

LA BACTÉRIE

Dorothee Benoit Browaeys

QUI REND FEMELLE

La sexualité des cloportes, cas d'école pour analyser les conflits entre gènes

Les femelles cloportes engendrent souvent une écrasante majorité de filles. Le phénomène se transmet de génération en génération. Ces femelles sont en réalité des mâles contaminés par des bactéries, qui les transforment en femelles. La transformation est parfois si profonde que le cloporte l'intègre dans son génome. Des chercheurs de Poitiers émettent une hypothèse hardie : hermaphrodites au début de leur histoire, les crustacés auraient découvert la sexualité en raison d'une infection bactérienne.

Ils grouillent dans l'obscurité. Au sous-sol du laboratoire de biologie animale de l'université de Poitiers*, cent mille cloportes vivent dans de grands bacs remplis de feuilles mortes. Ces crustacés terrestres, de l'ordre des isopodes*, sont élevés ici, depuis 1965. Aujourd'hui, ils sont d'une dizaine d'espèces différentes : il y a les cloportes mutants rouges ou albinos, les espèces rayées, celles qui sont tout noires... L'espèce la plus commune, *Armadillidium vulgare*, originaire du pourtour méditerranéen, est la plus étudiée. On la trouve couramment, en France, en soulevant une pierre ou dans les lieux sombres et humides.

Les mœurs sexuelles des cloportes sont relativement classiques. Lors de l'accouplement, les spermatozoïdes du mâle sont introduits dans l'oviducte. Ils s'accumulent dans un réceptacle séminal où ils sont stockés. Un seul accouplement peut donc assurer la totalité de la fécondation des œufs tout au long de la vie d'une femelle. L'espèce s'accommode ainsi d'un nombre de mâles restreint. Les œufs fécondés sont ensuite pondus dans une poche incubatrice ventrale appelée marsupium.

Dans les années 1940, Albert Vandel, un chercheur ariégeois qui a consacré sa



vie à étudier des cloportes dans le laboratoire souterrain de Moulis, remarque une étrange particularité : certaines femelles n'engendrent presque que des filles (60 à 90 % de leurs petits). C'est en partie pour résoudre cette énigme que son ami le généticien Jean-Jacques Legrand a créé cet élevage de Poitiers.

Élevées à 30 °C, les jeunes femelles, débarrassées de leurs bactéries, n'engendrent plus que des mâles

Les observations sont troublantes : les filles issues de ces portées très féminines ne produisent à leur tour presque que des filles. L'excès de femelles semble héréditaire. Avec son collègue le physiologiste Pierre Juchault, Jean-Jacques Legrand mène expérience sur expérience. Ces animaux ne sont pas *a priori* un outil idéal pour les généticiens : les femelles ne se reproduisent qu'au bout d'un an, et n'en vivent habituellement que deux. Mais, propriété intéressante, ils muent toute leur vie, et manifestent

Pierre Juchault expérimente sur les cloportes depuis un quart de siècle...

Les surprises se sont succédées. Aujourd'hui, il en vient, avec Jean-Pierre Mocquard, à ébaucher une théorie sur l'apparition des sexes séparés (mâles et femelles) chez les crustacés, naguère hermaphrodites. (Cliché J.-C. Sannicolos)

une étonnante plasticité de leurs caractères sexuels. Par inoculation d'hormones sexuelles, on peut changer un mâle en femelle, et inversement.

Premier type d'expériences : si l'on implante la glande qui sécrète l'hormone mâle sur des femelles normales (qui donnent naissance à autant de garçons que de filles), leurs pattes se couvrent de broches de soies et il leur pousse des styles copulateurs. Sur les femelles à forte descendance féminine l'opération n'a au contraire aucun effet. Elles résistent à la masculinisation. Les deux chercheurs prélèvent sur des femelles des tissus aussi divers que le cœur, l'intestin, le tissu adipeux, les ovaires, et les greffent sur des mâles. Quand ces tissus viennent de femelles à forte descendance féminine, les mâles greffés se féminisent ! Les deux

DOROTHÉE BENOIT BROWAEYS est journaliste scientifique.

LES CHERCHEURS cités dans cet article travaillent pour la plupart au GPBC, « Génétique et biologie des populations de crustacés », au Laboratoire de biologie animale de l'université de Poitiers (CNRS-URA 1975).

ISOPODES Ordre de crustacés dont toutes les pattes sont semblables.



Trois des quelque cent mille cloportes qui grouillent dans le sous-sol du laboratoire de Poitiers. Un mâle en bas, deux femelles en haut. (Cliché J.-C. Sannicolos)

... ouvertures génitales femelles apparaissent, ainsi que la poche incubatrice, le marsupium. Ils se mettent à produire une protéine femelle (la vitellogénine), la spermatogenèse finit par s'arrêter et ils perdent leur instinct copulateur. Greffés chez des femelles normales, ces mêmes tissus les transforment en femelles à forte descendance féminine.

D'où pouvait donc venir cet irrésistible principe féminisant ? Les deux chercheurs font une expérience cruciale : en filtrant les extraits tissulaires à 0,2 micron, tous les effets décrits précédemment disparaissent. Or ce filtrage empêche le passage de la plupart des micro-organismes : la présence d'un agent infectieux était probable. Il fut identifié en 1973, dans ce même laboratoire, par Gilbert Martin. Après avoir broyé, filtré les préparations issues de femelles à forte descendance féminine, il découvre, sous l'œil du microscope électronique, un foisonnement inattendu de bactéries de 0,5 à 1 micron de long. Elles pullulent dans le cytoplasme

DES MÂLES TRANSFORMÉS EN FEMELLES

Premier scénario

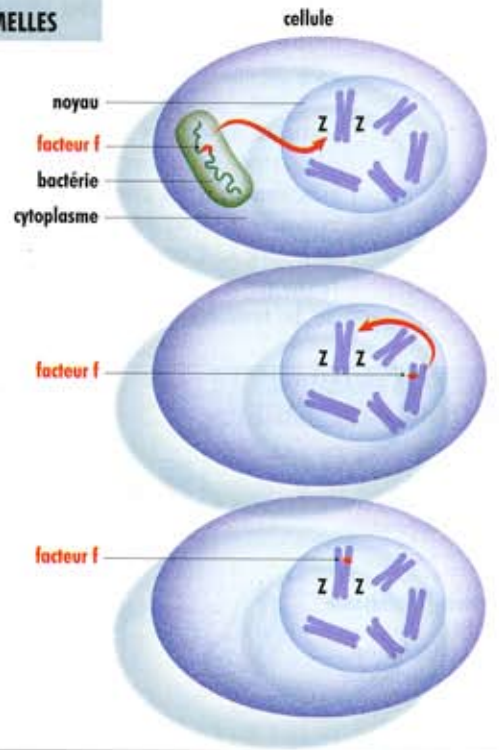
La bactérie est dans le cytoplasme. Le facteur f présent dans son génome inhibe le fonctionnement des chromosomes mâles ZZ.

Deuxième scénario

La bactérie n'est plus dans le cytoplasme, mais le facteur f a pénétré dans le noyau. Devenu un "gène sauteur" (transposon), il inhibe le fonctionnement des chromosomes mâles ZZ depuis le génome même du cloporte.

Troisième scénario

Le facteur f s'est intégré définitivement à l'un des chromosomes sexuels mâles, le transformant en chromosome femelle.



des ovocytes, ce qui favorise leur transmission à la descendance. Elles sont absentes chez les mâles.

Les bactéries peuvent être détruites par un traitement antibiotique. Les tissus de femelles ainsi traitées n'induisent pas d'effet féminisant chez les receveurs. Cette expérience achève de démontrer que les bactéries trouvées sont les agents de la féminisation.

Une expérience supplémentaire apporte une surprise. Les cloportes survivent à une température de 30 °C, mais pas leurs hôtes bactériens. A cette température, les très jeunes femelles (qui perdent ainsi leurs bactéries) évoluent... vers un phénotype mâle. Contrairement aux femelles plus âgées,

Figure 1. Les trois scénarios de contamination bactérienne établis par les chercheurs de Poitiers sont d'un grand intérêt pour la théorie de l'évolution.

dont les organes sont définitivement sexualisés. Comment comprendre qu'une jeune femelle, débarrassée de ses bactéries, évolue en mâle ?

Une nouvelle expérience allait donner la clef de l'énigme : si l'on oblige ces femelles à vivre à 30 °C, ce qui les libère de l'emprise bactérienne, elles ne produisent plus que des mâles ! La seule façon de comprendre ce résultat est d'admettre que ces femelles sont en réalité, génétiquement, des mâles⁽⁶⁾.

En principe, le sexe du cloporte vulgaire est déterminé par deux chromosomes sexuels. Mais à l'inverse de ce qui se passe chez les humains, ces chromosomes sont identiques chez le mâle (ZZ) et différents chez la femelle (WZ). En l'occurrence, il apparaît que les femelles à forte descendance féminine étaient en fait des mâles ZZ, transformés en femelles par des bactéries. Des mâles suffisamment travestis dans leur physiologie pour être capables de procréer en s'accouplant avec des vrais mâles. Donnant 60 % à 90 % de filles (en fait aussi des travestis) quand les ovocytes sont infectés de bactéries, exclusivement des mâles (vrais) dans le cas contraire. Les 10 % à 40 % de mâles vrais nés de travestis proviennent d'ovocytes qui ont échappé à l'infection. Une infection redoutable, puisqu'un(e) cloporte de 100 mg héberge couramment entre 100 000 et 200 000 unités infestantes — l'unité infestante étant définie comme le nombre minimal

Figure 2. A gauche, organe copulateur d'un beau cloporte mâle, vu au microscope électronique. Ci-dessous à gauche (agrandissement réduit) : absence d'organe copulateur chez une femelle (vraie ou fausse). A droite, organe copulateur réduit chez un intersexué obtenu par le conflit entre le gène M et la bactérie féminisante. En laboratoire, il est possible de transformer un mâle en femelle, et réciproquement.

Cachez ce sexe que je ne saurais...



autres. De fait, c'est ce qui se produit dans certaines populations, où il n'existe plus que des mâles et des mâles travestis (ZZ+Wolbachia et ZZ+f). Dans certains cas il ne reste plus que des ZZ et des ZZf. Mais ce n'est pas le cas le plus courant. Souvent les travestis coexistent sans problème apparent avec des femelles normales. Il arrive même que celles-ci soient les plus nombreuses.

Il existe par ailleurs des lignées de travestis qui continuent de donner naissance à 50 % de mâles — voire davantage. De fait, il apparaît que certaines lignées de cloportes sont dotées d'un gène masculinisant capable de faire de la résistance. Ce gène M n'est pas situé sur un chromosome sexuel mais sur un chromosome ordinaire (autosome). Dans certains cas, il est capable de réaliser l'opération inverse de *Wolbachia*, c'est-à-dire de transformer des femelles génétiques WZ en travestis mâles ! Il est également capable de bousculer le facteur f dans la reproduction de femelles ZZ+f et d'assurer la présence d'un nombre respectable de mâles chez les petits⁽⁴⁾. En revanche le gène m est incapable d'empêcher l'effet féminisant de *Wolbachia*, c'est-à-dire chez des travestis infectés. Mais il est alors à l'origine de nombreux types d'intersexués, certains stériles, d'autres fonctionnant comme des femelles et capables de transmettre ce gène (fig. 2). L'action du gène M doit être interprétée non pas comme créatrice d'une fonction nouvelle, mais comme une inhibition du facteur féminisant, lui-même un inhibiteur de la fonction mâle.

Tout le groupe des isopodes terrestres semble contaminé par les bactéries *Wolbachia*. Pourquoi ?

Ces interactions aussi diverses que profondes entre bactéries et cloportes illustrent de manière particulièrement frappante un cas de coévolution impliquant un conflit entre des gènes présents ou issus du cytoplasme (il s'agit en l'occurrence de gènes bactériens) et des gènes du noyau. On retrouve le même genre de phénomène chez des insectes (voir encadré). Il évoque aussi fortement le cas bien connu des organites qui sont devenus, avec le temps, partie intégrante du patrimoine héréditaire des animaux et des plantes : les mitochondries et (chez les plantes seules) les chloroplastes. Selon la théorie dite endosymbiotique avancée par la biologiste américaine Lynn Margulis, théorie considérée aujourd'hui comme raisonnable, ces orga-

GÈNES FÉMINISANTS CHEZ LES PLANTES

Chez les plantes, l'ADN des mitochondries et chloroplastes (organites du cytoplasme sans doute issus de bactéries), agit parfois sur la reproduction de leur hôte. Ces gènes à transmission maternelle ont tout intérêt à éliminer la fonction mâle. Porté par l'ADN mitochondrial, un gène dit de stérilité mâle est très répandu. Il est présent chez plus des deux tiers des espèces de thym. Dans la nature jusqu'à 95 % des pieds de thym sont femelles⁽⁷⁾.

Chez le maïs et le pétunia, les gènes de stérilité mâle sont constitués d'éléments issus à la fois de mitochondries et de chloroplastes. Chez le pétunia, ils semblent entraver la production de l'énergie nécessaire à la maturation des gamètes mâles. La synthèse de pollen se trouve ainsi bloquée.

Reste à comprendre pourquoi ces gènes qui induisent la stérilité mâle sont rares chez certaines espèces (carotte), inexistant chez d'autres (primevère). Certains auteurs incriminent des effets secondaires néfastes. Chez le maïs, ces gènes induisent par exemple une sensibilité accrue à un champignon parasite. Comme chez les cloportes, les plantes disposent, dans leur noyau, de gènes dits restaurateurs de la fonction mâle. Ils existent chez de nombreux végétaux supérieurs, ce qui inspire à Pierre-Henri Gouyon et Denis Couvet l'idée que les espèces hermaphrodites sont « celles chez lesquelles le génome nucléaire aurait gagné le conflit, c'est à dire pour qui les gènes nucléaires restaurant la fonction mâle auraient envahi l'espèce »⁽⁸⁾.

L'hermaphroditisme, qui permet les deux fonctions mâle et femelle, serait un résultat possible de la réaction des gènes nucléaires. Dans certains cas, des gènes nucléaires peuvent aller jusqu'à supprimer la fonction femelle. On aboutit alors à des individus mâles.

nites, qui ont leur propre génome, seraient issus de bactéries venues infecter des organismes à noyau quand le taux d'oxygène dans l'atmosphère terrestre s'est mis à augmenter, voici 1,5 milliard d'années. Chacun y trouvait son compte : les bactéries leur nourriture, et leurs hôtes, qui étaient menacés par l'oxygène, la capacité au contraire d'exploiter cet élément pour en tirer de l'énergie. Or aujourd'hui, chez les plantes, les mitochondries et les chloroplastes, transmis uniquement par les femelles, entrent parfois en conflit avec le génome du noyau et agissent alors dans le sens d'une élimination des mâles (voir encadré).

On connaît une vingtaine d'espèces de cloportes infectées par *Wolbachia*. L'effet féminisant est établi chez plusieurs d'entre elles. Tout le groupe des

isopodes terrestres semble contaminé. Pourquoi ? « Il n'est pas encore possible de dire si cette endosymbiose féminisante s'est répandue à la suite d'une infection ancestrale ou de plusieurs infections indépendantes » commente Thierry Rigaud, du laboratoire de Poitiers⁽⁵⁾. Pour lui, des transferts bactériens horizontaux (entre espèces) ont sans doute favorisé le phénomène de propagation. Pour étudier les mécanismes de coévolution, Thierry Rigaud inocule différentes bactéries chez diverses familles d'isopodes terrestres. Il a aussi pu montrer que les transferts de bactéries peuvent se produire très facilement entre deux individus blessés, après contact de leur hémolymphe (l'équivalent du sang chez les invertébrés).

La capacité qu'ont les *Wolbachia* à transformer des mâles en femelles a conduit Pierre Juchault et son collègue Jean-Pierre Mocquard à émettre une hypothèse hardie : ce mécanisme de contamination bactérienne serait à l'origine même de la sexualité chez les crustacés⁽³⁾. Ils font observer que les crustacés les plus primitifs connus sont hermaphrodites et que chez de nombreuses espèces à sexes séparés, la gonade des mâles et des femelles reste indifférenciée pendant quelque temps après la fin de la vie embryonnaire. Le scénario aurait été le suivant : à une époque très reculée, une bactérie féminisante (pourvue d'un facteur f) aurait infecté un crustacé hermaphrodite, générant l'apparition de femelles. Par le jeu de la sélection naturelle, des hermaphrodites un peu plus mâles que femelles auraient alors été privilégiés, pour donner finalement de vrais mâles. De leur côté l'insertion répétée du facteur f dans un chromosome Z aurait fini par générer un chromosome W. Les génotypes ZZ+f et ZZf que l'on observe aujourd'hui évoqueraient en réalité un processus ancestral de fabrication de chromosomes féminins W (fig. 3).

Les relations entre le cloporte et sa bactérie *Wolbachia* sont loin d'être pleinement élucidées. La génétique moléculaire va certainement nous permettre d'en savoir plus. Nous sommes clairement en présence d'un cas d'école pour comprendre le rôle des conflits génomiques comme moteurs de l'évolution. Tous ces micro-organismes et organites qui vivent en symbiose (à l'intérieur des cellules d'un autre organisme) agissent de façon à favoriser leur propre survie. Les relations entre les deux génomes, et plus spécialement entre les gènes impliqués de part et d'autre, sont une source de réflexion inépuisable pour les évolutionnistes⁽⁶⁾.

D.B.B. ■