

Facteurs affectant le déterminisme du sexe chez *Heterodera oryzae* (Nematoda : Tylenchoidea)

Patrice CADET et Georges MERNY
Laboratoire de Nématologie,
ORSTOM d'Adiopodoumé,
B.P. 20, Abidjan (Côte d'Ivoire)

Georges REVERSAT
Laboratoire de Nématologie, ORSTOM,
B.P. 1386, Dakar (Sénégal)

RÉSUMÉ

Avant d'entreprendre l'étude de la transmission des caractères d'agressivité chez *Heterodera oryzae*, il était nécessaire de connaître le mécanisme de la détermination du sexe chez cette espèce parasitant le riz.

A partir d'un certain niveau d'inoculum, l'indice andrique (rapport du nombre de mâles sur le nombre de femelles) est d'autant plus élevé que l'inoculum est plus fort. Jusqu'à un niveau d'inoculum très élevé, la proportion des mâles est toujours d'environ 50% du nombre de larves ayant pénétré alors que celle des femelles est d'autant plus faible que l'inoculum est fort. Ce résultat indique que, chez *H. oryzae*, le sexe est déterminé génétiquement, les variations de l'indice andrique étant dues au fait que les larves femelles sont plus sensibles que les larves mâles aux conditions adverses telles que le surpeuplement.

Des résultats similaires sont observés en coupant la partie antérieure des plantes à un intervalle de temps croissant après l'inoculation. Le nombre des mâles est constant alors que celui des femelles est d'autant plus faible que la coupe a eu lieu plus tôt.

Il a, par ailleurs, été constaté que l'indice andrique est plus faible sur des plantes plus âgées (0,33 à 0,45 sur des plantes de 1 mois). Ce résultat reste compatible avec l'hypothèse d'une détermination génétique du sexe car on a observé que le nombre plus faible de mâles observé sur des plantes âgées de quatre semaines n'était pas dû à une compétition entre les larves des deux sexes mais à un déficit de pénétration des larves à potentialité mâle.

Par ailleurs, on a constaté qu'à la suite d'un phénomène physiologique qui reste à expliquer, la pénétration, abondante sur les plantes âgées d'une semaine, devenait brusquement très faible sur celles de deux semaines et ne redevenait importante que lentement.

ABSTRACT

It is well known that, in some *Heterodera* species, for instance *H. rostochiensis*, the characters of aggressiveness are transmitted by a genetic process. The purpose of the authors being to study the transmission of aggressiveness characters in *H. oryzae* to different host plants other than rice and to resistant rice varieties, it appeared to them that it was necessary to know the way in which sex is determined in this species. *H. oryzae* being a diploid amphimictic species, sex could be determined in two ways: (1) following an epigenetic process, like in *H. rostochiensis*, each second stage larva being able to develop into a male or a female adult according to the external factors; (2) following a genetic process, the sex of each individual being determined at the time of egg fertilization. In both cases, adverse conditions lead to a high sex ratio, the development of males being superior to that of females.

Three experiments have been conducted in order to study the sex determination in *Heterodera oryzae*:

(A) Ten days old rice plants were inoculated with 50, 200, 800, 1600 or 6400 second stage larvae. Each treatment was replicated fifty times. After nine days, 25 plants of each inoculum level were transferred to hydroponic conditions in order to collect males in the bottom of the container and females on the roots. The other 25 were used to evaluate the numbers of animals having penetrated into the roots. It has been found that, except for the highest inoculum level (6400 l₂) the proportion of adult males was never significantly different from 50% of the number of larvae having penetrated, while the proportions of females were lower for the higher inoculum levels (table I and figure 1). These results indicate that sex is genetically determined in *H. oryzae* with a sex ratio of 1, the development of females being prevented by overcrowding when the inoculum level grows higher while the development of males is not troubled by overcrowding up to a very high inoculum level.

(B) One month old rice plants were uniformly inoculated with 300 larvae and transferred to hydroponic conditions nine days after inoculation. Five treatments were applied to the plants, in which their tops were removed 0, 3, 7, 10 or 13 days after transfer. Each treatment was replicated 25 times. In a control series, the tops were not removed. In this experiment, penetration was not observed. The number of male larvae reaching the adult stage is the same in all treatments and in the control whereas the number of females is higher and the sex ratio lower when the tops of the plants are removed later. The results of this experiment agree with those of the previous one but the sex ratio is 0,45 in the control while it was 1,07 in the closet treatment of the first experiment (inoculum level of 200 larvae) the only difference being the age of the plants (10 days in the first experiment, one month in the second one).

(C) Rice plants 1, 2, 3 or 4 weeks old were inoculated with 300 larvae. At the first time, the penetration was not observed. The number of males was lower and the number of females higher in the older plants, the total development being lower in two weeks old plants (table 3-A). These results could be explained in terms of an epigenetic sex determination but their interpretation was difficult due to the lack of penetration data. Therefore the experiment has been made a second time, in which the penetration was observed (table 3-B). The results confirmed those previously obtained : the sex ratio is lower on four weeks old plants but the main effect of the age of the plant is exerted on the penetration level (fig. 3), on two weeks old plants, the penetration rate is very low. On older plants the penetration is more important but the penetration rate seems to be different according to the sex of larvae. The lower number of males observed on four weeks old plants seems to be due to a poor penetration rate of the male larvae.

Avant d'entreprendre l'étude de la disjonction de caractères que l'on suppose génétiquement déterminés, par exemple ceux qui gouvernent l'agressivité chez un nématode phytoparasite, il est nécessaire d'avoir une idée précise de la manière dont se réalisent les phénomènes sexuels chez l'espèce considérée. Ceci semble d'autant plus vrai dans la famille des Heteroderidae. En effet, au sein même des genres, assez peu nombreux, que comprend cette famille les phénomènes sexuels revêtent les formes les plus diverses. Certaines espèces sont triploïdes et parthénogénétiques comme *Heterodera sacchari* ou polyploïdes comme la plupart des *Meloidogyne*. La plupart des *Heterodera* sont diploïdes et amphimictiques mais la détermination du sexe semble bien s'effectuer selon des modalités différentes d'une espèce à une autre. Chez *Heterodera rostochiensis* il apparaît que le développement d'une larve du deuxième stade en mâle ou en femelle est entièrement déterminé par l'environnement d'une manière épigénétique (DEN OUDEN, 1960 ; TRUDGILL, 1967), alors que chez *Heterodera schachtii* le sexe est génétiquement déterminé dès la larve du deuxième stade (KERSTAN, 1969) et les fluctuations de l'indice

andrique (rapport entre le nombre des mâles et celui des femelles) causées par l'environnement sont dues à une plus grande sensibilité des femelles aux conditions adverses et, en particulier, à leurs besoins beaucoup plus grands en nourriture.

Chez *H. rostochiensis* la même larve pourrait se développer librement en mâle ou en femelle selon les conditions dans lesquelles le développement s'effectue, l'augmentation du nombre de mâles allant de pair avec une diminution de celui des femelles. Chez *H. schachtii* le devenir sexuel d'une larve nouvellement éclos est génétiquement déterminé, les variations de l'indice andrique en fonction des conditions extérieures étant dues au développement en moins grand nombre des larves femelles, toutes les larves mâles continuant à se développer et le nombre de mâles adultes observés restant le même.

Heterodera oryzae, nématode parasite du riz en Côte d'Ivoire, présente de tels phénomènes de variations de l'indice andrique qui sont apparues par hasard dans de vieux élevages surpeuplés et dans des élevages qui avaient subi des conditions adverses influant principalement sur la vigueur végétative de la plante hôte. De plus, l'identité botanique de l'hôte influe très énergiquement sur l'indice andrique : dans un travail en cours, ayant pour objet le comportement du parasite sur des plantes très éloignées de son hôte naturel, comme certaines légumineuses, nous avons pu constater que la pénétration était abondante mais que seuls des mâles se développaient, du moins au niveau de l'inoculum employé.

En règle générale, une population est génétiquement hétérogène. Si l'on s'en tient à un caractère, certains individus le possèdent, d'autres pas, ou certains le possèdent sous une forme allélique et d'autres sous une autre forme. Si l'on considère plusieurs caractères, leurs combinaisons peuvent varier à l'infini. Théoriquement, les individus qui composent une population peuvent donc être très dissemblables. Cependant, les individus possédant certains génotypes peuvent être physiologiquement plus faibles, moins viables que ceux qui en possèdent certains autres. On connaît des gènes létaux qui, à l'état homozygote, entraînent la mort des individus qui les portent ce qui, dans les croisements, amène des disjonctions qui paraissent aberrantes.

Ainsi, certains phénotypes, qui ne sont que la réalisation observable des caractères chromosomiques portés par l'individu, seront défavorisés et les gènes qui les provoquent auront tendance à être rares dans une population en état d'équilibre. C'est le cas du phénotype « femelle » chez les Heteroderidae où le sexe est déterminé génétiquement. Si les conditions extérieures optimales ne sont pas réalisées, la proportion de phénotypes « mâle » et « femelle » observée ne traduira pas la proportion des génotypes sexuels tels qu'ils ont été formés au moment où les gamètes se sont appariés au hasard.

Si les caractères d'agressivité vis-à-vis de telle ou telle plante sont portés de façon différente par les chromosomes des mâles et ceux des femelles, le désé-

quilibre dans la disjonction des caractères sexuels se traduira également par un déséquilibre dans celle des caractères d'agressivité. Or, il semble bien que cela soit le cas chez certains *Heterodera* : d'après JONES et PARROT (1965), chez *H. rostochiensis*, seules certaines femelles portant un gène récessif à l'état homozygote peuvent se développer sur une variété résistante, alors que tous les mâles se développent quel que soit leur génome. Chez *H. oryzae*, où de nombreux mâles se développent sur certaines plantes en l'absence de toute femelle, il y a de fortes chances pour que la situation soit semblable.

Il est clair que, dans ce cas et si le caractère sexuel est déterminé génétiquement, une étude de la transmission des caractères d'agressivité ne peut se faire que dans les conditions où les deux génotypes sexuels auront des chances égales de s'exprimer.

L'existence de ces phénomènes nous a donc conduit à reprendre leur étude comme préalable à une analyse génétique des divers pathotypes d'*Heterodera oryzae*. Nous nous proposons donc, dans ce travail, d'établir dans quelle mesure la détermination du sexe chez *Heterodera oryzae* dépend des conditions extérieures ou est exclusivement soumise à l'influence de facteurs génétiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le riz employé appartient à la variété Moroberekan I.R.A.T.

Heterodera oryzae est issu de la souche entretenue au laboratoire. Les plantes sont inoculées et l'extraction des masses d'œufs est réalisée cinq semaines plus tard. Les femelles et les masses d'œufs recueillies sont placées dans la solution de Dropkin (NaCl 17,5 g/l) pendant une semaine puis dans l'eau. Trois jours plus tard, l'éclosion est pratiquement terminée.

Les larves non utilisées immédiatement peuvent être conservées, pendant un temps qui n'excède pas une semaine, en suspension aérée jusqu'à leur utilisation.

a) *Etude de la pénétration* : les racines sont lavées puis colorées au lactophénol bleu coton selon la méthode de DE GUIRAN (1966). Les racines sont ensuite écrasées entre deux plaques de verre et les nématodes sont dénombrés directement sous la loupe.

b) *Etude de la formation des femelles et des mâles en culture hydroponique* : on utilise la méthode de culture de TRUDGILL (1967) modifiée comme suit par REVERSAT.

— On repique des pieds de riz dans des pots contenant 750 cm³ de terre stérilisée au four, à raison de 4 pieds par pot.

— On inocule chaque pot avec un certain nombre de larves ; après une dizaine de jours de contact, on lave ensemble les racines des 4 pieds de riz du même

pot et on les introduit dans un tube de verre de 25 × 250 mm contenant de la solution de Kimura (YOSHIDA *et al.*, 1959).

— Le tube de verre est placé dans un tube opaque qui empêche le développement des algues dans la solution nutritive. La croissance du riz est excellente.

— Dans les conditions habituelles les mâles nouvellement formés commencent à quitter les racines et tombent au fond du tube à partir du onzième jour. Ils sont recueillis et dénombrés.

Les femelles restent fixées sur les racines. Lorsque tous les mâles sont tombés, les racines sont colorées à chaud au lactophénol à la fuschine acide et broyées au mixeur pendant des temps croissants 5, 10 et 20 secondes à grande vitesse. Les femelles restent entières et sont recueillies sur un tamis à ouvertures de 100 µm. Elles sont dénombrées directement parmi les débris. On effectue 25 répétitions par essai.

RÉSULTATS

I. INFLUENCE DE LA DENSITÉ DE L'INOCULUM SUR L'INDICE ANDRIQUE

On emploie un schéma expérimental similaire à ceux utilisés par ROSS et TRUDGILL (1969) pour analyser le déterminisme du sexe chez *Heterodera rostochiensis*, et par KOLIOPANOS et TRIANTAPHYLLOU (1972) pour *Heterodera glycines*.

Le riz âgé de 10 jours a reçu des inoculum de six densités différentes : 50 I₂, 200 I₂, 800 I₂, 1 600 I₂ et 6 400 I₂. Neuf jours plus tard, les plants contenus dans 25 pots ont été transférés en culture hydroponique et les plants des 25 pots restants ont servi à chiffrer la pénétration selon la méthode décrite plus haut. Les résultats numériques sont contenus dans le tableau I. Le taux de pénétration suit une évolution classique en fonction de la densité de l'inoculum. Le taux

TABLEAU I

INFLUENCE DE LA DENSITÉ DE L'INOCULUM

Inoculum (I ₂)	50	200	800	1600	3200	6400
nombre de larves ayant pénétré	13	54	326	514	852	1197
nombre de mâles	7	29	139	231	482	428
nombre de femelles	7	27	93	116	125	109
nombre total d'adultes	14	56	232	347	607	537
pénétration en % de l'inoculum	25,6	26,8	40,6	32,1	26,6	18,7
adultes en % de la pénétration	100	100	71,3	67,5	71,2	45,0
indice andrique	1,04	1,07	1,29	1,99	3,86	3,91
mâles en % de la pénétration	50	50	42	45	56	35
femelles en % de la pénétration	50	50	28	22	15	10

présente un maximum pour une valeur de l'inoculum voisine de 800 larves par pot. Les pourcentages de développement les plus élevés sont observés pour les plus faibles inoculums. L'inoculum 6400 excepté, les nombres de mâles obtenus ne diffèrent pas significativement de 50% des animaux ayant pénétré. Au contraire, le pourcentage de femelles par rapport aux animaux ayant pénétré, décroît régulièrement.

2. INFLUENCE DE LA COUPE DE LA PARTIE AÉRIENNE

Cette expérience réalisée par TRUDGILL (1967) lui a permis de démontrer que le sexe était à déterminisme épigénétique chez *Heterodera rostochiensis*. Elle consiste à faire l'ablation de la partie aérienne des plantes à un moment variable à partir de l'inoculation. Sept séries de 25 pots contenant 4 pieds de riz âgés d'environ un mois ont été inoculés avec 300 I₂ chacun. Neuf jours plus tard, ils ont été transférés en culture hydroponique et les feuilles ont été coupées à 2 cm environ au-dessus du collet, respectivement le jour du transfert et 3, 7, 10 et 13 jours après le transfert. Les résultats sont résumés dans le tableau II.

TABLEAU II
INFLUENCE DE LA COUPE
DE LA PARTIE AÉRIENNE

	C O U P E S					
	au 1 transfert	2 3 jours	3 7 jours	4 10 jours	5 13 jours	témoin
nombre de ♂	38	45	39	35	42	36
nombre de ♀	41	48	52	47	74	81
développement total	79	93	91	82	116	117
indice andrique	0,92	0,94	0,74	0,74	0,56	0,45

La pénétration n'a pas été chiffrée car notre méthode de dénombrement direct des animaux ayant pénétré est difficile à utiliser quand le volume des racines est aussi important que celui des plants âgés de quatre semaines. On peut supposer néanmoins que cette pénétration a été identique pour toutes les séries qui se trouvaient dans les mêmes conditions au moment de l'inoculation.

Le développement le plus faible correspond à la coupe la plus précoce, le plus fort au témoin et à la coupe la plus tardive. Pour les coupes 1 et 2 on a compté comme femelles des sujets présentant l'aspect de petits sacs où la vulve n'était pas formée (probablement des I₄). Il s'agit vraisemblablement de femelles potentielles dont le développement a été stoppé par suite de la coupe des parties aériennes de la plante.

Le nombre de femelles est toujours supérieur à celui des mâles sauf pour les deux premières coupes où la différence n'est pas significative. Or, pour l'inoculum de 200 I₂ de l'expérience précédente, voisin de

celui de cette expérience (300 I₂), on avait autant d'adultes des deux sexes. Si on admet 100% de développement chez le témoin, on peut calculer que la pénétration représentait environ 40% au lieu de 27% pour le cas le plus proche de l'expérience n° 1. Rappelons que la seule différence entre le témoin et l'expérience précédente à l'inoculum de 200 I₂ porte sur l'âge de la plante au moment de l'inoculation (9 jours dans l'expérience précédente, 1 mois dans la présente expérience).

3. INFLUENCE DE L'ÂGE DE LA PLANTE

Des pieds de riz âgés de 1, 2, 3 et 4 semaines sont inoculés avec 300 I₂. Le transfert en culture hydroponique est effectué au bout de 9 jours. Une première expérience a été faite, dans laquelle des plants de riz âgés de 1, 2, 3 et 4 semaines étaient inoculés avec 300 I₂. On a constaté (tabl. III-A) que le nombre total d'adultes était le même à tous les âges de la plante, sauf à 2 semaines où il était très sensiblement plus faible. Parallèlement, on constatait que le nombre des mâles diminuait avec l'âge de la plante alors que celui des femelles augmentait, ce qui pourrait faire croire à une détermination épigénétique du sexe. Cependant, cette interprétation est en complet désaccord avec les résultats des deux premières expériences et l'on peut imaginer, par ailleurs, que l'âge de la plante a agi en provoquant une attirance ou une pénétration préférentielle de tel ou tel type de larve. Telle qu'elle a été effectuée, cette expérience n'était pas interprétable à cause de l'absence de mesure de la pénétration.

Elle a donc été répétée en doublant le nombre des répétitions, la moitié des plants inoculés servant à apprécier la pénétration. On voit (tabl. III-B) que, si des différences sont observées entre les résultats

TABLEAU III
INFLUENCE DE L'ÂGE DE LA PLANTE

A : première expérience
B : deuxième expérience

	1 semaine		2 semaines		3 semaines		4 semaines	
	A	B	A	B	A	B	A	B
pénétration		109,7		8,1		55,9		90,4
nombre de ♂	48	57	20	9	35	41	20	23
nombre de ♀	32	41	18	3	52	16	60	65
nombre total d'adultes	80	98	38	12	87	57	80	88
pénétration en % de l'inoculum		36,6		2,7		18,6		30,1
adultes en % de la pénétration		89,1		146,4		101,6		97,2
indice andrique	1,50	1,39	0,93	2,70	0,67	2,50	0,33	0,35
♂ en % de la pénétration		51,8		107,0		72,4		25,2
♀ en % de la pénétration		37,2		39,3		29,1		71,9

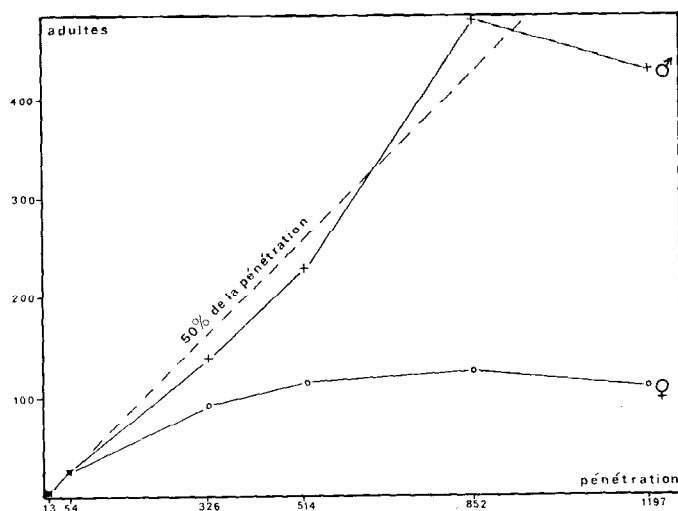


Fig. 1. — Développement des mâles et des femelles en fonction de la pénétration chez les plants de riz âgés de 10 jours

obtenus d'une expérience à l'autre, des concordances notables peuvent être constatées :

- 1) Sur les plants inoculés à 1 semaine, le développement total et surtout l'indice andrique observé (1,50 contre 1,39) sont à peu près les mêmes.
- 2) La même observation peut être faite sur les plants de 4 semaines.
- 3) La faiblesse du développement observé sur les plants de 2 semaines dans la première expérience se retrouve, notablement accentuée dans la seconde.

DISCUSSION

Deux hypothèses doivent être envisagées pour interpréter les résultats ci-dessus : le cas d'une détermination épigénétique, dans lequel une variation progressive des conditions de développement amène à une variation progressive du sexe des adultes se traduisant par un transfert numérique d'une catégorie sexuelle à une autre, et le cas d'un déterminisme génétique dans lequel les conditions exigées pour le développement des femelles sont différentes de celles qu'exige le développement des mâles. Il n'est pas exclu que des conditions données agissent différemment sur la pénétration et sur le développement des larves sexuellement déterminées et qu'on observe des résultats superficiellement similaires à ceux que fournirait une influence épigénétique sur des larves sexuellement indifférenciées.

Enfin, le problème pourrait prendre la plus grande complexité si l'on imagine que la détermination du sexe s'effectue par une voie épigénétique au cours des premiers stades du développement qui suivent

la pénétration dans la plante, les influences sélectives éventuelles restant ensuite capables de se superposer aux influences déterminantes primaires.

C'est sur cette base extrêmement riche de possibilités que nous devons tenter d'interpréter nos résultats expérimentaux. Pour rendre les choses plus claires, nous avons donné un schéma du développement de l'animal montrant les stades du développement au cours desquels les facteurs expérimentaux sont susceptibles d'intervenir (fig. 2). On voit sur ce schéma que l'influence de la densité de l'inoculation ou de l'âge de la plante s'exerce sur tous les stades du développement, depuis la pénétration. Au contraire, l'expérience de coupe de la partie aérienne fait intervenir une variation expérimentale échelonnée au cours du développement. Nous discuterons successivement chacune de ces expériences.

Etat du parasite	1 ² mobile	1 ² endophyte	1 ³	1 ⁴	adultes
Phénomène amenant le changement d'état		Pénétration	2 ^e mue	3 ^e mue	4 ^e mue
Zone d'action des traitements					
densité de l'inoculum	[traitement continu]				
coupe de la partie aérienne		[traitement échelonné]	[traitement échelonné]	[traitement échelonné]	[traitement échelonné]

Fig. 2. — Zones d'action des traitements de deux expériences (densité de l'inoculum et coupe de la partie aérienne) déterminées par l'état du parasite au moment de l'application du traitement

1. INFLUENCE DE LA DENSITÉ DE L'INOCULUM

Cette expérience paraît la plus simple à interpréter. En effet, le fait que, constamment, 50% des animaux ayant pénétré se développent en mâles (fig. 1) paraît difficile à expliquer si l'on n'admet pas que ce résultat traduit l'existence d'une détermination génétique du sexe. Si l'on admet cette conclusion, il ressort immédiatement que les conditions dans lesquelles le développement s'effectue exercent une influence sur celui des femelles qui ne s'accomplit bien que lorsque la plante n'est pas surpeuplée. Au-delà d'une certaine densité de population, les femelles périssent. Si l'on voulait refuser cette hypothèse, il faudrait admettre qu'un processus épigénétique joue simultanément sur la proportion des sexes et sur leur viabilité, et ceci de telle façon que la proportion de mâles reste à 50% de la pénétration. Ceci n'est sans doute pas absolument impossible à concevoir mais supposerait soit une conjonction du hasard dont le degré de vraisemblance serait extrêmement faible, soit un système de régulation d'une complexité considérable et dont les bases physiologiques apparaîtraient bien mystérieuses.

2. INFLUENCE DE LA COUPE DE LA PARTIE AÉRIENNE DE LA PLANTE

a) Interprétation dans le cas d'un déterminisme génétique du sexe :

Cette expérience fournit des résultats nettement plus difficiles à interpréter. On notera que, ici, la fréquence des mâles obtenus est à peu près constante dans toute l'expérience. On peut en conclure, la pénétration ayant été constante, que le pourcentage de mâles qui se développent n'est pas influencé par les conditions de la coupe. Mais comme le nombre des femelles est ici généralement supérieur à celui des mâles, plusieurs hypothèses peuvent être considérées :

1) Les conditions dans lesquelles cette expérience a été effectuée (plante âgée de un mois, inoculum de 300 l₂) ont été défavorables aux mâles dont le nombre a, de ce fait, été toujours inférieur à celui des femelles. Par contre, le développement des mâles n'a pas été gêné par la coupe des feuilles, quel que soit le moment où elle a été effectuée.

2) La proportion des sexes, déterminés génétiquement, est différente de celle observée dans l'expérience précédente et ne représente pas l'égalité entre les deux catégories sexuelles.

3) Les conditions de l'expérience influent sur les divers phénomènes aboutissant à la pénétration des larves (éventuelle attraction, affrontement entre l'animal et les téguments des racines, pénétration proprement dite) les larves mâles pénétrant finalement moins bien que les larves femelles.

4) Les conditions de l'expérience entraînent une perte des mâles dont seule une partie est recueillie.

L'éventualité 1) d'une influence des conditions de l'expérience sur le développement des mâles paraît

peu logique si l'on considère qu'une intervention aussi drastique que la coupe de la partie aérienne ne modifie pas le développement de ceux-ci.

L'interprétation 2) (indice andrique de l'ordre de 0,33) est en contradiction avec les résultats de l'expérience précédente. Il reste donc les éventualités 3) et 4) : influence différentielle sur la pénétration des larves mâles ou sur la récupération des mâles adultes. Si l'on admet ces interprétations, les résultats expérimentaux deviennent faciles à comprendre : le développement des femelles s'opère d'autant mieux que la coupe est plus tardive, donc que le développement de la plante est moins perturbé.

b) Interprétation dans le cadre d'un déterminisme épigénétique :

Dans ce cas, il faut envisager à nouveau l'existence d'un système d'interactions qui stabilise le nombre de mâles, cette fois en valeur absolue et non plus en valeur relative par rapport à la pénétration. Là encore, les mécanismes qu'il faudrait envisager sont si complexes que cette hypothèse apparaît bien peu vraisemblable.

3. INFLUENCE DE L'ÂGE DE LA PLANTE

Si l'on considère les données concernant la pénétration recueillies à la seconde expérience, on voit que la pénétration, maximale à 1 semaine, devient très faible à 2 semaines et remonte lentement jusqu'à 4 semaines où elle a, à peu près, retrouvé son niveau initial. L'âge de la plante semble donc bien agir, très fortement, sur l'intensité de la pénétration.

L'examen de la figure 3, où les résultats de la seconde expérience sont rassemblés sous une forme graphique, va nous permettre une meilleure approche de leur interprétation. Pour établir cette figure, nous partons de trois postulats :

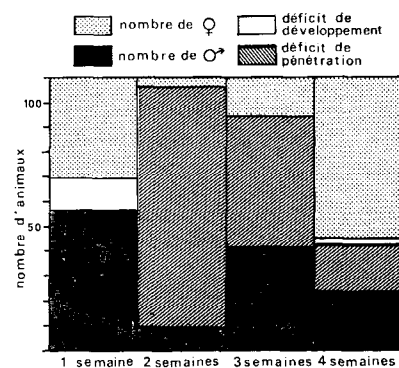


Fig. 3. — Résultats de la seconde expérience concernant l'influence de l'âge de la plante, exprimés sous forme graphique. On considère que chez les plantes de 2,3 et 4 semaines, la pénétration aurait dû être au moins égale à celle observée chez les plants d'une semaine

1. Chez les plantes de 2, 3 et 4 semaines, où la quantité globale de racines est plus forte, la pénétration potentielle est au moins égale à celle des plants de 1 semaine. Pour plus de commodité, nous la supposons égale.

2. Le sexe est génétiquement déterminé et l'indice andrique est égal à 1.

3. Quand une catégorie d'adultes (mâle ou femelle) est représentée par un nombre d'individus inférieur à celui auquel on pouvait s'attendre c'est que, ou bien le développement des larves de ce sexe a été inférieur à 100% (déficit de développement) ou bien qu'une certaine proportion de ces larves n'a pas pénétré (déficit de pénétration).

On voit que, chez les plants de 1 semaine, le nombre de mâles correspond à environ 50% des larves ayant pénétré. Par contre, celui des femelles est inférieur à 50%, le développement total est égal à 89% de la pénétration. Le déficit porte donc sur les femelles et il s'agit d'un déficit de développement, dû sans doute à une compétition trophique.

Chez les plants de 2 semaines, la pénétration est extrêmement faible. Le nombre total d'adultes correspond à 146% de la pénétration. Il convient de rappeler que pénétration et développement ne sont pas observés sur les mêmes plantes ; les moyennes obtenues sur des données aussi faibles sont très variables et on peut considérer que 146% n'est pas significativement différent de 100%. Il n'y a donc pas de déficit de développement mais on observe un énorme déficit de pénétration.

Chez les plants de 3 semaines, le développement est égal à la pénétration, le déficit de développement est donc nul, par contre, le déficit de pénétration, qui semble surtout porter sur les femelles est encore important quoique nettement plus faible que chez les plants de 2 semaines.

Enfin, chez les plants de 4 semaines, il existe un léger déficit de développement, probablement sans signification, et un petit déficit de pénétration qui semble porter sur les mâles.

On peut donner, de ces résultats, l'interprétation suivante :

Chez les plants jeunes, les larves des deux sexes pénètrent également, l'indice andrique observé pouvant être assez élevé chez les très jeunes plants à cause de la compétition trophique (environ 1,5 chez les plants de 7 jours contre 1 chez ceux de 10 jours).

Chez les plants plus âgés (2 semaines et plus) la plante, par un mécanisme physiologique qui reste à expliquer, empêche la pénétration des larves, d'abord très fortement chez les plants de 2 semaines. Ensuite la pénétration se rétablit avec l'âge mais d'une façon préférentielle selon le sexe potentiel de la larve. Ainsi, à 4 semaines, la pénétration des larves femelles est très favorisée et l'indice andrique observé est alors d'environ 0,3-0,4, ce qui est en accord avec le témoin de l'expérience portant sur la coupe de la partie aérienne, dans lequel l'inoculation avait été faite sur du riz âgé de 4 semaines.

Les fluctuations de l'indice andrique observées aux différents âges de la plante ne sont donc pas dues à la compétition trophique entre les larves mâles et femelles, comme dans les deux expériences précédentes, mais à des différences intervenant au niveau de la pénétration et on peut en donner une interprétation en accord avec l'hypothèse du sexe déterminé génétiquement avec un indice andrique égal à 1.

CONCLUSION

L'ensemble des résultats présentés s'interprète au moins dans le cadre d'une théorie qui admettrait :

a) Le sexe d'*H. oryzae* est déterminé dans l'œuf avec un sex-ratio de 1.

b) Avec des plants d'âge croissant, on observe, à partir de deux semaines, un déficit de pénétration très important qui se comble par la suite. A 4 semaines, les femelles qui se développent sont environ trois fois plus nombreuses que les mâles, cette différence entre les deux sexes étant due non pas à la compétition trophique mais à un déficit de pénétration des larves à potentialité mâle.

c) Le développement des mâles ayant pénétré dans les racines est relativement indifférent aux conditions qui leur sont imposées. Au contraire, le développement des femelles y est très sensible. Les femelles se développent d'autant mieux que les plantes ne sont pas lésées dans leur fonctionnement, ou que l'inoculum est plus modéré.

Une interprétation différente fondée sur un thème épigénétique de la détermination du sexe, n'est pas totalement inconcevable mais elle obligerait, pour expliquer les résultats expérimentaux, à admettre l'existence de processus régulateurs d'une complexité difficile à imaginer.

Les auteurs remercient M. le Professeur Nigon de la Faculté des Sciences de Lyon, pour ses conseils dans la rédaction du présent article.

Manuscrit reçu au S.C.D. de l'ORSTOM le 29 juillet 1975.

BIBLIOGRAPHIE

- DEN OUDEN (H.) - 1960 - A note on parthenogenesis and sex determination in *Heterodera rostochiensis* Woll. *Nematologica* 5, 215-216.
- GUIRAN (G. de) - 1966 - Coloration des nématodes dans les tissus végétaux par le bleu coton à froid. *Nematologica* 12, 646.

- JONES (F. G. W.), PARROT (D.) - 1965 - The genetic relationships of pathotypes of *Heterodera rostochiensis* Woll. which reproduce on hybrid potatoes with genes for resistance. *Ann. appl. Biol.* **56**, 27-36.
- KERSTAN (U.) - 1969 - Die Beeinflussung des Geschlechterverhältnisses in der Gattung *Heterodera*. II. Minimal lebensraum - Selektive Absterberate der Geschlechter - Geschlechterverhältnis (*Heterodera schachtii*) *Nematologica* **15**, 210-228.
- KOLIOPANOS (C. N.), TRIANTAPHYLLON (A. C.) - 1972 - Effect of infection density on sex ratio of *Heterodera glycines*. *Nematologica* **18**, 131-137.
- 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.
- TRUDGILL (D. L.) - 1967 - The effect of environment on sex determination in *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica* **13**, 263-272.
- YOSHIDA (S.), OHNISHI (Y.), KITAGISHI (K.) - 1959 - Role of silicone in rice nutrition. *Soil and Plant Food* **5**, 127-133.
- KOLIOPANOS (C. N.), TRIANTAPHYLLON (A. C.) - 1972 -