UNIVERSITÉ DE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS
U. F. R. SCIENCES

THÈSE

Présentée pour l'obtention du grade de docteur
de l'Université de Nice-Sophia Antipolis
Spécialité : Sciences de la Vie

Par

Claire GOIRAN

La symbiose entre les Scléractiniaires et les Dinoflagellés : physiologie des zooxanthelles *Symbiodinium* sp. du corail *Galaxea fascicularis*, hors de l'association symbiotique

Soutenue le 6 décembre 1994, devant le jury composé de :

monsieur	D. Allemand (directeur de thèse)
madame	B. Berland
messieurs	F. Bréchignac
	J. Ehrenfeld
	J.-P. Gattuso (rapporteur)
	M. Pichon (rapporteur)
	R. Trench

Résumé

L'association symbiotique entre les coraux Scléractiniaires et les Dinoflagellés (zooxanthelles) est à la base même de l'existence des récifs coralliens. Cependant les mécanismes physiologiques permettant la vie en symbiose de ces organismes sont mal connus. Le présent travail a donc été entrepris afin d'élucider certains de ces mécanismes. Pour cela, les zooxanthelles du Scléractiniaire *Galaxea fascicularis* ont été étudiées hors de l'association symbiotique. Dans les Scléractiniaires, les Dinoflagellés se trouvent dans certaines cellules de l'endoderme, chacun à l'intérieur d'une vésicule ; celle-ci constitue, avec la zooxanthelle qu'elle contient, une unité fonctionnelle appelée symbiosome. Les zooxanthelles hors de l'association symbiotique ont été préparées de deux manières différentes. La première, qui est l'isolement à partir des tissus de l'hôte, produit des zooxanthelles fraîchement isolées ou FIZ, la seconde, qui consiste en la culture des Dinoflagellés *in vitro* produit des zooxanthelles de culture ou CZ. L'observation de l'ultrastructure des FIZ révèle qu'une partie des membranes d'origine animale qui entourent les zooxanthelles lorsqu'elles sont dans l'association symbiotique persistent lors de l'isolement. Cependant, ces membranes n'étant pas complètes, les FIZ ne peuvent pas être considérées comme des symbiosomes. Lorsque les zooxanthelles sont isolées à partir des tissus de l'hôte et transférées en eau de mer, la composition ionique du milieu extérieur change brutalement. En réponse à ce choc ionique, la concentration de sodium intracellulaire des FIZ double durant la première demi-heure suivant le passage en eau de mer. Rapidement, des mécanismes de régulation, vraisemblablement constitués par des Na^+/K^+-ATPases, se mettent en place, et la concentration de sodium revient à la valeur initiale. Les mécanismes grâce auxquels les zooxanthelles absorbent le carbone inorganique utilisé pour la photosynthèse ont également été étudiés. Dans l'eau de mer normale à pH 8,2, la concentration de bicarbonate est environ 200 fois plus élevée que celle du CO_2. Les résultats obtenus par les expériences de pharmacologie et les mesures de cinétique semblent montrer que les CZ absorbent le HCO_3^- grâce à un symport Na^+/HCO_3^-. Les FIZ, en revanche, utiliseraient le CO_2 diffusant à travers les membranes. Elles possèderaient des mécanismes favorisant la conversion du HCO_3^- en CO_2 à l'extérieur de la cellule, notamment une H^+-ATPase et une anhydrase carbonique périphérique. Ces résultats mettent en évidence l'adaptation des deux types de zooxanthelles à leur environnement habituel : eau de mer ou cellule animale.

Mots-clefs : Scléractiniaire, Dinoflagellé, symbiose, zooxanthelle, *Symbiodinium, Galaxea fascicularis*, photosynthèse, transport membranaire, bicarbonate, CO_2, carbone inorganique, sodium.

Abstract

Although symbiosis between scleractinian corals and dinoflagellates (zooxanthellae) is fundamental to the existence of coral reefs, many of the participating physiological processes are poorly understood. To enable investigation of some of these processes, zooxanthellae were isolated from the coral *Galaxea fascicularis*. In scleractinians, zooxanthellae are located iside cells of the endoderm in membrane-bound vesicles. Each functional unit of zooxanthella and encapsulating vesicle is termed a symbiosome. Isolated zooxanthellae were produced by direct isolation from host tissue (freshly isolated zooxanthellae, FIZ) and *in vitro* culture (cultured zooxanthellae, CZ). Ultrastructural examination of FIZ revealed vestiges of the symbiosome membrane remaining after isolation, thus indicating disruption of the functional unit. During isolation, zooxanthellae were subjected to ionic shock caused by differences in the ionic composition of the cytosol of host cell and sea water. This shock caused intracellular sodium ion concentration to double. Subsequently, regulatory mechanisms, became active, most likely controled by Na^+/K^+-ATPases, that caused intracellular sodium concentration return to pre-isolation levels. Mechanisms of inorganic carbon uptake for photosynthesis were investigated in FIZ and CZ. At normal sea water pH, the concentration of HCO_3^- is about 200 times greater than that of CO_2. The data support the interpretation that CZ absorb HCO_3^- by means of a Na^+/HCO_3^- symport. FIZ, in contrast, appear to take up CO_2 by diffusion. The data thus indicate that FIZ enhance conversion of HCO_3^- in CO_2 at the exterior surface of the cell membrane by a process which involves H^+-ATPase and a peripheral carbonic anhydrase. The results of this study demonstrates differences in the physiological adaptation of zooxanthellae to sea water and the coral host environment.

Key-words : Scleractinian, Dinoflagellate, symbiosis, zooxanthella, *Symbiodinium, Galaxea fascicularis*, photosynthesis, membrane transport, bicarbonate, CO_2, inorganic carbon, sodium.