

Détermination du sexe chez *Globodera pallida* Stone

Didier MUGNIERY et Guy FAYET *

I.N.R.A., Laboratoire de Recherches de la Chaire de Zoologie, Domaine de la Motte au Vicomte, B.P. 29,
35650 Le Rheu et E.N.S.A. Unité de Calcul, 65, rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France.

RÉSUMÉ

En utilisant des quantités précises de larves infestantes de *G. pallida*, on peut déterminer l'indice andrique des populations développées. Comme certaines larves ne rentrent pas dans les racines ni ne s'y développent, on peut, en leur attribuant l'un ou l'autre sexe, déterminer autour de l'indice andrique observé chez la population développée, une fourchette exacte de l'indice andrique de départ. Pour que cette fourchette soit la plus petite possible, il faut que le pourcentage de nématodes « perdus » soit le plus faible possible. La méthode d'élevage des nématodes sur pomme de terre cultivée en boîte de Petri correspond à ces exigences.

Il a pu être ainsi montré qu'en faisant varier légèrement les niveaux de compétition intraspécifique, on obtenait des fourchettes d'indice andrique ne se recouvrant pas, prouvant indubitablement l'épigénie. En l'absence de toute compétition intraspécifique, il apparaît que le diamètre de la racine où pénètre une larve est un facteur primordial pour le choix du sexe : plus ce diamètre est petit, plus le phénotype mâle est réalisé. Il est possible d'établir la relation existant entre diamètre radiculaire et indice andrique.

SUMMARY

Sex determination in Globodera pallida Stone

The influence of inoculum levels on the sex ratio in developing populations of *G. pallida* was determined, using precise densities of second stage larvae as inoculum. A number of larvae was unaccounted for when they did not penetrate the roots or did not develop. Assuming that these lost larvae would have been all of one sex or the other, a range of sex ratio ($\delta/\text{♀}$) was determined, within which laid the true ratio of the inoculated population. Culturing nematodes in potato roots grown in Petri dishes allowed to reduce this range to a minimum. Inoculum levels of one to twenty larvae per root, producing variations of intraspecific competition, gave non overlapping ranges of sex ratios, thus demonstrating that sex determination is epigenic in this species. At low inoculum levels, with only one larva per root, the larvae developed into females. Increasing the inoculum levels caused higher proportions of larvae to develop into males. Increasing competition beyond a threshold caused deficiency in development to maturity, affecting mostly female phenotype, as in the species where sex is predetermined.

With only one developing larva per root, thus without intraspecific competition, root diameter influenced the determination of sex : below 500 μ m, the smaller the diameter of the roots, the higher the proportion of developing males.

* Avec la collaboration technique de Madeleine OGER.

Chez les *Heloderidae*, le dimorphisme sexuel ne s'observe qu'à partir du troisième stade larvaire, strictement endoradiculaire. L'indice andrique observé est donc celui d'une population développée qui peut ne pas être celui de la population de départ car on ne peut exclure d'éventuelles différences concernant le potentiel de pénétration et de développement chez les larves infestantes (L 2) à devenir sexuel différent. Ainsi, chez les larves d'*Heloderia schachtii*, sexuellement prédéterminées, les facteurs défavorables limitent le développement des larves pré-femelles (Kerstan, 1969). Le même phénomène existe chez *H. oryzae* mais se complique par un comportement de pénétration différent chez les larves à potentialité mâle (Cadet, Merny & Reversat, 1975 ; Cadet & Merny, 1978 ; Merny & Cadet, 1978).

Avec *Globodera rostochiensis* et *G. pallida*, divers auteurs (Ellenby, 1954 ; Den Ouden, 1960 ; Trudgill, 1967) tendent vers l'hypothèse d'une stricte épigénie et l'indice andrique observé croît avec la taille de l'inoculum. Cependant, dans toutes ces expérimentations, le nombre d'adultes sur lequel s'effectue le calcul de l'indice andrique correspond à une fraction faible de l'inoculum de départ : 30 à 40 % dans les meilleurs cas. Selon le sexe qu'on attribue aux individus manquants, on peut être amené à penser que l'hypothèse de l'épigénie est improbable et que le sexe est prédéterminé.

Plus récemment, d'autres auteurs doutent de l'épigénie parce qu'ils observent des indices andriques de 1 chez les populations développées (Bridgeman, 1978 a) ou qu'ils trouvent des proportions régulières de chacun des sexes quand il y a enchevêtrement des cellules géantes (Greet & Firth, 1977), ce qui invaliderait les résultats de Trudgill (1967) modélisés par Roos et Trudgill (1969).

Enfin, certains ne prennent même pas l'épigénie en compte puisque l'étude, sur plantes discriminantes, du comportement des F 1 issus de croisements intraspécifiques entre races biologiques distinctes, est basée statistiquement sur un indice andrique classique de 1 (Parrott & Berry, 1973 ; Stelter, Wessely & Rothacker, 1969).

Le but de cette note est de trancher entre ces diverses opinions.

Déterminisme du sexe

L'analyse du déterminisme sexuel revient à comparer l'indice andrique observé chez une population développée, pondéré par les diverses hypothèses faites sur les nématodes non développés, à une valeur théorique issue généralement des théories mendéliennes. Dans le cas de l'épigénie, aucun modèle n'est utilisable car l'indice andrique peut varier de zéro à l'infini.

Pour que l'indice andrique de la population développée soit le plus proche possible de celui de la population de départ utilisée, il faut que les pertes diverses soient les plus petites possibles. Pour cela, nous avons choisi une méthode d'élevage très voisine de celle décrite par Mugniery et Person (1976).

Pour connaître l'étendue de la variation de l'indice andrique, nous jouerons sur la surpopulation locale, ce qu'il est possible de faire grâce à cette méthode d'élevage.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Des germes de pomme de terre, accompagnés d'un fragment de tubercule cv. Bintje, sont cultivés sur milieu gélosé à 2% en boîte de Petri. Quand les racines principales atteignent 2 à 3 cm, on dépose à l'apex d'une seule racine de 2 à 3 cm une quantité déterminée de larves infestantes (L 2). Les autres racines sont éliminées. Des doses croissantes d'inoculum sont utilisées : 1, 5, 10 et 20 larves par racine. Les boîtes de Petri sont conservées à environ 20°. Les nématodes sont récupérés par dissection radiculaire, si nécessaire, après 16 jours, c'est-à-dire juste avant la sortie des premiers mâles (Mugniery, 1978). On répartit les nématodes retrouvés en quatre catégories :

— mâle et femelle, quel que soit le stade de développement atteint, pourvu que le sexe puisse être identifié sans ambiguïté,

— larves asexuées, généralement bloquées au stade 2 ou au début du stade 3 (= animaux « bloqués »),

— animaux manquants, soit n'ayant pas pénétrés, soit étant ressortis (= animaux « perdus »).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus sont exprimés au tableau 1. Ils permettent de calculer l'indice andrique observé et d'indiquer ses limites minimum et maximum selon qu'on attribue un sexe ou l'autre aux nématodes bloqués et perdus :

- indice andrique observé δ/φ ,
- indice andrique minimum $\delta/(\varphi + \text{bloqués} + \text{perdus})$
- indice andrique maximum $(\delta + \text{bloqués} + \text{perdus})/\varphi$

Pour l'inoculum d'une larve par racine, les pertes de nématodes sont relativement faibles. La fourchette de l'indice andrique est réduite et l'indice 1 est exclu de cette fourchette : l'hypothèse de son inclusion est rejetée au test χ^2 de manière hautement significative. Si les larves L2 sont sexuellement prédéterminées, ce ne peut être selon le processus mendélien classique.

Tableau 1

Répartition des sexes et indice andrique chez *G. pallida* en fonction du nombre de larves (L₂) inoculées par racine de pomme de terre cv. Bintje

Distribution of sexes and sex ratio (δ/φ) according to the number of larvae (L₂) inoculated on potato root cv. Bintje

Inoculum par racine	1	5	10	20
Répétitions	157	80	39	24
δ/φ	19	150	122	148
	113	175	150	102
Larves asexuées	3	4	7	14
δ %	12	38	31	31
φ %	72	44	38	21
Perte totale %	16	19	30	48
Indice andrique :				
minimum	0,138	0,600	0,455	0,446
observé	0,168	0,857	0,813	1,451
maximum	0,389	1,286	1,600	3,700

A cinq larves par racine, les pertes en nématodes sont semblables, ce qui implique, encore une fois, une fourchette d'indice andrique réduite. On constate qu'il n'y a pas de recouvrement des fourchettes pour 1 et 5 larves par racine ; on ne peut donc pas admettre l'hypothèse d'un prédéterminisme conduisant à un indice andrique fixe. Il y a donc, soit choix du

sexe au cours du développement larvaire, soit déterminisme génétique non absolu et changement de sexe sous l'influence de la compétition.

Nous considérerons donc que tout se passe comme s'il y avait épigénie stricte.

Le phénomène se complique pour les inoculums de 10 et 20 larves par racine. La perte en nématodes augmente très fortement. Parallèlement, la population des mâles reste stable mais celle des femelles diminue considérablement, comme chez les espèces à déterminisme génétique classique. On assiste en fait à la superposition de deux phénomènes. Jusqu'à 5 larves par racine, le développement de la population n'est pas entravé : seule la reversion des femelles en mâles intervient. Au-delà de 5 larves, il n'y a plus simplement reversion du sexe mais blocage du développement, qui ne permet plus qu'à une minorité d'animaux de se développer, et ceci en favorisant le phénotype mâle.

Influence de la plante hôte sur l'expression du sexe

Puisque la compétition intervient pour orienter le sexe, on peut supposer comme Trudgill (1967) que les besoins nutritionnels sont plus faibles pour les mâles que pour les femelles. C'est un phénomène que l'on retrouve chez certains *Heterodera* (Kerstan, 1969 ; Bridgeman, 1978 b). En l'absence de compétition intraspécifique, on peut supposer que le type de racine où pénètre une larve L₂ peut influencer le devenir phénotypique de celle-ci et confirmer ainsi les observations d'Ellenby (1954) qui trouve une proportion de mâles beaucoup plus grande sur racines latérales que sur racines principales.

Nous avons donc testé cette hypothèse pour déterminer s'il existe une relation directe entre le diamètre radicaire et le sexe du nématode développé.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Des germes de pomme de terre cv. Bintje sont cultivés sur milieu gélosé comme décrit précédemment ; quand une quantité importante de racines et radicules s'est formée, on dépose sur la gélose un nombre non déterminé

Tableau 2

Influence du diamètre des racines de pomme de terre cv. Bintje sur l'expression phénotypique du sexe de *G. pallida*, Pa 3, St Malo
*Influence of the diameter of potato cv. Bintje roots on the sex ratio (δ/\varnothing) of *G. pallida*, Pa 3, St Malo*

	Diamètre des racines en μm							
	< 183	183	233	278	323	383	458	> 562
		232	277	322	382	457	562	
δ	14	47	12	8	6	7	6	4
\varnothing	0	0	12	12	12	14	87	178
δ/\varnothing	∞	∞	1	0,67	0,50	0,50	0,07	0,03

de larves infestantes L 2 de *G. pallida* Saint-Malo (Pa 3). L'expérimentation a lieu à environ 20°. Juste avant la sortie des premiers mâles, le diamètre des racines est mesuré là où sont localisés les nématodes. La racine est ensuite disséquée pour connaître le nombre et le sexe des nématodes présents.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Plusieurs nématodes peuvent pénétrer au même endroit pour s'y développer ou non. Pour rester dans le cadre de l'absence de compétition, nous n'avons retenu ici que les cas où un seul nématode s'est développé en un site particulier. Les résultats sont indiqués au tableau 2.

La distribution des diamètres radiculaires mesurés est typiquement bimodale car les deux pics correspondent au diamètre des radicelles et au diamètre des racines issues directement du germe. Il existe très peu de racines à diamètre intermédiaire.

On constate une prédominance absolue des mâles sur radicelles et une prédominance quasi absolue des femelles sur racines principales. L'indice andrique diminue au fur et à mesure que le diamètre radiculaire augmente.

Les observations d'Ellenby (1959) et les résultats sur tomate de Trudgill (1967) sont ainsi confirmés. Le caractère épigénique du sexe amène les larves à évoluer vers le sexe mâle quand les racines sont de petite taille, ce qui signifie probablement que les cellules géantes ont une taille ou une capacité nutritionnelle trop faibles dans les radicelles. En cas de compétition, comme le suppose Trudgill (1967), on doit

assister à un enchevêtrement de cellules géantes, chacune étant insuffisante pour assurer le développement d'une femelle.

CONCLUSION

On peut considérer que l'expression phénotypique du sexe est sous la dépendance exclusive des facteurs environnementaux lesquels favorisent le phénotype femelle ou mâle selon qu'ils sont favorables ou défavorables au nématode. Dans ces facteurs, il faut comprendre aussi bien la compétition intraspécifique que la nutrition qui sont étroitement liées. Les faibles multiplications de nématodes ou les chutes de populations après culture de pomme de terre hôte sur terrains très contaminés peuvent être imputées à une telle absence de déterminisme sexuel. Cette explication doit être cependant complétée par le fait que les facteurs défavorables peuvent agir également, une fois le sexe choisi, sur le développement des femelles et sur leur fécondité.

On pourrait penser que l'épigénie peut être défavorable au devenir des populations quand celles-ci sont faiblement représentées, par surabondance de femelles et absence de mâles. La répartition agrégative des larves dans le sol doit permettre d'éviter cet inconvénient puisqu'il se trouve toujours quelques larves en compétition intraspécifique pour donner des mâles. De plus, l'éclosion des larves, faible en début de culture, augmente très rapidement pour perdre ensuite son intensité. Lors de la croissance du végétal, on assiste à une distribution radiculaire, orientée d'abord vers des racines de taille forte en pré-

sence de peu de nématodes, puis vers des racines latérales en présence de nombreuses larves infestantes écloses, puis enfin vers des radicules nombreuses, favorables aux mâles. En cas de compétition moyenne, tous ces facteurs jouent pour obtenir un indice andrique moyen peu différent de 1.

L'expression phénotypique du sexe sous l'influence des conditions de compétition soulève le problème important des tests de résistance des pommes de terre qui sera abordé dans une prochaine publication : chez les cultivars à résistance monofactorielle du type *Solanum andigenum*, ce point n'a pas d'importance, car, de fait, aucune femelle Ro 1 n'est capable de se développer quel que soit le niveau de compétition. Par contre, chez les cultivars hôtes ou ceux qui présentent des systèmes partiels de résistance polyfactorielle, il est fondamental de tenir compte de la compétition intraspécifique. En cas d'inoculum trop important sur des racines à diamètre réduit, peu ou pas de femelles se formeront et l'on risque de classer résistants des cultivars qui sont en fait susceptibles de permettre le développement de femelles en quantité non négligeable dès que les conditions de compétition diminuent. En corollaire immédiat, l'appréhension de l'héritabilité des résistances polygéniques et de l'héritabilité de l'agressivité des races de nématodes risque d'être extrêmement compliquée.

REFERENCES

- BRIDGEMAN, M.R. (1978a). Cyst-nematode sex ratio. 3rd intern. Conf. Plant Pathol., München, 16-23 Août 1978 : 148.
- BRIDGEMAN, M.R. (1978b). Sex determination of cyst-nematodes. In : Jones, F.G.W. (Ed.). *Nematology Department, Rothamsted Exp. Stn. Rept for 1978* : 185-186.
- CADET, P., MERNY, G. & REVERSAT, G. (1975). Facteurs affectant le déterminisme du sexe chez *Heterodera oryzae* (Nematoda : Tylenchoidea). *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 10 : 207-214.
- CADET, P. & MERNY, G. (1978). Influence of some factors on sex-ratio in *Heterodera oryzae* and *H. sacchari* (Nematoda : Heteroderidae). *Revue Nématol.*, 1 : 143-149.
- DEN OUDEN, H. (1960). A note on parthenogenesis and sex determination in *Heterodera rostochiensis* Woll. *Nematologica*, 5 : 215-216.
- ELLENBY, C. (1954). Environmental determination of the sex ratio of a plant parasitic nematode. *Nature, Lond.*, 174 : 1016.
- GREET, D.N. & FIRTH, J.E. (1977). Transfer cells and sexuality. In : Jones, F.G.W. (Ed.). *Nematology Department, Rothamsted Exp. Stn. Rept for 1977* : 177.
- KERSTAN, U. (1969). Die Beeinflussung des Geschlechterverhältnisses in der Gattung *Heterodera*. II. Minimallebensraum — Selektive Absterberate des Geschlechter - Geschlechter Verhältnis (*Heterodera schachtii*). *Nematologica*, 15 : 210-228.
- MERNY, G. & CADET, P. (1978). Penetration of juveniles and development of adults of *Heterodera oryzae* on different plants. *Revue Nématol.*, 1 : 251-255.
- MUGNIERY, D. (1978). Vitesse de développement en fonction de la température de *Globodera rostochiensis* et *G. pallida* (Nematoda : Heteroderidae). *Revue Nématol.*, 1 : 3-12.
- MUGNIERY, D. & PERSON, F. (1976). Méthode d'élevage de quelques nématodes à kystes du genre *Heterodera*. *Sci. agron., Rennes*, 217-220.
- PARROTT, D. & BERRY, M.M. (1973). Inheritance of ability to overcome resistance. In : Jones, F.G.W. (Ed.). *Nematology Department, Rothamsted Exp. Stn., Rept for 1973* : 152-153.
- ROSS, G.J.S. & TRUDGILL, D.L. (1969). The effect of population density on the sex ratio of *Heterodera rostochiensis*; a two dimensional model. *Nematologica*, 15 : 601-607.
- STELTER, H., WESSELY, E. & ROTHACKER, D. (1969). Beobachtungen an Folgegenerationen des Kartoffelnematoden nach Mischinfektionen mit den Rassen A und B an A - resistenten und A - anfälligen Wirten. *Arch. PflSchutz*, 5 : 411-421.
- TRUDGILL, D.L. (1967). The effect of environment on sex determination in *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica*, 13 : 263-272.

Accepté pour publication le 23 juin 1980.