné aucune évolution dans l'agressivité de la population Saint Malo: les J2 éclos ont un comportement identique à ceux n'ayant pas subi la pression de sélection de ce génotype. La même conclusion s'impose avec le génotype 96F376.16 et ceci, qu'il s'agisse de la population de Saint Malo ou de celle de Noirmoutier. La population de Saint Malo, sélectionnée sur le génotype 357.96.18, se développe significativement mieux que celle non sélectionnée. Sur ce génotype, mais également sur les génotypes 60.96.1, 360.96.21 et 91T261.5, les nématodes sélectionnés se développent moins en mâles que les nématodes non sélectionnés, ce qui se traduit par une augmentation significative des femelles formées.

En termes de capacité adaptative, la charge portée par les individus de la population de Noirmoutier contournant en partie la résistance issue de *S. vernei* n'existe pas significativement (Tableau VA): les individus sélectionnés sur les génotypes 91T261.5 et 60.96.1 se développent de la même manière en termes de pénétration, de développement et de rapport des sexes sur Désirée que ceux qui n'ont pas été soumis à la pression de sélection.

Par contre, avec la population de Saint Malo (Tableau VB), les nématodes pénétrés qui ont subi cinq cycles de pression de sélection exercée par tous les génotypes résistants, excepté 94T146.52 présentent sur Désirée un indice andrique significativement inférieur à ceux qui n'ont subi aucune pression. In fine, le nombre de femelles formés sur Désirée par les nématodes sélectionnés sur 60.96.1 et 96F376.16 est plus élevé que celui provenant des nématodes n'ayant subi aucune pression de sélection.

DISCUSSION

Niveau de résistance des clones tétraploïdes face aux populations européennes de *G. pallida*

La résistance introgressée de *S. vernei* a un effet marqué sur les populations. Cet effet est parfaitement corrélé avec le niveau de résistance mesuré par les tests officiels réalisés en conditions semi-artificielles, qui sont ainsi validés par les résultats obtenus ici en conditions naturelles (Fig. 1). Quand le niveau de population avant culture est très élevé, les génotypes à très forte résistance ont un effet drastique sur les nématodes, conduisant à des réductions de populations de l'ordre de 90%. En conditions de monocultures, c'est ce niveau de résistance qu'il faut viser, seul capable de contrebalancer une multiplication ultérieure consécutive à la culture d'une variété sans résistance. Si les pratiques culturales impliquent une certaine rotation, des niveaux de résistance plus faibles pourront être choisis, d'autant plus faibles que la rotation sera allongée. Quand le niveau de population initial est faible, on observe un maintien des po-

pulations, preuve que certains nématodes parviennent à l'état de femelles et engendrent une nouvelle génération. Dans les conditions d'expérimentation, il n'a pas été possible de détecter un quelconque contournement de la résistance. Ceci ne signifie pas qu'elle n'ait pas eu lieu, mais si elle a eu lieu, elle est trop faible pour être mesurée. Cette conclusion est aussi bien vérifiée pour les génotypes à très forte résistance que pour les génotypes à résistance intermédiaire. En cela, ces résultats contredisent ceux de Turner (1990).

Il n'en reste pas moins que cinq années de pression de sélection exercée par des génotypes à assez forte résistance sont un délai suffisant pour entraîner une évolution significative de l'agressivité de *G. pallida* Pa2/3. Quand ce début de contournement est noté, il se manifeste d'abord par un accroissement du développement des J2, ensuite par une moindre masculinisation des nématodes en développement. Il aurait été possible de supposer qu'un génotype dont la résistance s'exerce d'abord en entravant le développement aurait une résistance plus difficile à contourner. L'exemple du génotype 357.96.18 infirme cette hypothèse. Par contre, il est notoire que les génotypes dont la résistance s'exerce presque exclusivement par une masculinisation voient leur résistance contournée (Tableau V).

Le type de géniteur, donneur de résistance pourrait-il être incriminé ? Là encore, les résultats sont contradictoires: les génotypes 96F376.16 et 60.96.1 ont le même géniteur de résistance et sont au même niveau de back-cross. La résistance de l'un est contournée (60.96.1), celle de l'autre ne l'est pas (96F376.16).

En fait, on peut considérer que les contournements des résistances provenant de *S. vernei* sont évidemment possibles. La vitesse, voire son éventualité, sont certainement fonction du niveau initial de résistance et de la précocité de réaction dans les racines. Mais le type de croisement réalisé, le géniteur d'origine et le parent non résistant sont des facteurs non négligeables mais non prédictifs.

Cependant, même quand ce contournement existe parce que constaté *in vitro*, il est encore trop faible pour être noté en termes de dynamique de population en conditions naturelles. Il n'en reste pas moins qu'il existe. L'introgression de QTL provenant de *S. sparsipilum* et/ou de *S. spagazzinii* dans un fonds *S. vernei* pourrait fortement contribuer à ralentir la sélection pour l'agressivité.

Efficacité des résistances face aux populations péruviennes de *G. pallida*

L'exploitation d'hybrides entre populations péruviennes et européenne pour étudier l'hérédité de la virulence ou de l'agressivité peut être discutée. En effet, les études réalisées sur le protéome, l'ITS du gène 5.8S, les ADN satellites (Grenier *et al.*, 2001; Subbotin *et al.*, 2000) montrent que les populations péruviennes diffèrent des populations européennes, alors qu'elles-mêmes sont interfécondes (Franco et Gonzalez, 1990). Il aurait été moins discutable de réaliser cette étude en opérant

comme le firent Janssen *et al.* (1991) avec *G. rostochiensis* sur des nématodes sélectionnés par pression de sélection récurrente sur des populations avirulentes. Mais ces populations n'existent pas. Récemment, par analyse de l'ADN mitochondrial, Picard (2005) a montré que les populations européennes de *G. pallida* étaient originaires du sud du Pérou et que plusieurs clades pouvaient être distingués au Pérou entre le nord, le centre et le sud de ce pays. Les résultats des hybridations entre P5A/P6A et Pa2/3 montrent que ces hybridations donnent naissance à des individus viables et féconds et qu'aucune barrière génétique ne peut être mise en évidence. L'appartenance à l'espèce *G. pallida* des populations du nord et du centre du Pérou ne fait donc aucun doute. L'utilisation des populations péruviennes dans le cadre précis de l'étude de l'hérédité de l'agressivité et de la virulence n'est donc pas contestable.

L'examen du comportement des hybrides sur matériel végétal à niveau de résistance élevé montre que les caractères d'agressivité ou de virulence de *G. pallida* à l'égard de la résistance de la pomme de terre sont peu héréditaires quand cette résistance provient de *S. vernei*, fortement héréditaires quand elle provient de *S. spgazzinii* et de *S. sparsipilum*.

Dans le premier cas, la résistance est polygénique. Les hybrides *G. pallida* issus de croisements agressifs × non agressifs ne sont agressifs ni en F1, ni en F2. Ces résultats sont compréhensibles si l'on admet que pour devenir virulent, un nématode doit accumuler un certain nombre de gènes de virulence en rapport avec les gènes ou QTL de résistance de la plante. On peut donc parier sur une certaine durabilité des résistances issues de *S. vernei*.

Dans les autres cas, la résistance de la pomme de terre au nématode est sous la dépendance de QTL dominants à effet très fort, analogues à des gènes majeurs dominants. Dans ces conditions, on aurait dû s'attendre à observer une F1 du nématode avirulente et une F2 virulente pour 25% des effectifs, c'est-à-dire à vérifier la théorie de Flor, voulant qu'à un gène majeur et dominant de résistance corresponde un gène majeur et récessif de virulence chez le pathogène, comme Janssen *et al.* (1991) l'ont vérifié avec *G. rostochiensis* et le gène H1 de la pomme de terre. Dans les deux cas de résistance provenant de *S. spgazzinii* et de *S. sparsipilum*, les hybrides F1 de *G. pallida* provenant de croisement virulent × avirulent sont virulents dans leur très grande majorité et non pas 100% avirulents. La récessivité des gènes de virulence est donc exclue.

La durabilité des résistances introgressées est donc directement posée. Dans le cas des QTL de résistance provenant de *S. spgazzinii* et de *S. sparsipilum*, l'alternative est simple. Si ces QTL sont introgressés seuls et au niveau simplex, le contournement est prévisible si les gènes de virulence correspondants sont présents dans les populations du nématode. La vitesse de contournement est, dans ce cas, fonction de la proportion d'individus virulents dans les populations d'origine. On retrouverait alors le scénario présenté par Huisman

(1961) mais bien plus rapide, étant donné la dominance des gènes de virulence. Ce contournement pourra peut-être être ralenti quand on disposera de génotypes cumulant les QTL des deux origines. L'autre possibilité est que les gènes de virulence ne sont pas présents, soit à l'intérieur de populations particulières, soit à l'intérieur du continent européen, tout simplement parce qu'ils n'y ont pas été introduits. On pourrait alors se trouver dans une situation de durabilité très forte, identique à celle du gène H1 en Grande Bretagne, gène non contourné malgré des années de pression de sélection exercée par la culture de variétés résistantes (Stone *et al.*, 1986; Zaher *et al.*, 1993).

Dans le cas de résistance polygénique issue de *S. vernei*, les résultats sont foncièrement différents. Les hybrides de *G. pallida* provenant des croisements entre individus agressifs et individus non agressifs n'héritent pas de cette agressivité. Le comportement des F1 ne diffère pas de celui des parents non agressifs et aucune évolution n'est notée chez les F2. Ces résultats infirment ceux de Turner (1983, 1990) et de Turner et Fleming (2002), le premier ayant par ailleurs été remis en cause par Caligari et Phillips (1984). Une explication potentielle pourrait venir du fait que le niveau de résistance des génotypes utilisés par Turner (1990) était beaucoup plus faible que celui utilisé dans la présente étude. Que ce soit pour Florijn ou pour les autres génotypes, les niveaux de résistance, exprimés selon l'échelle OEPP (Ellis *et al.*, 1992) se situent dans une fourchette allant de 5,8 à 7,5 sur une étendue allant de 2 à 9 (Tableau I). Les indications fournies sur les génotypes utilisés par Turner (1990) montrent que leurs niveaux de résistance sont beaucoup plus bas, de l'ordre de 3 à 4 sur la même échelle. Il est possible que ce différentiel explique la contradiction des résultats obtenus, lesquels montraient a contrario une évolution de l'agressivité dès la première année de culture. Cette hypothèse s'accorde bien avec le fait que le génotype 94T146.52, à l'égard duquel aucun contournement de résistance n'a pu être observé, est le plus résistant des génotypes testés. Mais elle est en partie contredite par l'examen du génotype 360.96.21 dont la résistance est fortement contournée par les deux populations utilisées, malgré un niveau initial de résistance très élevé. Beniers *et al.* (1995) observent le même phénomène avec le cultivar Karakter dont la très forte résistance s'effrite rapidement alors que celle, très partielle, de la variété Elkana ne change pas.

Caractéristiques des clones possédant les trois origines de résistance étudiées et lien avec la durabilité potentielle de la résistance

La résistance des clones de pomme de terre qui ont été utilisés dans ce travail provient principalement de trois espèces apparentées à *S. tuberosum*: *S. vernei*, *S. spgazzinii*, et *S. sparsipilum*. Le déterminisme génétique de la résistance de clones originaires de ces trois espèces a été étudié précédemment (Kreike *et al.*, 1994; Ruppe van der Voort *et al.*, 1998, 2000; Bryan *et al.*, 2002; Ca-

romel *et al.*, 2003, 2005). Dans tous les cas, ces résistances se caractérisent par un QTL à effet fort, localisé en position colinéaire sur le bras court du chromosome V, l'action de ce QTL à effet fort pouvant être complétée par celui de QTL à effet faible. Des QTL à effet faible sont également présents dans le fonds génétique de l'espèce cultivée *S. tuberosum* (Caromel, 2004).

Les clones dont la résistance est principalement originaire de *S. vernei* sont le fruit d'un énorme travail de sélection qui dure depuis plusieurs décennies. Ces clones ont plusieurs accessions résistantes de *S. vernei* (et également d'autres espèces apparentées comme *S. tuberosum* ssp. *andigena*) dans leur ascendance. Comme ils sont tétraploïdes et qu'ils ont subi de nombreux cycles de sélection (6 à 8), il est probable que plusieurs copies (duplex ou triplex) de ces QTL de résistance sont présentes chez ces clones et qu'ils ont également plusieurs QTL à effet faible originaires de *S. tuberosum*. À titre d'exemple, la résistance de *S. vernei* vis-à-vis de *G. pallida* a été introgressée cinq fois dans le clone de pomme de terre AM 78-3778 (http://potatodb.dpw.wau.nl/pedigree_imagemap.php?id=650), qui entre dans le pedigree de trois des sept clones étudiés ici (96F376.16, 60.96.1, 94T146.52).

Inversement, les clones étudiés dont la résistance est originaire de *S. spegazzinii* et de *S. sparsipilum* sont des clones diploïdes, directement issus du croisement interspécifique entre une accession sauvage résistante à *G. pallida* Pa2/3 et un clone dihaploïde non résistant de l'espèce cultivée. Ces clones n'ont subi qu'un seul cycle de sélection pour la résistance. Le clone 96D.32.76 possède une copie (simplex) des trois QTL de résistance détectés chez le parent résistant spg.88S.334.19 (Caromel *et al.*, 2003). Le clone 96D.31.51 ne possède qu'une copie (simplex) d'un seul des deux QTL (le QTL à effet fort) détecté chez le parent résistant spl.88S.329.18 (Caromel *et al.*, 2005). Des études préliminaires ont montré que ce QTL à effet fort conférerait des niveaux de résistance très inégaux face à différentes populations européennes de *G. pallida* lorsqu'il n'était pas associé au QTL à effet faible, alors que la présence des deux QTL permettait d'assurer un fort niveau de résistance face à huit populations différentes (Caromel, 2004).

La différence de durabilité potentielle observée entre les clones dont la résistance provient, d'une part de *S. spegazzinii* et *S. sparsipilum*, d'autre part de *S. vernei*, peut donc s'expliquer par le nombre et le niveau de ploïdie des QTL de résistance portés par les génotypes diploïdes 96D32 et 96D31 d'une part, par les génotypes tétraploïdes d'autre part. Pour que des variétés dont la résistance est originaire de *S. spegazzinii* et *S. sparsipilum* acquièrent la même durabilité potentielle que les clones tétraploïdes dont la résistance est originaire de *S. vernei*, il sera probablement nécessaire d'introgresser les QTL de résistance au niveau duplex, voire triplex et/ou de compléter leur effet par des QTL originaires de *S. tuberosum* ou d'autres espèces apparentées.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient C. Rouaux, D. Fouville, R. Pelé, M. Bozec, J.P. Dantec pour la mise en place des tests nématologiques et pour leur participation à la création du matériel végétal résistant, les sélectionneurs Comité Nord, Bretagne-Plants et Grocep pour la fourniture de génotypes. Une partie de ces recherches a été financée par un appel d'offre CTPS "Gestion temporelle et spatiale des variétés au niveau des bassins de production".

LITTÉRATURE CITÉE

- Anonyme, 2007. Council directive 2007/33/EC of 11 June 2007 on the control of cyst nematodes and repealing Directive 69/465/EEC. *Official Journal of the European Union* 16.06.2007, L156/12-22.
- Arbonnier P., 1966. L'analyse de l'information. Aperçu théorique et application à la loi multinomiale. *Annales des Sciences forestières*, 23: 950-1009.
- Beniers A., Mulder A. et Schouten H. J., 1995. Selection for virulence of *Globodera pallida* by potato cultivars. *Fundamental and Applied Nematology*, 18: 497-500.
- Bryan G.J., McLean K., Bradshaw J.E., de Jong W.S., Phillips M., Castelli L. et Waugh R., 2002. Mapping QTLs for resistance to the cyst nematode *Globodera pallida* derived from the wild potato species *Solanum vernei*. *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 68-77.
- Caligari P.D.S. et Phillips M.S., 1984. A re-examination of apparent selection in *Globodera pallida* on *Solanum vernei* hybrids. *Euphytica* 33: 583-586.
- Caromel B., 2004. Cartographie génétique et étude de QTL conférant la résistance au nématode à kyste *Globodera pallida* (Stone) chez la pomme de terre (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.). Thèse Université Paris XI Orsay, 133 pp.
- Caromel B., Mugniéry D., Lefebvre V., Andrzejewski S., Ellissèche D., Kerlan M-C., Rousselle P. et Rousselle-Bourgeois F., 2003. Mapping QTLs for resistance against *Globodera pallida* (Stone) Pa2/3 in a diploid potato progeny originating from *Solanum spegazzinii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 1517-1523.
- Caromel B., Mugniéry D., Kerlan M-C., Andrzejewski S., Palloix A., Ellissèche D., Rousselle-Bourgeois F. et Lefebvre V., 2005. Resistance QTLs originating from *Solanum sparsipilum* act independently on the sex-ratio of *Globodera pallida* and together for developing a necrotic reaction. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 18: 1186-1194.
- Ellissèche D. et Mugniéry D., 1992. Proposal of an official notation for potato variety resistance to *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. Proceedings of the Joint Conference of the EAPR Breeding & Varietal Assessment Section and the EUCARPIA Potato Section, Landerneau, France, 12-17 January 1992. INRA, Ploudaniel, France: 1992. 211-212.
- Foot M.A., 1976. Laboratory rearing of potato cyst nematode; a method suitable for pathotyping and biological studies. *New Zealand Journal of Zoology*, 4: 183-186
- Franco J. et Gonzalez A., 1990. A new race of *Globodera pallida* attacking potatoes in Peru. *Revue de Nématologie*, 13: 181-184.

- Grenier E., Bossis M., Fouville D., Renault L. et Mugniéry D., 2001. Molecular approaches to the taxonomic position of the Peruvian potato cyst nematodes and gene pool similarities in indigenous and imported populations of *Globodera*. *Heredity*, 86: 277-290.
- Huijsman C.A., 1961. The influence of resistant potato varieties on the soil population of *Heterodera rostochiensis* Woll. *Nematologica*, 6: 177-180.
- Janssen R., Bakker J. et Gommers F.J., 1991. Mendelian proof for a gene-for-gene relationship between virulence of *Globodera rostochiensis* and the H1 resistance gene in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 1673. *Revue de Nématologie*, 14: 213-219.
- Kreike C.M., Koning J.R.A. de Vinke J.H., van Ooijen J.W. et Stiekema W.J., 1994. Quantitatively-inherited resistance to *Globodera pallida* is dominated by one major locus in *Solanum spetzianii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 88: 764-769.
- Mugniéry D. et Person F., 1976. Méthode d'élevage de quelques nématodes à kystes du genre *Heterodera*. *Sciences Agronomiques*, Rennes: 217-220.
- Mugniéry D., Fouville D., Dantec J-P., Pellé R., Rousselle-Bourgeois F. et Ellissèche D., 2001. Résistance à *Globodera pallida* Pa2/3 chez *Solanum sparsipilum*. *Nematology*, 3: 619-626.
- Picard D., 2005. Génétique des populations et phylogéographie du nématode à kyste de la pomme de terre (*Globodera pallida*) au Pérou. Thèse, Agrocampus Rennes, 2005, 192 pp.
- Roupe van der Voort J.N.A.M., Lindeman W., Folkertsma R., Hutten R.C.B., Overmars H., Van der Vossen E., Jacobsen E. et Bakker J., 1998. A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* spp.) maps to a resistance gene cluster in potato. *Theoretical and Applied Genetics*, 96: 654-661.
- Roupe van der Voort J.N.A.M., van der Vossen E., Bakker E., Overmars H., van Zandvoort P., Hutten R., Klein Lan-
khorst R. et Bakker J., 2000. Two additive QTLs conferring broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 1122-1130.
- Schouten H.J. et Beniers A., 1997. Durability of resistance to *Globodera pallida* I. Changes in pathogenicity, virulence, and aggressiveness during reproduction on partially resistant potato cultivars. *Phytopathology*, 87: 862-867.
- Stone A.R., Holliday J.M., Mathias P.L. et Parrott D.M., 1986. A selective survey of potato cyst-nematode pathotypes in Great Britain. *Plant Pathology*, 35: 18-24.
- Subbotin S.A., Halford P.D., Warry A. et Perry R.N., 2000. Variations in ribosomal DNA sequences and phylogeny of *Globodera* parasitising solanaceous plants. *Nematology*, 2: 591-604.
- Thiéry M. et Mugniéry D., 1996. Interspecific spacers rDNA RFLP's in *Globodera* species parasites of Solanaceous plants. *Fundamental and Applied Nematology*, 19: 471-479.
- Turner S.J., Stone A R. et Perry J.N., 1983. Selection of potato cyst-nematodes on resistant *Solanum vernei* hybrids. *Euphytica*, 32: 911-917.
- Turner S.J., 1990. The identification and fitness of virulent potato cyst-nematode populations (*Globodera pallida*) selected on resistant *Solanum vernei* hybrids for up to eleven generations. *Annals of applied Biology*, 117: 385-397.
- Turner S.J. et Fleming C.C., 2002. Multiple selection of potato cyst nematode *Globodera pallida* virulence on a range of potato species. I. Serial selection of *Solanum*-hybrids. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 461-467.
- Vrain T.C., Wakarchuk D.A., Lévesque A.C. et Hamilton R.I., 1992. Interspecific RDNA restriction length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology*, 15: 563-573.
- Zaheer K., Fleming C.C. et Turner S.J., 1993. Distribution and frequency of occurrence of potato cyst nematode pathotypes in Northern Ireland. *Plant Pathology*, 42: 609-616.