

## FLUX IONIQUES ET TRANSPORT DU BICARBONATE À TRAVERS LES FEUILLETS ÉPITHÉLIAUX DU TENTACULE D'*ANEMONIA VIRIDIS* (FORSSKÅL, 1775)

Sylvie BÉNAZET, Denis ALLEMAND, Jean JAUBERT

Centre Scientifique de Monaco, Observatoire Océanologique Européen, Principauté de Monaco

Chez les Cnidaires anthozoaires, le cœlenteron est séparé de l'eau de mer externe par un tissu composé de deux couches épithéliales : un ectoderme en contact avec le milieu extracœlenterique et un endoderme en contact avec le milieu intracœlenterique. Les deux feuillets sont séparés par une couche de mésoglée. La communication entre le cœlenteron et l'eau de mer externe se fait par l'intermédiaire d'un orifice unique "bouche" dont l'ouverture est assurée par des muscles. Deux hypothèses concernant le renouvellement du liquide cœlenterique sont envisageables : soit une aspiration/expulsion d'eau par la bouche, soit des systèmes de transport transépithéliaux. Dans le but de caractériser les propriétés du tissu oral des Cnidaires, nous avons utilisé comme modèle d'étude le tentacule de l'anémone de mer *Anemonia viridis* (FORSSKÅL, 1775). Les 150 à 200 tentacules peu rétractiles de cette espèce méditerranéenne peuvent atteindre 15 cm de longueur. Le protocole expérimental choisi pour l'étude des transports ioniques est le suivant : une partie du tentacule est découpée dans le sens de la longueur, puis placée à l'intérieur d'une chambre de Ussing. La chambre de Ussing est constituée de deux hémichambres d'un volume unitaire de 200 µl. La surface utile exposée est de 0,2 cm<sup>2</sup> soit une quantité de protéines de 1,13 ± 0,068 mg. Des expériences de cinétique isotopique avec du calcium (<sup>45</sup>Ca), du sodium (<sup>22</sup>Na) et du chlore (<sup>36</sup>Cl) ont permis de déterminer les propriétés de perméabilité des feuillets épithéliaux. L'eau de mer contenant le radioisotope est placée dans une hémichambre et l'apparition de la radioactivité est suivie en fonction du temps dans l'hémichambre opposée. L'action du cyanure 1 mM, inhibiteur des transports actifs, a été testée afin de caractériser le type de transport. Les flux entrant (c-à-d. du milieu extratentaculaire vers le milieu intratentaculaire) et sortant (c-à-d. du milieu intratentaculaire vers le milieu extratentaculaire) ont été déterminés de même que le flux net résultant de la différence entre le flux entrant et le flux sortant. Pour chaque ion testé, les valeurs du flux entrant sont superposables aux valeurs du flux sortant, le flux net est donc nul. Les valeurs des flux entrants sont reportées dans le tableau 1.

ion	Flux entrant (nmol. min <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Flux entrant (nmol. min <sup>-1</sup> .mg Protéines <sup>-1</sup> )
Ca <sup>2+</sup>	5 ± 0,45	0,88 ± 0,08
Na <sup>+</sup>	540 ± 20	95,58 ± 3,54
Cl <sup>-</sup>	1000 ± 200	176,99 ± 35,4

Tableau 1

Les flux sont insensibles au cyanure ce qui suggère que les ions cheminent par simple diffusion en empruntant une voie de passage paracellulaire. Dans ces conditions les coefficients de perméabilité ont pu être déterminés d'après la relation :  $J_d = A \cdot C \cdot P_d$  où A est la surface membranaire, C la concentration et  $P_d$  le coefficient de perméabilité. Les valeurs des coefficients de perméabilité sont reportées dans le tableau 2.

ion	Coefficient de perméabilité (10 <sup>-5</sup> cm. s <sup>-1</sup> )
Ca <sup>2+</sup>	10
Na <sup>+</sup>	11
Cl <sup>-</sup>	2,45

Tableau 2

Ces valeurs de perméabilité comparées à celles obtenues pour d'autres épithéliums permettent de classer le tissu du tentacule d'*Anemonia viridis* parmi les épithéliums de type lâche. Un autre aspect de ce travail a consisté en l'étude du transport des ions bicarbonate à travers les feuillets du tentacule. Les cellules endodermiques contiennent en effet des dinoflagellés *Symbiodinium* sp. (FREUDENTHAL, 1962) communément appelés zooxanthelles (TRENCH, 1981). Ces zooxanthelles sont entourées d'une membrane vacuolaire d'origine animale (SMITH et DOUGLAS, 1987). Pour assurer leur taux maximal de photosynthèse, les zooxanthelles ont besoin de gaz carbonique. Le CO<sub>2</sub> fourni par la respiration des cellules animales et des cellules végétales (1,67 ± 0,2 nmol O<sub>2</sub>. min<sup>-1</sup>. mgProtéines<sup>-1</sup>) ne suffit pas à alimenter la photosynthèse qui produit 7,19 ± 1,13 nmol O<sub>2</sub>. min<sup>-1</sup>. mgProtéines<sup>-1</sup> à une intensité lumineuse de 300 µmol. m<sup>-2</sup>. s<sup>-1</sup>. Les zooxanthelles doivent donc utiliser une autre source de carbone inorganique (C<sub>i</sub>). Dans l'eau de mer le CO<sub>2</sub> dissous n'est présent qu'à la concentration de 10 µM. Le C<sub>i</sub> est présent majoritairement sous la forme de bicarbonate (2 mM). Des expériences ont été réalisées dans des eaux de mer avec ou sans bicarbonate. Le tentacule est perfusé pendant 20 min avec le milieu désiré puis placé dans des respiromètres. L'absence de bicarbonate dans le milieu extratentaculaire et intratentaculaire provoque une inhibition de la photosynthèse de 98% par rapport aux conditions de contrôle (eau de mer de part et d'autre). Le bicarbonate est donc la source principale de C<sub>i</sub> absorbé par les cellules animales pour être ensuite fourni aux zooxanthelles sous forme de CO<sub>2</sub>. En absence de bicarbonate extratentaculaire, l'inhibition photosynthétique est de 67% alors qu'elle n'est que de 37% en absence de bicarbonate intratentaculaire. Ces résultats suggèrent que la source majeure de bicarbonate provient de l'eau de mer extratentaculaire et que le bicarbonate ne diffuse pas à travers les deux couches épithéliales. L'approvisionnement majoritaire en bicarbonate par le milieu extratentaculaire permet de maintenir le pouvoir tampon du milieu intratentaculaire évitant ainsi des variations du pH intratentaculaire qui sont néfastes aux fonctions cellulaires. Plusieurs mécanismes de transport des ions bicarbonate ont été décrits chez les cellules animales. Parmi eux, nous avons testé la présence éventuelle de l'échangeur Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> en utilisant un inhibiteur spécifique : le SITS (4-Acétamido-4'-Diisothiocyanatostilbène-2'-disulfonic acid). Le tentacule est perfusé dans de l'eau de mer avec ou sans SITS pendant 20 min puis placé dans ces mêmes conditions dans des cuves de mesure de la production d'oxygène. En présence de SITS extratentaculaire et intratentaculaire, l'inhibition est de 65% ce qui montre la présence d'un échangeur de type Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. L'effet du SITS est plus important (50% vs 30%) lorsque l'inhibiteur est placé dans le milieu extratentaculaire que lorsqu'il est placé dans le milieu intratentaculaire. Ces résultats confirment donc que la source majoritaire de bicarbonate provient du milieu extratentaculaire mais aussi que ce bicarbonate emprunte un échangeur anionique vraisemblablement situé sur les membranes des cellules ectodermiques.

### RÉFÉRENCES

- FREUDENTHAL H. D., 1962. - *Symbiodinium* gen. nov. *Symbiodinium microdriatricum* sp nov., a zooxanthella : taxonomy, life cycle, and morphology. *J. Protozool.* 9 : 45-52.  
 SMITH D. C. & DOUGLAS A. E., 1987. - Algae in symbiosis II. With marine hosts (animals and protists). In : The biology of symbiosis. Willis A. J. & Sleight M. A. (eds). Edward Arnold, Baltimore. pp 33-46.  
 TRENCH R. K., 1981. - Cellular and molecular interactions in symbioses between dinoflagellates and marine invertebrates. *Pure & Appl. Chem.*, 53 : 819-835.

*Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 34, (1995).