

Monitorage des virulences et structure des populations de l'oïdium de 2003 à 2010

Fabio Mascher¹, Caterina Matasci^{1,2}, Stefan Kellenberger¹, Bernard Beuret³, Mélanie Beuret³, Geri Busslinger⁴, Jost Doernte^{2*}, Michel Gygax⁵, Andreas Hecker⁶, Lena Heinzer⁷, Markus Hochstrasser⁸, Michel Horner⁹, Peter Kunz¹⁰ et Ueli Merz¹¹

¹Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, 1260 Nyon, ²Delley Semences et Plantes, 1567 Delley, ³Fondation Rurale Interjurassienne, 2852 Courtételle, ⁴Kantonaler Pflanzenschutzdienst, Liebegg, 5722 Gränichen, ⁵Kantonaler Pflanzenschutzdienst, Rütli, 3052 Zollikofen, ⁶Station de recherche Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, 8056 Zurich, ⁷Landwirtschaftsamt, Kanton Schaffhausen, 8212 Neuhausen am Rheinfall, ⁸Fachstelle Pflanzenschutz, Strickhof Lindau, 8315 Lindau, ⁹Office Phytosanitaire Cantonal, 2053 Cernier, ¹⁰Getreidezüchtung Peter Kunz, Hof Breitlen 5, 8634 Hombrechtikon, ¹¹Pflanzenpathologie/IBZ, ETH Zurich, 8092 Zurich

*adresse actuelle: Deutsche Saatveredelung AG, 01665 Käbschütztal, Allemagne.

Renseignements: Fabio Mascher, e-mail: fabio.mascher@acw.admin.ch, tél. +41 22 363 47 33



Figure 1 | Sites d'observation des populations d'oïdium du blé en Suisse.

Introduction

L'oïdium du blé, causé par le champignon *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*, est une maladie qui peut avoir un fort impact économique sur la production de blé. Sur triticales, ce même pathogène peut engendrer des réductions de rendement allant jusqu'à 30% (Mascher *et al.* 2006).

L'utilisation de variétés de blé résistantes permet aux producteurs de cultiver selon les prescriptions des méthodes *extenso* et biologiques dans la plupart des situations en Suisse. Les plantes disposent de différents

outils pour contrecarrer une infection par le champignon. La reconnaissance réciproque plante – pathogène est le mécanisme de résistance le plus étudié à ce jour. Lorsqu'une spore du champignon entre en contact avec la plante, la reconnaissance rapide de l'intrus permet la mise en place de barrières physiques et chimiques évitant l'installation durable du parasite (Hsam et Zeller 2002). Cette identification rapide est assurée par les gènes «Pm» (de l'anglais: powdery mildew) de la plante. Le pathogène, de son côté, est capable de cacher sa présence à la plante, en changeant ses caractéristiques

génétiques. Une plante est donc résistante si elle peut rapidement détecter la présence du pathogène et en corolaire le pathogène est virulent s'il arrive à masquer sa présence à la plante. Cette interaction est dite une interaction gène-pour-gène entre le pathogène et la plante. Actuellement, environ 45 gènes et allèles *Pm* du blé sont connus (Alam *et al.* 2011).

La sélection de variétés résistantes se base sur la connaissance des virulences des pathogènes pour déployer les gènes de résistance efficaces (Wolfe 1993; Cunfer 2002). Depuis 80 ans, plusieurs études sur la composition des virulences des populations de l'oïdium du blé ont été réalisées en Europe, aux Etats-Unis et ailleurs. Ces études se basent généralement sur l'isolation de souches individuelles et l'analyse de leurs virulences à l'aide de lignées différentielles (Streckeisen et Fried 1985; Parks *et al.* 2008). Il s'agit généralement de variétés de blé avec un seul gène de résistance spécifique et bien caractérisé ou une combinaison de tels gènes.

La présente étude avait pour but de repérer les virulences présentes sur le territoire suisse (fig. 1) avec une nouvelle approche de monitoring global des virulences. Pour cela, les lignées différentielles sont directement semées au champ sur plusieurs sites et la présence ou l'absence de virulence est notée sur place. Cette approche permet de répertorier les virulences présentes dans les populations d'oïdium sur de nombreux sites de manière simple et peu onéreuse. Dans un premier temps, les résultats obtenus sont comparés avec les observations réalisées dans des études avec des isolats purifiés (Streckeisen et Fried 1985; Clarkson 2000). Après l'établissement d'un répertoire de virulence en Suisse, les changements dans les populations du pathogène sont présentés selon les années et entre les sites d'observation. Cette publication se limite à présenter les observations et compare les fréquences des virulences entre les sites et les années afin d'apporter des renseignements importants pour la sélection de variétés de blé résistantes contre l'oïdium et en soutien aux essais LR.

Matériel et méthodes

Les lignées différentielles et les semis

Le set est composé de 24 lignées différentielles et d'un mélange de variétés de blé très sensibles à l'oïdium. L'origine et le gène de résistance des variétés sont décrits dans le tableau 1. La lignée W150 (*Pm3e*) n'était disponible qu'entre 2007 et 2010. Les lignées ont été multipliées en serre ou en couche maraîchère. Avant la floraison, les fleurs ont été protégées par des sachets en papier pour garantir l'autofécondation et ainsi obtenir des semences pures. Les tests ont été semés manuelle-

Résumé ■ La sélection de variétés de blé résistantes à l'oïdium a besoin d'informations sur la présence de virulences et la structure des virulences dans les populations d'oïdium locales. Ce travail présente une nouvelle approche d'analyse de virulences par analyse globale et non pas par l'analyse des constituants de la population. En plantant les lignées différentielles directement au champs, il est possible d'analyser toutes les virulences qui surviennent pendant la saison. Des parcelles de monitoring ont été plantées entre 2003 et 2010 dans 8 à 17 sites en Suisse pour un total de 104 emplacements. Les résultats montrent que les virulences les plus dominantes sont inchangées depuis plus de 20 ans. La fréquence de virulences complexes a vraisemblablement augmenté. La structure des populations est très changeante dans l'espace et dans le temps. Elle dépend probablement des gènes de résistance déployés dans les variétés de blé cultivés et de facteurs environnementaux qui n'ont pas pu être approfondis ici. En résumé, l'approche globale de monitoring est suffisante dans un contexte de sélection. A l'avenir, ce système sera utilisé pour examiner l'efficacité et la durabilité de nouvelles sources de résistance.

ment en poquets au mois de mars ou avril de chaque année, en maintenant une distance de 30 à 40 cm en tous sens (fig. 2).

Lieux et années

Les lieux et les années d'observation sont présentés dans le tableau 1. Tous les sites se trouvaient près de champs de blé cultivés en bio ou en *extenso*. Aucun traitement fongicide n'a été appliqué. Les parcelles d'observation ont généralement été désherbées à la main. Les emplacements des parcelles d'observations changent légèrement d'une année à l'autre en raison de la disponibilité de l'expérimentateur ou de la rotation des cultures voisines. En cas d'absence de la maladie sur les variétés de référence sensibles (mélange de la variété Kanzler et autres), le site n'est pas retenu. >

Tableau 1 | Lignées différentielles portant des gènes de résistance spécifiques contre l'oïdium du blé

Nom	Gène de résistance	Origine	Année	Référence résistance oïdium
Kanzler/O--/93Z60	mélange sensibles	Allemagne et Suisse		
AXMINSTER/8*CC	Pm 1	Etats-Unis	1966	Hsam et Zeller, 2002
ULKA/8*CC	Pm 2	USA Maryland	1972	Hsam et Zeller, 2002
ASOSAN/8*CC	Pm 3a	USA Maryland	1966	Hsam et Zeller, 2002
CHUL/8*CC	Pm 3b	Kirgiz Landrace	1903	Hsam et Zeller, 2002
SONORA/8*CC	Pm 3c	USA Maryland	1972	Hsam et Zeller, 2002
KOLIBRI	Pm 3d	Allemagne	1966	Hsam et Zeller, 2002
MICHIGAN AMBER/8*CC	Pm 3f	USA Mississippi	1964	Hsam et Zeller, 2002
ARISTIDE	MIAr	France	1984	Hsam et Zeller, 2002
KHAPLI/8*CC	Pm 4a	USA Maryland	1975	Hsam et Zeller, 2002
ARMADA (Z60647WA)	Pm 4b	Grande-Bretagne	1978	Hsam et Zeller, 2002
HOPE	Pm 5	USA, South Dakota	1927	Hsam et Zeller, 2002
TIMGALEN	Pm 6	New South Wales	1967	Hsam et Zeller, 2002
TRANSFED	Pm 7	Australie	-/-	Hsam et Zeller, 2002
SALZMUENDE 14-44	Pm 8	Allemagne	1957	Hsam et Zeller, 2002
WEMBLEY (Z80635)	MISo	Grande-Bretagne	1985	Hsam et Zeller, 2002
AMIGO	Pm 17	USA Oklahoma	1878	Hsam et Zeller, 2002
MARIS DOVE	Pm 2+Mld	Grande-Bretagne	1971	McIntosh, 1988
NORMANDIE	Pm 1+2+9	France	1943	McIntosh, 1988
LAVETT	Pm 3d+4b+U2	Suède	1992	Bundessortenamt, 1995
KNIRPS	Pm 2+4b+6+8	Allemagne	1985	AGES, 2000
WALTER	Pm1+4b+6(2Mld9)	Suède	1979	McIntosh, 1988
TORONIT	Pm 3b	Suisse	2001	O. Moullet, comm. pers.
AXONA	MIAX	Pays-Bas	1983	AGES, 2000
W150 ¹	Pm 3e	Australie (de R. Park)	inconnu	Tommasini <i>et al.</i> , 2006;

¹utilisée de 2007 à 2010.



Figure 2 | Mise en place des essais en plein champs. Les lignes différentielles sont semées en poquets. Site de Dampheux en Ajoie (JU).

Notations et traitement des données

La notation a été effectuée lorsque des symptômes étaient présents sur le mélange des variétés sensibles (fig. 3). Une notation simplifiée de présence et d'absence de symptômes a été faite sur chaque variété. Seule la présence de pustules sur les feuilles était notée tandis que d'éventuelles pustules sur la gaine ou sur la base des chaumes n'ont pas été prises en considération. Les données ainsi récoltées ont été saisies à l'aide d'un formulaire sur le site internet d'Agroscope (<http://tinyurl.com/monitorageOidium>).

Un total de 104 populations d'oïdium (tabl. 2) a été retenu pour cette publication. La structure des virulences des populations et les similitudes entre les années et les sites d'observation ont été analysées avec le logiciel HaGis (Hermann *et al.* 1999).

Tableau 2 | Lieux et années d'observation des populations observées. Chaque «x» désigne une population utilisée dans cette étude.

Lieux	Altitude	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	observations/ lieu
Begnins VD	545 m					x	x	x	x	4
Nyon-Changins VD	430 m	x	x	x	x	x	x	x	x	8
Dampfreux JU	420 m	x	x	x	x	x	x	x	x	8
Delley FR	540 m				x	x	x	x	x	5
Fehraltorf ZH	530 m				x	x			x	3
Goumoëns-la-Ville VD	617 m	x	x	x	x	x	x	x	x	8
Grüningen ZH	502 m				x	x	x		x	4
Hombrechtikon ZH	464 m	x	x	x	x	x				5
Gränichen Liebegg AG	411 m		x	x	x	x				4
Lindau Eschikon ZH	520 m		x	x	x	x	x	x	x	7
Posieux FR	700 m		x	x	x	x	x			5
Pully VD	450 m					x	x	x	x	4
Reckenholz ZH	450 m		x	x		x	x	x	x	6
Rheinau ZH	400 m	x	x	x	x	x	x	x	x	8
Schaffhausen SH	500 m				x		x	x		3
Vouvry VS	390 m	x	x	x	x	x	x	x	x	8
La Tène NE	450 m	x	x	x		x	x		x	6
Winterthur ZH	440 m				x	x		x		3
Zollikofen BE	560 m	x	x	x	x		x			5
observations / année		8	12	12	15	17	15	12	13	104

Résultats

Structure des populations d'oïdium du blé en Suisse

La distribution du nombre de virulences présentes dans les 104 populations d'oïdium est présentée dans la figure 4. La majeure partie des populations combine un nombre élevé de virulences et environ 18 % des populations sont capables de contourner tous les gènes de résis-



Figure 3 | Notation des symptômes sur la plante. La présence de pustules sur les plantes a été relevée plusieurs fois pendant la saison. Site de Zollikofen (BE).

tance testés. Seule une faible proportion des populations ne possède qu'1 à 6 virulences. La figure 5 montre la fréquence des virulences dans les populations. Plus de 80 % des populations ont pu contourner les résistances *Pm1*, *Pm2*, *Pm3c*, *Pm2g*, *Pm4a*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm7*, *Pm8*. Le fait que la résistance combinée *Pm2,4b,6,8* ait été contournée signale la présence d'individus combinant toutes ces virulences. Les résistances *Pm17*, *PmM1ax*, et les combinaisons *Pm3d*, *4b* et *U2* ainsi que *Pm1*, *4b,6(2M1d9)* sont en revanche représentées dans moins de 50 % des populations observées.

Comparaisons entre les sites et entre les années

Les comparaisons de la composition des virulences entre sites sur la même année et entre années sur un même site sont présentées par des matrices de similitude. En 2004, plusieurs tendances se dégagent entre populations sur les différents sites (fig. 6). Les sites de Reckenholz et Vouvry sont semblables à tous les autres sites à environ 70 %. Les sites de Dampfreux, Eschikon, Rheinau et Changins sont à plus de 90 % semblables. Le site de Liebegg est semblable à ceux de Changins, Dampfreux, Eschikon et Vouvry à 86 %. Pour 2006, seuls les sites de Zollikofen, Liebegg et Winterthur présentaient le même motif, tandis que les autres étaient tous semblables à un

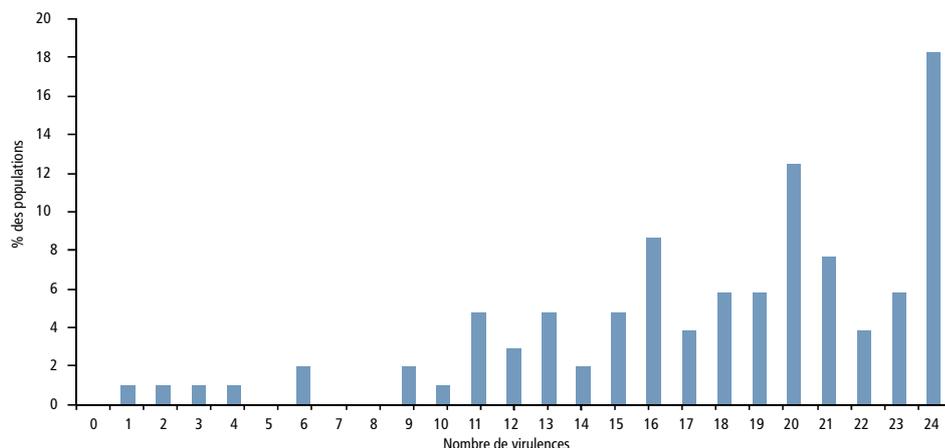


Figure 4 | Complexité des virulences dans les 104 populations d'oïdium de blé observées sur une période de 8 ans en Suisse.

degré inférieur. L'année 2010, par contre, est caractérisée par un degré élevé de similitude entre tous les sites, à l'exception de Fehraltorf et Pully. Ici, Fehraltorf montre seulement un degré de similitude entre 39 % et 48 % et Pully entre 61 % et 73 % avec tous les autres sites. Les sites Pully et Fehraltorf sont quant à eux similaires à 59 %.

Les similitudes entre les années d'observation sur un même lieu offrent également des motifs très diversifiés. Seuls les 6 lieux suivis sur plus de 7 ans d'observation ont été retenus pour cette analyse (fig. 7). A Changins et Goumoëns, dans les années 2003 à 2005, les populations du pathogène présentent une similitude à plus de 90 %. A Dampheux, en 2009, les virulences des populations du pathogène n'étaient similaires qu'à 8 et 17 % aux virulences de toutes les autres années. Ce même constat peut être fait pour Vouvry dans l'année 2008.

Discussion

Le but de ce travail était de tester une nouvelle méthode permettant de répertorier la présence ou l'absence de virulences de l'oïdium par une approche d'analyse globale de la population et non par l'étude de ses constituants. Les lignées différentielles utilisées incluaient les résistances recommandées par Clarkson (2000) pour l'analyse des virulences de l'oïdium du blé en Europe. Les virulences et leurs fréquences observées ici sont comparables aux données publiées par plusieurs auteurs en Suisse et en Europe (Clarkson 2000; Winzeler *et al.* 1990; Streckeisen et Fried 1985). Il faut également noter que la structure des populations d'oïdium en Europe est très semblable aux populations Nord-Américaines (Parks *et al.* 2008). Plusieurs publications évoquent l'adaptation

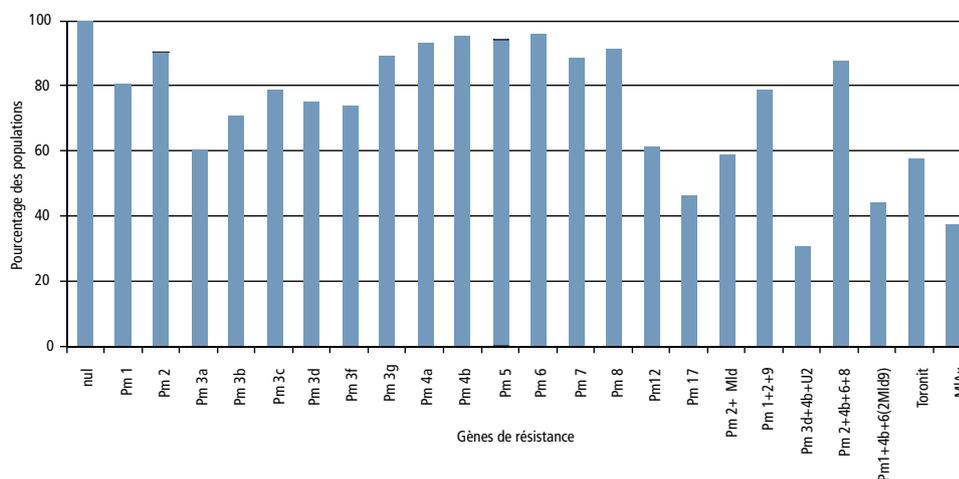


Figure 5 | Fréquence de contournements des résistances dans les 104 populations d'oïdium du blé.

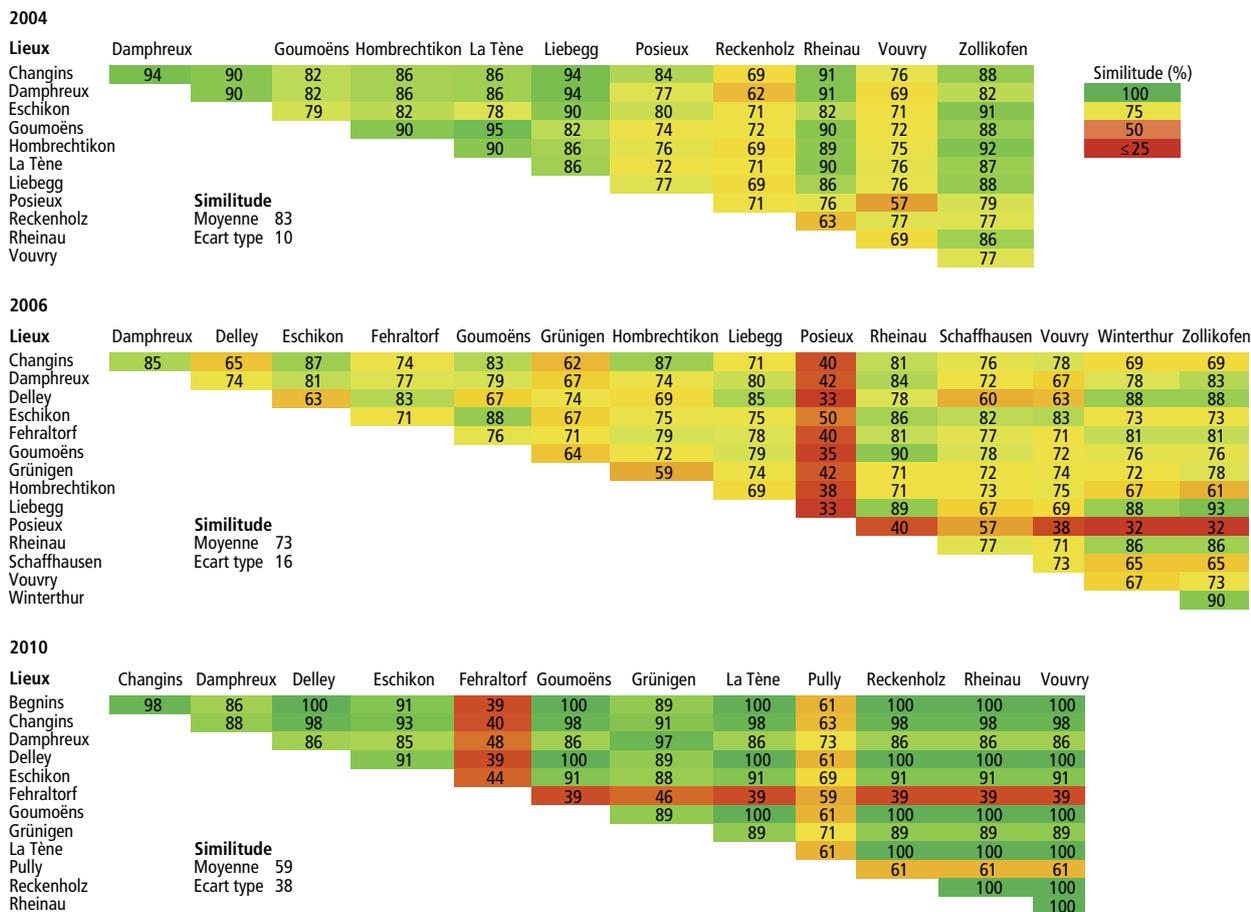


Figure 6 | Matrice de similitude de la structure des virulences entre les lieux d'observation en 2004, 2006 et 2010.

rapide de l'oïdium aux nouvelles résistances déployées (Winzeler et al. 1991). Il est donc vraisemblable que les variétés de blé en Europe et aux Etats-Unis portent les mêmes gènes de résistance, exerçant une pression de sélection similaire sur les populations. Pour éviter un contournement des virulences, les sélectionneurs ont développé des variétés cumulant de multiples résistances. Ces résistances pourtant complexes, à l'exemple de la variété Walter (tabl. 2), sont souvent contournées peu après leur mise sur en culture (Fischbeck 1997). Nos résultats montrent que la combinaison de résistances de la variété Knirps (*Pm2,4b,6,8*) a été contournée par plus de 84% des populations. Les résistances *Pm2* et *Pm4b*, moins contournées dans les monitorages effectués entre 1980 et 1989 en Suisse (Winzeler et al. 1991), comptent parmi les résistances les moins efficaces dans le présent travail. D'autres résistances tel que *Pm17*, *PmU*, *Pm2Mld9* et *Mlax* semblent, aujourd'hui, encore efficaces dans plus de 50% des cas.

Les populations d'oïdium sont très variables d'une année à l'autre et d'un lieu à l'autre. Nous avons observé les mêmes combinaisons de virulences dans des popula-

tions géographiquement très éloignées et de grosses différences dans des populations géographiquement très rapprochées. Il est connu que les spores d'oïdium sont facilement transportées par le vent sur de longues distances (Brown et Hovmoller 2002). Toutefois, un relief montagneux peut constituer un obstacle qui permet l'évolution de populations distinctes (Slovakova 2004). Dans le cas présent, le plateau suisse ne présente pas d'obstacle et la pression de sélection exercée par les variétés de blé cultivées ne diffère pas d'une région à l'autre. Evidemment, d'autres facteurs influencent la présence des virulences dans les populations. Toutefois, l'analyse plus approfondie de ces facteurs n'est pas possible dans le cadre de cette publication.

Les résultats obtenus avec la nouvelle méthode présentée ici sont comparables avec les résultats d'autres études. La méthode a l'avantage d'être moins laborieuse par rapport aux méthodes utilisées traditionnellement. Toutefois, elle est certainement moins précise. Elle ne tient pas compte de la physiologie des interactions entre plante et pathogène conditionnée par l'environnement (p. ex. lumière, température, eau, sol) et par l'état de

Riassunto
Monitoraggio delle virulenze e struttura delle popolazioni di oidio dal 2003 al 2010

La selezione di varietà di frumento resistenti all'oidio necessita di informazioni sulla presenza delle virulenze e sulla struttura delle popolazioni del patogeno. Questo lavoro presenta un nuovo approccio d'indagine basato sull'analisi delle popolazioni presenti e non più quella dei singoli componenti della popolazione. Attraverso la semina delle linee differenziali direttamente in campo, è possibile osservare tutte le virulenze che sopraggiungono durante la stagione. Le parcelle di monitoraggio sono state installate in 8-17 siti tra il 2003 ed il 2010 in Svizzera. In questo modo, 104 popolazioni di odio sono state osservate. I risultati mostrano che le virulenze dominanti sono invariate da oltre 20 anni, mentre la frequenza di virulenze complesse è apparentemente aumentata. La struttura delle popolazioni è molto variabile nello spazio e nel tempo. Essa dipende, probabilmente, dai geni di resistenza presenti nelle varietà di frumento coltivate e da fattori ambientali che non hanno potuto essere approfonditi in questo lavoro. In sintesi, in un contesto di selezione l'approccio globale di monitoraggio risulta essere sufficiente. In futuro questo sistema sarà utilizzato per esaminare l'efficacia e la sostenibilità di nuove fonti di resistenza.

Bibliographie

- AGES, 2000. Österreichische beschreibende Sortenliste Winterweizen. [visité 19 février 2012 à <http://www.agrobio.bmfl.gv.at/deutsch/bio/versuch/sorten00.htm>].
- Alam A., Xue F., Wang C. & Ji W., 2011. Powdery mildew resistance genes in wheat: identification and genetic analysis. *Journal of Molecular Biology Research* 1 (1):20–38.
- Brown J. K. M. & Howmoller M. S., 2002. Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. *Science* 297, 537–541.
- Bundessortenamt, 1995. Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Ölfruchte, Leguminosen, Hackfruchte: Bundessortenamt, Hannover, Allemagne.
- Clarkson J. D. S., 2000. Virulence survey report for wheat powdery mildew in Europe, 1996–1998. Accès: <http://www.crpmb.org/2000/1204clarkson> [19.2.2012].
- Cunfer B. M., 2002. Powdery mildew. In: Bread Wheat. S. R. B. C. Curtis, H. Gómez Macpherson (eds). Rome, Food and agriculture organization of the United Nations.
- Finckh M. R., Gacek E. S., Goyeau H., Lannou C., Merz U., Mundt C.C., Munk L., Naddaziak J., Newton A. C., de Vallavieille-Pope C. & Wolfe M. S., 2000. Cereal variety and species mixtures in practise, with emphasis on disease resistance. *Agronomie* 20, 813–837.
- Fischbeck G., 1997. Gene management. In: Resistance of Crop Plants Against Fungi. J. H. Hartleb, R. Heitefuss, H. H. Hoppe (eds). Jena, Germany, Gustav Fischer Verlag.
- Hermann A., Löwer C. F. & Schachtel G. A., 1999. A new tool for entry and analysis of virulence data for plant pathogens. *Plant Pathology* 48, 154–158.
- Hsam S. L. K. & Zeller F. J., 2002. Breeding for powdery mildew resistance in common wheat (*Triticum aestivum* L.). In: The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise. R. R. Belanger, W. R. Bushnell, A. J. Dik, T. L. W. Carver (eds). St. Paul, MN, American Phytopathological Society.
- Mascher F., Reichmann P. & Schori A., 2006. Impact de l'oïdium sur la culture du triticale. *Revue suisse d'Agriculture* 38 (4),193–196.

Summary
Virulence monitoring and the structure of powdery mildew populations between 2003 and 2010

Breeding for powdery mildew resistant wheat varieties needs information on the presence of virulences and the virulence structure of the current powdery mildew populations. In this work, we present a novel approach for virulence analyses by global analysis and not by analyzing the constituents of the population, as this was done in previous studies. Here, by planting the tester lines directly in the field, it is possible to screen the upcome of virulences during the whole season. Monitoring plots have been installed between 2003 and 2010 at 8 up to 17 sites all over Switzerland. More than 104 powdery mildew populations could be screened. The results show only little changes among the dominating resistances, but multiple virulences are likely to have increased. The virulence structures of the populations show very changing patterns over the years and over the sites. This may be linked to the wheat varieties cultivated and, probably more important, due to environmental factors. Unfortunately, these factors could not be studied within the present work. Overall, the here presented method of global virulence analysis meets the needs for breeding of resistant varieties. Future virulence screenings will analyse the efficacy and the durability of novel resistances.

Key words: *Blumeria graminis fsp. tritici*, differential lines, multilocal screening, deployment of resistance genes, breeding.

- McIntosh, R. A., 1988. Catalogue of gene symbols for wheat. Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp. 1988, 1225–1323.
- Miedaner T. et Flath K., 2007. Effectiveness and environmental stability of quantitative powdery mildew (*Blumeria graminis*) resistance among winter wheat cultivars. *Plant Breeding* 126, 553–558.
- Parks R., Carbone I., Murphy J. P., Marshall D. & Cowger C., 2008. Virulence structure of the Eastern U.S. wheat powdery mildew population. *Plant Disease* 92 (7), 1074–1082.
- Slovakova T., 2004. Do geographical barriers play any role in isolation of powdery mildew populations? *Biologia, Bratislava* 59 (1), 121–126.
- Streckeisen Ph. & Fried P. M., 1985. Virulenzanalyse im Weizenmehltau in der Schweiz in den Jahren 1981 bis 1983. *Schweizerische Landwirtschaft* 24 (3/4), 261–269.
- Winzeler M., Streckeisen Ph., Winzeler H. & Fried P. M., 1990. Züchtung auf dauerhafte Mehltresistenz bei Weizen und Dinkel. Dans: Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter, 20. – 22. November 1990, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein, Irnding, Autriche.
- Winzeler M., Streckeisen Ph. & Fried P. M., 1991. Control of cereal mildews: virulence patterns and their change. *Control of Cereal Mildews*, 15–21.
- Wolfe M. S., 1993. Can the strategic use of disease resistance hosts protect their inherent durability? In: Durability of Disease Resistance. T. Jacobs et. J. E. Parlevliet (éd.). Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.