

ÉTUDE HISTOCHIMIQUE ET ULTRASTRUCTURALE DES ZONES DIGESTIVES *D'ACTINIA EQUINA L. (CNIDARIA, ACTINIARIA).*

par

Michel Van Praët

Muséum national d'Histoire naturelle, Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins et Malacologie, 57, rue Cuvier, 75005 Paris.

Résumé

Les cellules des parties digestives des mésentères sont décrites grâce aux techniques d'histochimie et de microscopie électronique. Les cinq types de cellules glandulaires sont comparés aux cellules homologues d'autres Cnidaires.

La répartition des diverses catégories cellulaires constitue trois régions spécialisées dans les mésentères des Actinies. Les cellules épithéliales flagellées et le mucus des cellules spumeuses du pharynx et de la portion supérieure des entéroïdes facilitent le transit des proies. Les sécrétions des cellules à zymogène de la portion inférieure des entéroïdes assurent la digestion extracellulaire. La digestion intracellulaire finale a lieu dans les cellules phagocytaires, abondantes dans les mésentéroïdes des pelotes mésentériques. La capacité des nombreuses cellules amiboides de la mésogée des Actinies à transporter des éléments nutritifs est discutée.

«

Les recherches sur la nutrition des Actiniaries ont essentiellement porté sur ses aspects physiologiques. Krijgsman et Talbot (1953) découvrirent dans la cavité coelentérique et les mésentères une protéase proche de la trypsine, une lipase et une amylase. Nicol (1959) démontra que la protéase n'agit sur les proies que lorsque celles-ci sont maintenues au contact des mésentères. Il confirma que la digestion, amorcée ainsi dans la cavité coelentérique, s'achève après phagocytose des fragments de proies dans les mésentères, comme l'avait découvert Metschnikoff (1880). Jeuniaux (1962) mit en évidence une digestion extracellulaire de la chitine, au contact des mésentères, par des chitinases et chitobiases. Murdock et Lenhoff (1968) étudièrent les parts des digestions extra- et intracellulaire des protéines. Gibson et Dixon (1969) isolèrent trois séries protéases homologues de celles du pancréas des Mammifères.

Yamao et Makino (1954) recherchèrent histoenzymologiquement les phosphatasées acides et les localisèrent dans des cellules glandulaires. Ces enzymes n'interviennent qu'au cours de la digestion intracellulaire et sont, en fait, situés dans les cellules phagocytaires

endodermiques, abondantes dans les pelotes mésentériques (Van Praët, 1976).

L'étude ultrastructurale des mésentères n'a également fait l'objet que de deux publications. Celle de Grimstone, Horne, Pantin et Robson (1958) est axée sur les cellules musculaires et celle de Vader et Lönnning (1975) porte sur les filaments mésentériques de *Bolocera tuedia* (Johnston).

Grâce à des observations histochimiques et cytologiques sur *Actinia equina* L. et la comparaison de celles-ci aux travaux sur *Bolocera tuedia* (Vader et Lönnning, 1975) et d'autres Cnidaires (Bouillon, 1966 ; Rose et Burnett, 1968 ; Trench, 1974 ; Tiffon et coll., 1975, 1976 et Van Praët, 1976, 1977), nous préciserons l'anatomie des entéroïdes et décrirons les types cellulaires impliqués dans les processus de digestion extracellulaire, intracellulaire et le transfert des éléments nutritifs.

Matériel et méthode

Les animaux destinés à l'histochimie ont été fixés au formol neutre salé ou au liquide de Carnoy. Ceux destinés à la microscopie électronique l'ont été au glutaraldéhyde à 6 p. 100, tamponné au cacodylate de sodium, pendant 2 ou 24 heures à 0-4° C ; ils ont été après lavage post-fixés au tétr oxyde d'osmium à 1 p. 100, pendant 40 minutes à 0-4° C. L'inclusion a été réalisée dans un mélange épon-araldite.

Les coupes semi-fines ont été colorées par l'azan, l'APS, le bleu alcian à pH 2,5 et l'éosine après désaralditage au méthoxyde de sodium.

Les coupes ultrafines ont été contrastées par la double réaction de Reynolds à l'acétate d'uranyl-citrate de plomb et observées au microscope électronique Hitachi HU 11 E.

Les réactions histochimiques sont récapitulées sur le tableau 1.

Les expériences d'incubation dans la ferritine ont été réalisées avec des concentrations de 1 mg/ml pendant une ou deux heures. Les animaux ont ensuite été maintenus dans l'eau de mer et examinés durant cinq semaines. Dans la discussion est également mentionné le résultat d'une expérience de nutrition avec un hydrolysat de protéines de *Chlorella vulgaris* 14 C (CEA réf. CB4).

OBSERVATIONS

I - Anatomie macroscopique et microscopique des mésentères

On distingue classiquement dans les mésentères, d'une part la cloison mésentérique ou mésentéroïde et, d'autre part, leur bord libre qui forme un bourrelet : le filament mésentérique ou entéroïde.

A - Dans leur portion supérieure, qui descend du pharynx, les entéroïdes sont constitués d'un triple bourrelet de 180 à 200 µm d'épaisseur, ce qui leur donne en coupe transversale un aspect trilobé.

Chaque cordon a un diamètre de 80 à 100 µm. Depuis le XIX^e siècle les auteurs se sont basés sur l'histologie pour définir les parties anatomiques des entéroïdes (Fig. 1).

L'apex du cordon médian est essentiellement constitué de cellules épithéliales flagellées mais, parce qu'il comporte des cellules glandulaires et des nématocytes, il a été appelé *tractus cnidoglandulaire*. Les cellules glandulaires peu nombreuses sont de cinq types différents ; le plus représenté est celui des cellules spumeuses.

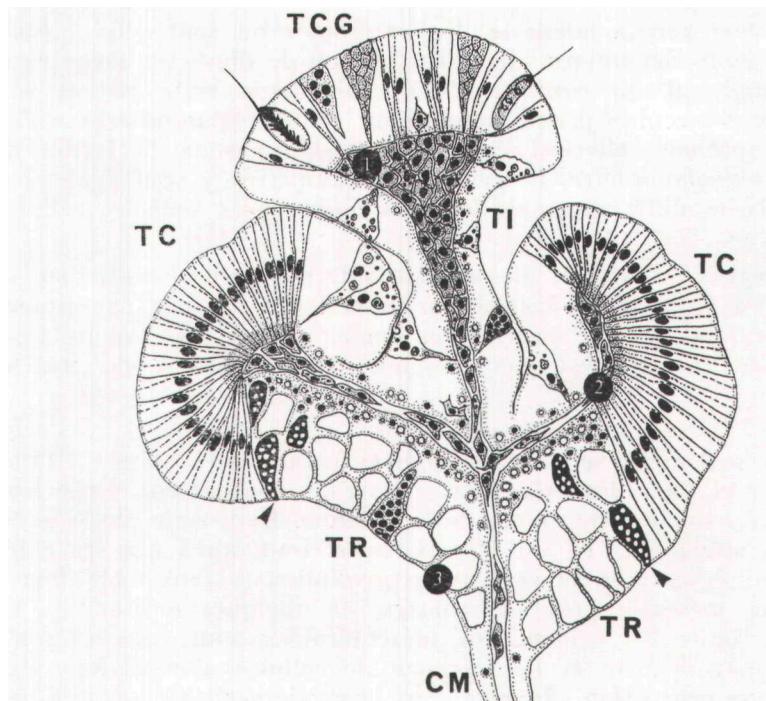


FIG. 1
Actinia equina

Schéma d'une coupe transversale, au niveau supérieur d'un entéroïde. CM : cloison mésentérique ; TC : tractus ciliaire, composé exclusivement d'épithéliocytes flagellés ; TCG : tractus cnidoglandulaire, constitué d'épithéliocytes flagellés, de cellules glandulaires et de nématocytes ; TI : tractus intermédiaire, formé de cellules phagocytaires et de rares cellules glandulaires ; TR : tractus réticulaire, composé en majorité de cellules à vacuoles, de rares cellules glandulaires et de cellules à concrétions (flèches noires). Les points noirs correspondent aux planches II₁, (1), II₂ (2) et III₂ (3).

Les apex des cordons latéraux, constitués exclusivement de cellules épithéliales flagellées, sont les *tractus ciliaires*. Leur disposition en mamelons forme une succession de sillons perpendiculaires à l'axe de l'entéroïde.

Les faces latérales des cordons médian et latéraux, comprises entre ces deux tractus, sont chez les espèces à symbiontes les tractus à zooxanthelles. Pour tenir compte des espèces qui en sont dépourvues comme *Actinia equina* L., il est aussi appelé *tractus intermédiaire*.

aire. Il est constitué de cellules phagocytaires et de rares cellules glandulaires.

La zone d'union des deux cordons latéraux, rattachée au mésentéroïde, est, du fait de son aspect vacuolaire, désignée sous le terme de *tractus réticulaire*. Cet aspect est dû aux nombreuses cellules à vacuole qui le constituent. Les cellules glandulaires y sont rares mais, latéralement, au contact des tractus ciliaires existent quelques cellules particulières, à concrétions (Van Praët, 1977).

B - Dans leur portion inférieure, les entéroïdes ne sont plus formés que d'un bourrelet unique, de 120 à 180 μm de diamètre, situé dans le prolongement du cordon médian. Bien que cette région soit constituée d'un plus grand nombre de cellules glandulaires qu'au niveau supérieur, elle est également désignée sous le terme de *tractus cnidoglandulaire*. Les cellules glandulaires y sont également de cinq types différents mais les plus nombreuses sont les cellules à zymogène.

La région au contact du mésentéroïde comporte essentiellement des cellules épithéliales flagellées mais celles-ci ne sont pas situées sur des expansions et, malgré son analogie avec les cordons latéraux, cette région n'est pas désignée sous le terme de *tractus ciliaire*.

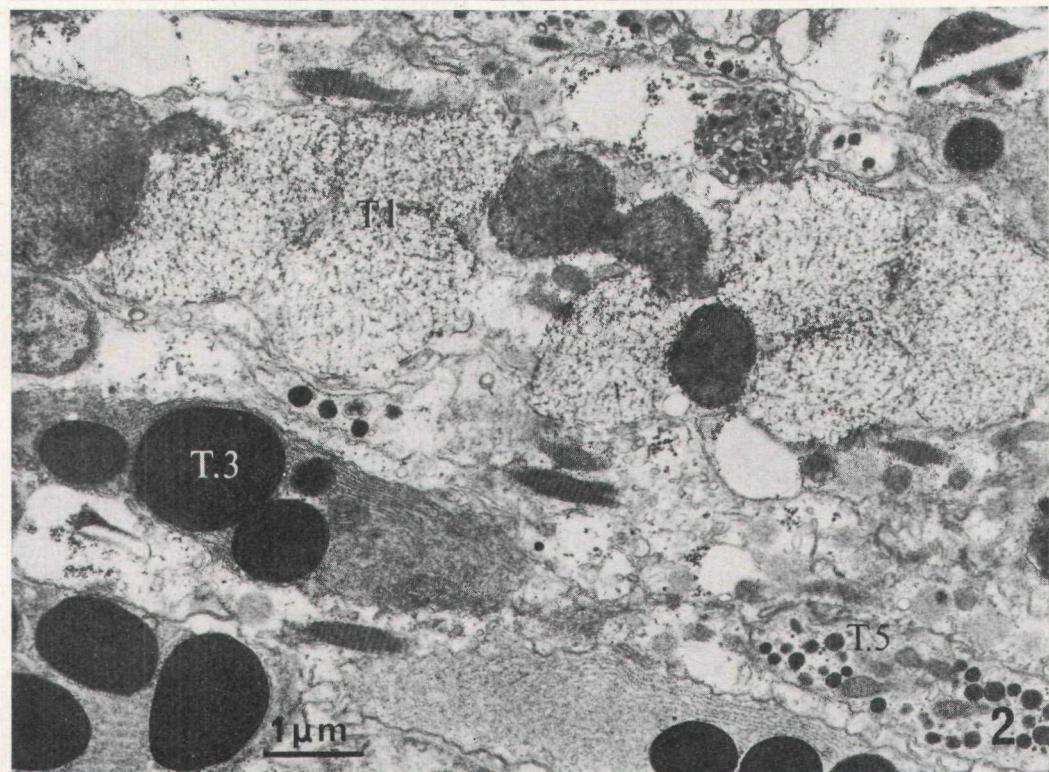
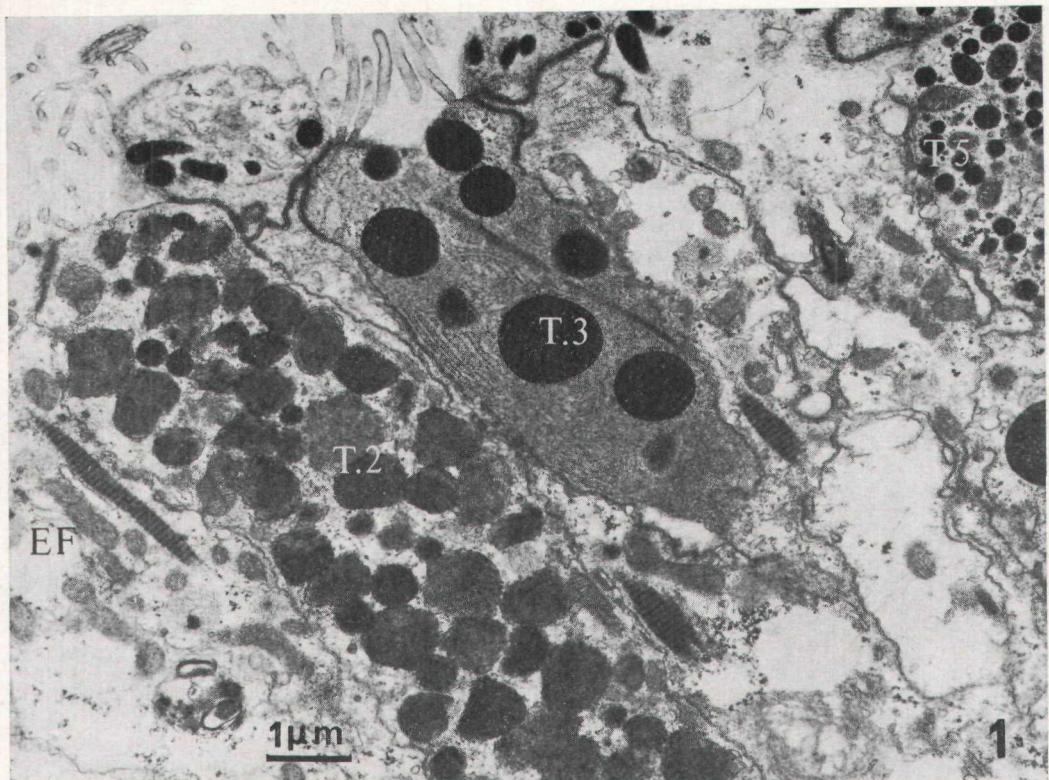
C - Les mésentéroïdes verticaux et réduits à une lamelle d'une dizaine de μm au contact des entéroïdes trilobés, s'épaissent dans leur partie inférieure et au contact de la colonne. Dans leur partie inférieure ils atteignent 180 μm d'épaisseur et font, ainsi que les entéroïdes unilobés, de nombreuses circonvolutions. L'ensemble forme les pelotes mésentériques, blanchâtres, de quelques millimètres de diamètre. Dans les pelotes, les mésentéroïdes sont constitués de cellules phagocytaires et de très peu de cellules glandulaires. Par contre, cette proportion s'inverse dans la partie verticale des cloisons mésentériques qui relient les entéroïdes trilobés et les pelotes mésentériques à la colonne.

II - Caractères hisrochimiques et ultrastructuraux des cellules des mésentères

Nous décrirons successivement les cellules épithéliales flagellées, les nématoctyes, les cinq types de cellules glandulaires, les cellules phagocytaires et celles de la mésoglée. Afin de préciser les caractères cytophysiologiques de ces deux dernières catégories, nous présente-

PLANCHE I *Actinia equina*

-
- 1 - Cellules à zymogène (T.3), sphérulueuse (T.2) et à petits globules (T.5) dans un traetus cnidoglandulaire au niveau inférieur des entéroïdes. EF : épithéliocyte flagellé.
 - 2 - Cellules à zymogène (T.3), spumeuse (T.1) et à petits globules (T.5) au même niveau.



MICHEL VAN PRAËT

PLANCHE I

rons les résultats d'expériences de nutrition particulière dans la partie III. Les résultats histochimiques sont récapitulés sur le tableau 1.

A - Les cellules épithéliales flagellées (Planche I).

Les cellules sont étroites, de la hauteur du feuillet (30 μm). Elles possèdent un flagelle unique entouré de neuf microvilloités. Leur noyau médian occupe le diamètre de la cellule ; à son niveau, seule la longue racine ciliaire qui s'enfonce de 20 à 25 μm est visible dans le cytoplasme. Dans la portion apicale, au-dessus du noyau, le reticulum endoplasmique est développé, les mitochondries sont nombreuses et, immédiatement sous les microvilloités, existent des globules ovoïdes, opaques aux électrons, de 0,2 à 0,4 μm . Sous ces globules apicaux, des microfilaments forment une trame perpendiculaire à l'axe de la cellule. Ces microfilaments relient à travers le cytoplasme les jonctions septées qui existent, à ce niveau, entre les cellules. Dans la portion basale, sous le noyau, existent de nombreux granules denses caractérisés par digestion à l'amylase comme d'abondantes réserves de glycogène.

B - Les nématocystes.

Ils sont de deux types. Il s'agit de *basitriches* dont la capsule élancée a en moyenne 37 μm de hauteur sur 4 à 5 μm de diamètre et de *mastigophores microbasiques* dont la capsule plus renflée a 22 à 25 μm de hauteur sur 5 à 7 μm de diamètre. Leur hampe est colorée en rouge par l'azan et le contenu du cyste en bleu intense dans les basitriches mais peu dans les mastigophores. En microscopie électronique, le contenu des capsules des basitriches est également plus dense que celui des mastigophores. La rétention de nitrate de plomb dans les nématocystes rend non significative la réaction des phosphatases acides de Gomori à leur niveau. Néanmoins, en microscopie électronique, les précipités de plomb sont exclusivement localisés, dans les mastigophores, à leur hampe.

C - Les cellules glandulaires du type 1 ou cellules spumeuses (Planche I, 2).

Elles ont la hauteur du feuillet et leur diamètre atteint une dizaine de μm . Leur sécrétion se compose de granules polyédriques de 1 μm et plus, aux membranes coalescentes. Cette sécrétion volumineuse repousse les organites à la périphérie de la cellule ; les rares mitochondries sont plaquées contre la membrane cellulaire, le noyau est basai. Nous n'avons pas observé de flagelle.

Le contenu fibreux des granules est APS-positif après acétylation-saponification, digestion à l'amylase et, partiellement, après méthylation-saponification. Il est fortement coloré par le réactif de Hale, le bleu alcian à pH 2,5 et métachromatique avec le bleu de toluidine à pH 5,6. Mais il est peu colorable par le bleu alcian à pH 0,5 et la métachromasie avec le bleu de toluidine disparaît à pH 3. Avec la méthode de Ravetto, seule la phtalocyanine à pH 2,5

TABLEAU 1
Réactions histochimiques

	Sécrétion des cellules spumeuses des tractus cnidoglandulaires et du pharynx	Sécrétion des cellules spumeuses des mésentères	Granules des cellules à zymogène	Autres structures positives
1 APS	+	+	—	les bases des cellules flagellées des tractus ciliaires, des cellules phagocytaires endodermiques et certaines inclusions dans les cellules amiboides mésoglionennes
2 acétylation-APS	—	—	—	
3 acétylation-saponification-APS	+	+	—	
4 méthylation-bleu alcian pH 2,5	—	—	—	
5 méthylation-saponification bleu alcian pH 2,5	+	+	—	
6 amylase - APS - bleu alcian pH 2,5	violette	violette	—	les inclusions et les bases des cellules APS + en (1) ne le sont plus après amylase
7 APS - bleu alcian pH 2,5	violette	violette	—	
8 bleu alcian pH 0,5	±	+ à ±	—	
9 Ravetto bleu alcian pH 0,5 jaune alcian pH 2,5	jaune	jaune à verte	—	
10 bleu de toluidine pH 5,6	métachromasie	métachromasie	—	métachromasie des atriches
11 bleu de toluidine pH 3,4	±	métachromasie	—	métachromasie des atriches
12 réaction à l'hydrate de fer de Hale	+	+	—	atriches et rares inclusions des cellules endodermiques
13 tétrazoréaction de Danielli	—	—	+	filament des spirocystes, cellules à grains des atriches

14 alloxane Schiff	—	—	+	idem
15 benzoylation + tétrazoreaction	±	±	—	certains noyaux, en particulier au niveau des tractus ciliaires
16 acide performique + tétrazoreaction	—	—	—	
17 reaction de Lison et Pinheiro au p-DMAB	—	—	+	
18 reaction de Morel et Sisley	—	—	—	très faible au niveau des atriches et des filaments des spirocystes
19 reaction au jaune naphtol-S	—	—	+	majorité des post-phagosomes des tractus réticulaires et cellules phagocytaires, muscles, filaments des spirocystes
20 reaction de Chèvremont et Frédéric	—	—	—	quelques phagosomes des tractus réticulaires et cellules phagocytaires
21 reaction au noir Soudan	—	—	—	globules à la base des cellules phagocytaires et du tractus réticulaire
22 reaction au bleu BZL	—	—	—	idem
23 reaction au sulfate bleu de Nil	—	—	—	coloration en rose, des globules de la base des cellules phagocytaires et du tractus réticulaire
14 fer total	—	—	—	rares inclusions endodermiques
25 reaction de Gomori au glycérophosphate de sodium nitraté de plomb	—	—	—	cellules phagocytaires, nématocystes et faiblement dans les tractus réticulaires en optique
CONCLUSIONS	mucus à polysaccharides acides sans protéines groupement $\text{COOH} > \text{SO}_3\text{H}$	mucus à polysaccharides acides sans protéines groupements COOH et SO_3H	granules protéiques riches en tryptophane et résidus basiques	

le colore. Il ne prend pas les réactifs des protéines, sauf faiblement après benzylation ceux de la tétrazoréaction de Danielli.

Le produit de sécrétion des cellules spumeuses est donc un polysaccharide acide, à groupements « COOH » ; les groupements « SO₃H » y semblent peu abondants. Leur mucus est coloré en bleu par l'azan.

D - Type 2, les cellules sphéruleuses (Planche I, 1).

Elles ont les mêmes affinités tinctoriales que les cellules spumeuses pour les colorants de l'azan. Elles ont des granules de 0,4 à 0,8 µm de diamètre, entourés d'une membrane. Ils sont abondants mais des mitochondries et des ribosomes existent néanmoins entre eux. L'apex de ces cellules est muni de microvillosités et d'un flagelle. Elles ont 4 à 5 µm de diamètre. Elles n'ont été identifiées avec certitude en optique qu'après fixation au glutaraldéhyde-tetroxyde d'osmium, sur des coupes semi-fines désaralditées. Ces techniques limitent leur diagnose histochimique et rendent difficile leur identification exacte.

E - Type 3, les cellules à zymogène (Planche I).

Elles sont caractérisées par un ergastoplasme très développé qui entoure des granules opaques aux électrons de 1 à 2 µm de diamètre, parfois plus. La membrane qui les entoure est plaquée à la sécrétion et n'est visible que sous la forme d'un liseré plus dense. Ces cellules ont un flagelle entouré de microvillosités d'un 1µm de hauteur ; la racine s'enfonce obliquement de quelques µm dans le cytoplasme. Leurs granules sont colorés par les réactions globales des protéines (alloxane Schiff, tétrazoréaction de Danielli), celle au jaune naphtol-S et celle du tryptophane, au pDMAB. La benzylation supprime la réactivité à la tétrazoréaction des granules qui ne prennent ni l'APS, ni la coloration de Morel et Sisley, ni celle de Chèvremont et Frédéric.

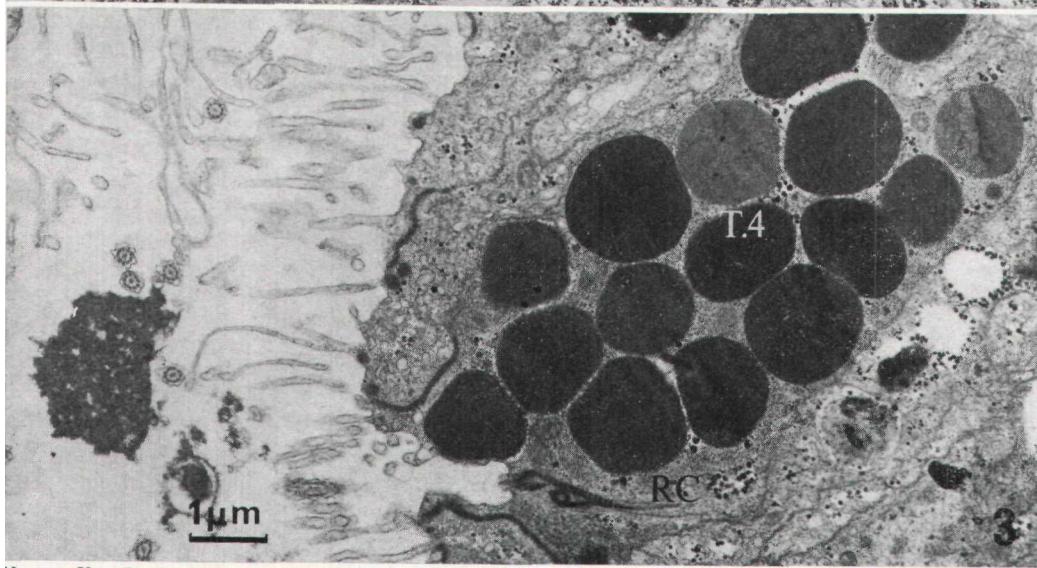
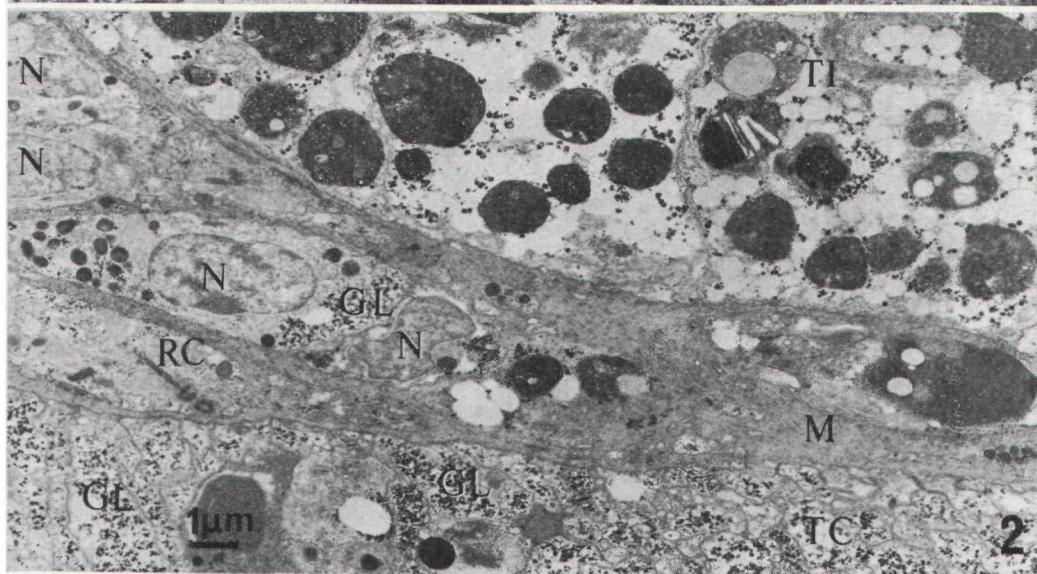
Les granules des cellules à zymogène, abondantes dans la portion inférieure des tractus cnidoglandulaires, sont donc composés de protéines basiques, riches en tryptophane mais pauvres en histidine et en tyrosine.

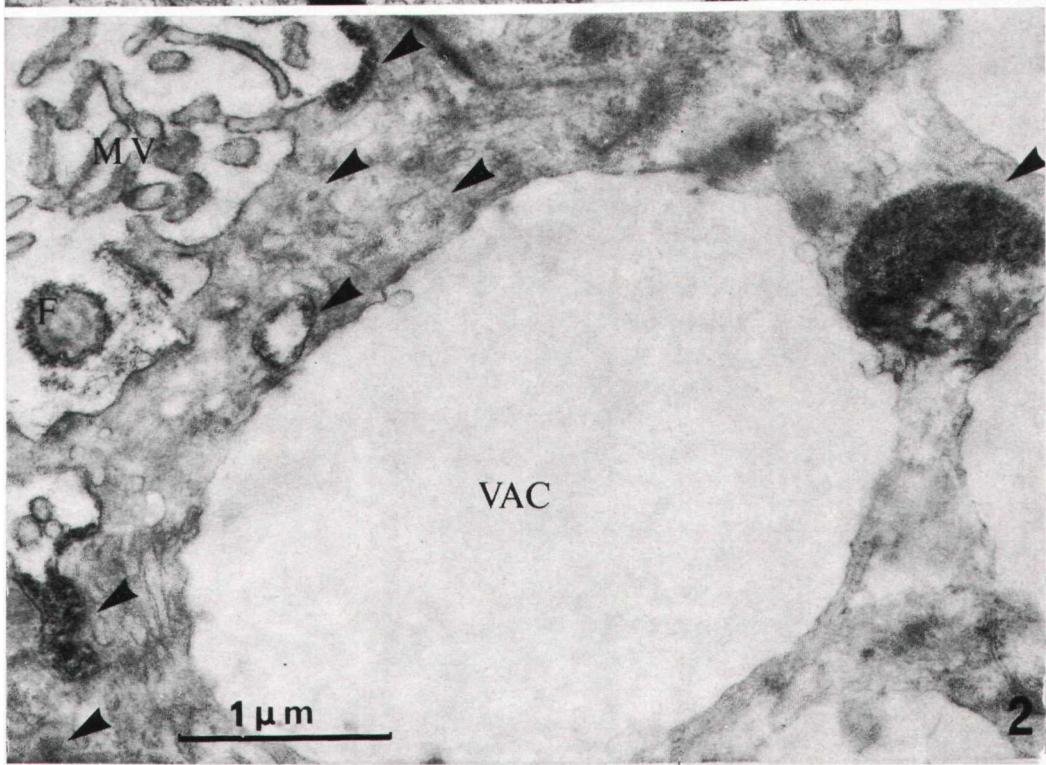
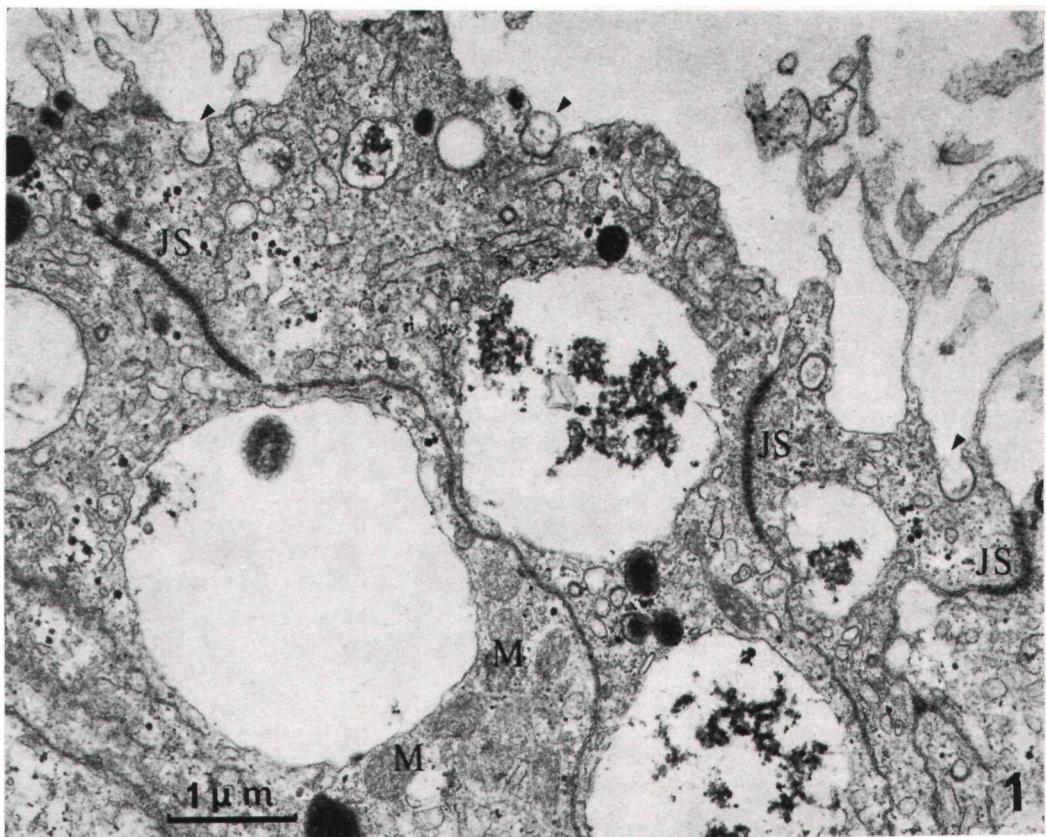
PLANCHE II *Actinia equina*

1 - Au niveau supérieur des entéroïdes, la mésoglée (M) est très développée au centre du cordon médian entre le tractus cnidoglandulaire (TCG) et les tractus intermédiaires (TI). Les nombreuses cellules de la mésoglée ont un ergastoplasme important et leurs appareils de Golgi (G) sécrètent des globules de quelques dixièmes de µm. N. : noyau de cellule de la mésoglée.

2 - Dans les autres parties de la mésoglée (M), ici dans un cordon latéral entre le tractus ciliaire (TC) et le tractus intermédiaire (TI), les cellules de la mésoglée contiennent diverses inclusions dont des globules de 0,4 µm, du glycogène (GL), une racine ciliaire (RC). N. : noyau de cellule amibioïde de la mésoglée.

3 - Cellule glandulaire du type 4 (T.4) dans un mésentéroïde, au niveau des pelotes mésentériques, entre des cellules phagocytaires. RC : racine ciliaire.





F - Les cellules du type 4 (Planche II, 3).

Elles semblent présenter les mêmes caractères histochimiques que celles du type 3. Mais elles en diffèrent par leurs granules **plus** nombreux qui occupent tout le cytoplasme où n'existe que peu ou pas d'ergastoplasme mais quelques rosettes de glycogène. Peu nombreuses dans les tractus cnidoglandulaires, ces cellules semblent constituer la majorité des cellules à granules des mésentéroïdes.

G - Les cellules du type 5 (Planche I).

Ces cellules flagellées sont caractérisées par la présence dans leur cytoplasme de nombreux petits globules de **0,2 à 0,4 µm** entourés d'une membrane. Leur contenu est dense aux électrons. Autour de la racine ciliaire existent aussi de nombreuses mitochondries et des rosettes de glycogène. Leur caractère de cellules glandulaires sera envisagé dans la discussion.

H - Les cellules phagocytaires (Planches II et III).

1) Ces cellules unies entre elles par des jonctions septées, de 1 à 1,5 µm de hauteur, possèdent un flagelle entouré d'une couronne de neuf microvillosités. Leur cytoplasme contient, dans sa portion apicale, de nombreuses vésicules de moins d'un µm en rapport avec le reticulum endoplasmique très développé et l'appareil de Golgi. Plus profondément sont situées une à trois vésicules de 2 à 5 µm, au contenu hétérogène. La réaction cytoenzymologique de Gomori au β -glycérophosphate permet de localiser, dans le reticulum et les vésicules, des phosphatases acides. Ces cellules absorbent expérimentalement l'encre de Chine et la ferritine. On observe celle-ci, en microscopie électronique, successivement, selon le temps d'expérience, dans les petites puis les grosses vésicules. Le contenu hétérogène des grosses vésicules, que nous considérons comme des post-phagosomes (De Duve et Wattiaux, 1966), est coloré par les réactions des protéines et parfois du fer.

La région basale de ces cellules contient d'abondantes gouttelettes lipidiques de 0,4 à 0,8 µm de diamètre, entourées de rosettes de glycogène. Ces lipides sont colorés par le noir Soudan, le bleu BZL et en rose par le sulfate bleu de Nil.

2) Les cellules à vacuole et celles à concrétions situées dans les tractus réticulaires et le feuillet interne du pharynx peuvent être définies par les mêmes critères que ceux qui viennent d'être

PLANCHE III
Actinia equina

1 - Cellules phagocytaires dans un mésentéroïde, au niveau des pelotes mésentériques, unies par des jonctions septées (JS). Les flèches noires soulignent des images d'absorption. M : mitochondrie.

2 - Coupe ultrafine non colorée au niveau supérieur d'un entéroïde. L'individu était, au moment de la fixation, depuis 2 heures dans de l'eau de mer chargée de ferritine (1 mg/ml). Les flèches indiquent les concentrations de granules de ferritine absorbés. F : flagelle, MV : microvillosité, VAC : vacuole de la cellule.

ités. Elles absorbent la ferritine que l'on retrouve dans les vésicules apicales puis plus profondément. Leur base contient également des post-phagosomes et des gouttelettes lipidiques entourées de rosettes de glycogène. Elles ne diffèrent des cellules phagocytaires précédemment décrites que par leur faible teneur en phosphatases acides et par la présence d'une vacuole d'une dizaine de μm de diamètre pour les cellules à vacuoles et l'existence d'inclusions de 0,3 à 1,5 μm , entourées d'une double membrane pour les cellules à concrétions (Van Praët, 1977).

I - Les cellules de la mésoglée (Planche II, 1, 2).

La mésoglée s'étend jusqu'au centre des entéroïdes ; au niveau supérieur, elle s'élargit dans chaque cordon (Fig. 1). Dans le cordon médian où elle a son maximum d'expansion, on peut observer sur les coupes transversales à l'axe de l'entéroïde jusqu'à une trentaine de cellules massées les unes contre les autres. Leur chromatine est condensée contre la membrane nucléaire et forme quelques mottes au centre du noyau. Le cytoplasme réduit a un aspect caractéristique. II contient un ergastoplasme extrêmement développé, sauf à proximité du noyau où existe un dictyosome. Celui-ci élabore des globules denses, opaques aux électrons de 0,3 à 0,6 μm de diamètre (Planche II, 1).

Sur les coupes histologiques on observe, au sein de cet amas de cellules identiques, une ou deux cellules imbriquées, d'aspect différent. Leur cytoplasme plus développé envoie des expansions entre les cellules voisines. Il contient peu d'ergastoplasme mais de nombreux granules ovoïdes, acidophiles, éosinophiles, d'aspect identique en microscopie électronique à ceux élaborés dans les cellules précédemment décrites. On peut parfois y observer une racine ciliaire, des vacuoles au contenu hétérogène, assimilées à des post-phagosomes, des gouttelettes lipidiques et des quantités variables de glycogène. Cette deuxième forme de cellules abonde dans les cordons latéraux et les mésentéroïdes ; elles correspondent aux cellules améboïdes qui existent dans toute la mésoglée mais aussi dans rectoderme et l'endoderme où elles peuvent pénétrer.

En microscopie électronique, on peut toujours distinguer les cellules mésoglénées des bases des cellules épithéliales coupées tangentiellement. Les premières sont en contact intime avec les fibres de collagène tandis que les secondes en sont séparées par une basale claire, fibreuse d'un dixième de μm .

III - Absorption particulaire expérimentale

Les Actinies placées 1 ou 2 heures dans de l'eau de mer chargée d'encre de Chine ou de ferritine absorbent ces particules.

A - L'encre de Chine est très faiblement absorbée par l'ectoderme au niveau de la colonne et des tentacules. Elle l'est, par contre, fortement par les cellules phagocytaires de l'endoderme. Leur marquage par les particules de carbone confirme la présence de ces cel-

lules dans les tractus intermédiaires et, au niveau des pelotes mésentériques, dans les mésentéroïdes. Mais le carbone permet d'en localiser également dans la colonne entre les insertions des mésentères et dans les tentacules. Des particules, en moins grand nombre, sont également visibles entre les vacuoles des tractus réticulaires.

Ces diverses régions restent chargées de carbone plusieurs mois.

B - La ferritine à la concentration d'1 mg/ml est absorbée dans les mêmes zones que l'encre de Chine mais, parfois, avec des intensités différentes.

L'ectoderme semble absorber encore moins la ferritine que l'encre de Chine, sauf au niveau des acrorhages qui l'absorbent fortement.

Pour l'endoderme, c'est dans les entéroïdes trilobés que s'observent les différences. La ferritine a été faiblement absorbée par les cellules phagocytaires des tractus intermédiaires mais fortement par les cellules à vacuole et celles à concrétions des tractus réticulaires (Planche III, 2).

C - Cinétique de l'absorption de la ferritine. Après deux heures, on observe en microscopie électronique des images de pinocytose à l'apex des cellules phagocytaires et de la ferritine dans les plus petites vacuoles, celles de moins d'un μm .

Chez les Actinies placées alors vingt-quatre heures en eau de mer courante, la ferritine ne se trouve plus dans les petites vacuoles apicales des cellules phagocytaires. Elle est située dans celles plus profondes d'un μm et plus.

Après quatre et six jours, la ferritine est localisée exclusivement dans les gros post-phagosomes hétérogènes de 2 à 5 μm . Ceux-ci contiennent, en partie, de la ferritine et, en partie, des amas membranaires. En microscopie optique la réaction de détection du fer confirme ces localisations. La réaction est positive dans la moitié apicale des cellules pendant vingt-quatre heures. Elle s'étend à toute la cellule après quarante-huit heures puis se concentre dans la moitié apicale après quatre à six jours. Elle y est demeurée intensément visible pendant les cinq semaines de l'expérience.

De la ferritine est également visible dans des vésicules de cellules mésoglionennes, chez les individus observés quatre et six jours après l'incubation.

Dans les acrorhages, la localisation du fer effectuée en microscopie photonique permet de suivre l'absorption de la ferritine. La réaction forme une bande bleutée, six jours après l'incubation, à la limite des capsules d'atriches et des cellules à grains. La réaction est également demeurée positive, à ce niveau, pendant les cinq semaines de l'expérience.

IV - Discussion

A - Comparaison des types cellulaires impliqués dans la nutrition. Si les cellules à zymogène (type 3) sont bien caractérisées, la description

et l'appellation des autres types cellulaires varient selon les auteurs ; nous tenterons de la préciser (tableau 2).

1. *Les caractères des cellules à zymogène* (Planche I) furent définis par Rose et Burnett (1968) chez *Hydra viridis*. Les cellules précédemment décrites par Bouillon (1966) chez d'autres Hydriaires, sous le terme de cellules sphéruleuses stomacales, ont les mêmes caractères histochimiques, un ergastoplasmé abondant et paraissent donc homologues. Les cellules à zymogène ont été retrouvées chez *Cerianthus lloydii* par Tiffon et Bouillon (1975) qui ont mis en évidence la forte teneur en tryptophane de leurs inclusions. Ces cellules ont également été observées chez *Zoanthus sociatus* (Trench, 1974), *Bolocera tuedia* (Vader et Lönning, 1975), chez le Scléractiniaire *Hoplangia durotrix* (Van Praët, 1977). Elles existent également chez *Actinia equina* et *Cereus pedunculatus* où nous les avons retrouvées.

Nous avons tiré parti de la différence de densité des cellules à zymogène entre les portions supérieures des entéroïdes, où elles sont rares, et les portions inférieures où elles abondent pour tester les différences d'activité d'extraits de ces deux zones. Le broyat d'entéroïdes trilobés très pauvre en cellules à zymogène n'agit pas sur les substrats N-benzoyl-DL-arginine-2-naphtylamide et N-benzoyl-DL-phénylalanine-2-naphtylamide, contrairement à celui des pelotes mésentériques avec lequel on obtient une réaction positive, après quatre heures d'incubation à 37° C qui y révèle la présence d'enzymes proches de la trypsine et la chimotrypsine.

Ces réactions, la richesse en tryptophane et le caractère basique (révélé par le jaune Naphtol-S) des granules des cellules à zymogène nous font admettre qu'elles sécrètent les protéases bien caractérisées par Coan et Travis (1970) chez *Renilla reniformis*. Ces auteurs ont précisé les données fournies par les précédentes recherches (Krijgman et Talbot, 1953 ; Gibson et Dixon, 1969) et défini ces enzymes, instables en raison de leur grand nombre de résidus aminés basiques, comme homologues de la trypsine et de la chimotrypsine des Mammifères.

Les cellules à zymogène (type 3) existent chez les Hydriaires, les Octocoralliaires, les Zoanthaires, les Cérianthaires, les Scléractiniaires et les Actinaires. Leurs sécrétions enzymatiques sont responsables de la digestion extracellulaire, de contact, des Cnidaires.

2. *Les cellules spumeuses à mucus* (Planche I, 2) ont été également définies ultrastructurallement par Bouillon (1966) puis par Rose et Burnett (1968) qui ont mis en évidence l'importance de la fixation et de la coloration sur l'aspect de leur mucus. Ces cellules correspondent à la description du type II de Vader et Lönning (1975) et à la figure 7 attribuée au type I par ces auteurs. Leur discussion révèle une possible confusion des deux types. Nous considérons que ces cellules (type 1) se définissent ultrastructurallement par la possession de granules de 1 µm et plus, au contenu fibreux, dont les membranes peuvent être plus ou moins coalescentes et par l'abondance de leur sécrétion qui repousse à la périphérie les organites cellulaires. D'autre part, l'histochimie permet de distinguer

des sécrétions d'acidités diverses là où la microscopie électronique ne révèle pas de différence. La coloration de Ravetto permet ainsi de caractériser le mucus des cellules spumeuses des mésentéroïdes comme plus acide que celui des cellules spumeuses des entéroïdes et de l'ectoderme.

A ces variations locales s'en ajoutent de spécifiques qui expliquent les données différentes rapportées par Bouillon (1966) et Rose et Burnett (1968). Même entre deux espèces d'Actinaires de telles variations existent, par exemple les sécrétions des cellules spumeuses ectodermiques de *Cereus pedunculatus* sont plus acides que celles d'*Actinia equina*.

TABLEAU 2
Synonymie des types cellulaires glandulaires

Rose et Burnett, 1968 <i>Hydra viridis</i>	Vader et Lönnig, 1975 Bolocera tuedia	Nomenclature de l'article <i>Actinia equina</i>
Spumous mucous cells	type II	cellules spumeuses type 1
Granular mucous cells	type I	cellules sphéruleuses type 2
	type III	cellules à zymogène type 3
	type IV	type 4
Other cells : < Paneth cells >	neurosecretory cells	type 5

Les cellules spumeuses (type 1) sont donc chez les Cnidaires des cellules à polysaccharides acides, ayant des groupements « COOH » et « SO₃H » en proportions variables. Ce mucus est toujours pauvre en protéines. Bouillon (1966) met cette pauvreté en rapport avec le faible développement de l'ergastoplasme dans ces cellules, ce qui les différencie des cellules à mucus des Vertébrés.

Chez d'autres Anthozoaires, Di Salvo (1971) et Tiffon et Boutinnes (1976) considèrent que les particules, dont les bactéries, adhèrent au mucus et que l'ensemble mucus et particules est phagocyté. Chez les Actinies, la forte concentration de cellules spumeuses dans l'ectoderme, le pharynx et la portion supérieure des entéroïdes peut également permettre un tel rôle de transit du mucus. Mais il participe également à la lubrification et au nettoyage des épithéliums ; ainsi, le lendemain de la prise d'une proie, les résidus non phagocytés sont rejetés sous forme d'une pelote fécale enrobée de mucus.

Les colorations polychromes mettent en évidence d'autres types cellulaires. En microscopie électronique, tous les auteurs ont mentionné la diversité des cellules glandulaires (tableau 2). Rose et Burnett (1968) décrivent en plus des cellules à zymogène et spumeuses des « granular mucous cells » et des « other cells ». Vader et Lönnig (1975) définissent quatre types. La transposition des observations effectuées en microscopie optique à celles faites en

microscopie électronique est rendue difficile du fait de l'influence des fixations sur l'aspect des sécrétions et du peu de différence de diamètre des granules. Notre diagnose des types 2 et 4 est donc réduite aux caractères ultrastructuraux.

3. *Le type 2* (Planche I). Ces cellules, qui contiennent de nombreux granules de moins de 0,8 µm, répondent aux critères des « granular mucous cells » de Rose et Burnett (1968) qui ont montré leur affinité avec les cellules à mucus spumeuses. Elles correspondent au type 1 de Vader et Lönning (1975) et aux figures 5 et 6 qui s'y rattachent (mais la figure 7 qui lui est aussi attribuée pourrait être celle d'une cellule spumeuse). Ces auteurs les assimilent aux cellules sphéruleuses de Bouillon (1966). Nous en avons donc gardé le terme bien que, parmi les trois catégories de cellules sphéruleuses définies par cet auteur, celles dites « stomacales » correspondent, d'après leurs caractères histochimiques et l'abondance de leur ergastoplasme, à ce que tous les auteurs appellent à présent des cellules à zymogène. Les cellules « sphéruleuses endodermiques hypostomiales » pourraient être les homologues du type 2. D'après Bouillon, elles élaborent des polysaccharides acides et des protéases et participent donc à la digestion extracellulaire.

4. *Le type 4* (Planche II, 3) présente lui des affinités avec les cellules à zymogène du type 3 ; Vader et Lönning écrivent "The secretory granules in type IV cells are structurally practically indistinguishable from those in type III cells". Ces cellules du type 4, peu abondantes dans les tractus cnidoglandulaires, constituent selon nous, avec les cellules spumeuses, la majorité des cellules glandulaires mésentéroïdes. Aucune réaction histochimique des protéines, y compris celle au pDMAB du tryptophane, ne nous a permis de les différencier des cellules à zymogène du type 3. Il pourrait s'agir de deux stades de maturation des cellules à zymogène. L'ergastoplasme régresserait, selon cette hypothèse, dans les cellules chargées de sécrétion. Pour tenir compte néanmoins de leur spécificité ultrastructurale (faible ergastoplasme et granules plus nombreux) et de leur localisation différente, nous conservons la notion des deux types, 3 et 4, des précédents auteurs.

5. *Le type 5* (Planche I). Ces cellules flagellées à nombreux petits globules denses de 0,2 à 0,4 µm, visibles dans les tractus cnidoglandulaires, diffèrent des cellules à grains des acrorhages, par la taille inférieure de leurs inclusions. Vader et Lönning qui les avaient observées chez *Bolocera tuedia* se réfèrent à Davis (1972) pour leur attribuer une fonction neuro-glandulaire. Rien ne nous permet de confirmer cette fonction ; par contre, l'aspect et la taille de leurs globules les rapprochent des cellules amiboïdes de la mésoglée.

6. *Les cellules de la mésoglée* (Planche II). L'amas de cellules dans le cordon central des entéroïdes trilobés est constitué de cellules dont le cytoplasme réduit est occupé par un ergastoplasme abondant, sauf à proximité du noyau, où un dictyosome sécrète quelques globules denses de 0,2 à 0,5 µm. Nous considérons cet amas de cellules comme une réserve de cellules amiboïdes en maturation,

à proximité des réserves glycolipidiques des cellules des tractus intermédiaires et réticulaires. Lorsqu'on observe la mésoglée des autres zones des entéroïdes, des mésentéroïdes et de la colonne, on y voit des cellules à des états différents. Les unes ont encore un ergastoplasme important mais davantage de globules acidophiles ; les autres n'ont pratiquement pas d'ergastoplasme mais des globules, des granules de glycogène et, parfois, des inclusions phagosomes.

Certaines images de cellules à zymogène en formation à la base du tractus cnidoglandulaire des entéroïdes supérieurs présentent également une analogie ultrastructurale avec les cellules mésoglénées amassées à proximité qui constituent, peut-être, une réserve de cellules aux potentialités assez vastes, capables de fournir des cellules amiboïdes mais aussi des cellules glandulaires.

B - Absorption et transfert des substances. Les travaux de Chia (1972) et de Schlichter (1974, 1975) ont montré l'importance de l'absorption du glucose et des acides aminés dissous par l'ectoderme. Des observations personnelles avec des hydrolysats de Chlorelles marquées au carbone 14 (acides aminés et glucides aminés) confirment ces données. La faiblesse de l'absorption endodermique ne provient pas d'une impossibilité mais correspond à un processus physiologique car les pelotes mésentériques isolées, incubées révèlent une forte incorporation. Mais celle-ci a lieu davantage au niveau des tractus cnidoglandulaires que des mésentéroïdes dont les cellules phagocytaires semblent absorber peu les substances de la taille d'un acide aminé (Van Praët, à paraître).

Les particules et les fragments de proies libérés par la digestion extracellulaire sont au contraire essentiellement absorbés par les cellules phagocytaires de l'endoderme.

L'absorption plus faible de ferritine que d'encre de Chine au niveau des tractus intermédiaires n'a pas été expliquée par l'étude ultrastructurale. Cette différence peut révéler une circulation d'eau réduite ou variable à ce niveau car les cordons médian et latéraux sont étroitement accolés (Fig. 1) et les tractus ciliaires créent des courants d'eau qui vont directement au tractus cnidoglandulaire.

L'absorption de ferritine par les cellules à vacuoles et celles à concrétions des tractus réticulaires, la présence de post-phagosomes et de réserves glycolipidiques à leur base, sans permettre de préciser leur rôle dans les processus d'excration (Mouchet, 1929, 1930 ; Van Praët, 1977), montrent leur affinité avec les cellules phagocytaires.

Le passage d'acides aminés radioactifs ou de produits métabolisés d'origine ectodermique dans les cellules amiboïdes de la mésoglée (Doumenc, 1977), de ferritine d'origine endodermique, la présence parfois de phagosomes et de glycogène et leur mobilisation lors des phénomènes de régénération (Van Praët, 1974 ; Van Praët et Doumenc, 1975) nous font considérer que ces cellules sont capables de transférer des éléments nutritifs et des déchets entre les diverses régions de l'Actinie. Ces problèmes de transfert se posent de façon particulière chez les Actinaires. Les cellules mésoglénées sont absentes ou rares chez les Scléractiniaires ; mais les individus sont souvent, au sein de la colonie, de petite taille et leur mésoglée est

réduite à quelques dixièmes de μm au niveau de la colonne. Lorsqu'elle atteint le μm , des contacts sont établis de part et d'autre par des expansions cellulaires (Van Praët, 1977) comparables à celles qui existent chez les *Hydriantes* (Bonnefoy et Kolenkine, 1975).

Chez les *Actinaires*, les individus isolés ont acquis une taille importante et leur mésoglée est épaisse. De plus, il existe au niveau supérieur des entéroïdes et du pharynx, des zones considérées comme spécialisées dans l'excrétion (Mouchet, 1929, 1930 ; Van Praët, 1977) qui ne se rencontrent pas chez les *Scléractiniaires*.

Tout cela pose, chez les *Actinaires*, des problèmes de transfert que les processus de diffusion de cellule à cellule et au travers de la mésoglée ne suffisent pas à résoudre et qui pourraient avoir été améliorés par la présence de nombreuses cellules amiboïdes dans la mésoglée.

CONCLUSIONS

La proportion des divers types cellulaires diffère entre la portion supérieure des entéroïdes, qui descend du pharynx, et la portion inférieure, y compris dans la région désignée sous le terme commun de *tractus cnidoglandulaire*.

Au niveau supérieur, ce *tractus* qui a, comme le pharynx, une fonction de transit, est essentiellement composé de cellules épithéliales flagellées et de cellules à mucus spumeuses. Au niveau inférieur, dans les pelotes mésentériques qui assurent la fonction digestive, ce sont les cellules à zymogène qui sont les plus nombreuses. Les cellules glandulaires impliquées dans la digestion sont de quatre types.

Type 1. Les cellules spumeuses à mucus ont des inclusions de 1 μm et plus, composées de polysaccharides acides et dépourvues de protéines aux membranes plus ou moins coalescentes.

Type 2. Les cellules sphéruleuses à mucus ont des inclusions de 0,4 à 0,8 μm de diamètre qui contiendraient des polysaccharides acides et des protéases.

Type 3. Les cellules à zymogène ont un ergastoplasme abondant. Leurs granules de 1 à 2 μm sont constitués de protéines basiques riches en tryptophane dont certaines sont des enzymes homologues à la trypsine et la chymotrypsine des *Mammifères*.

Type 4. Ces cellules proches de celles du type 3 contiennent également des granules protéiques.

Il existe un cinquième type de cellules, mais la nature de leurs nombreux petits globules de 0,2 à 0,4 μm n'a pas été déterminée.

Les nématocystes qui fixent les proies et permettent ainsi la digestion de contact, indispensables du fait de l'instabilité des enzymes des cellules à zymogène, sont de deux types. Ce sont des mastigophores microbasiques et des basitriches.

La digestion s'achève dans les cellules phagocytaires situées dans les mésentéroïdes au niveau des pelotes mésentériques et de l'endoderme de la colonne et des tentacules. Ces cellules accumulent à leur base des réserves sous forme de globules lipidiques entourés de rosettes de glycogène et semblent conserver plusieurs mois les déchets non assimilés.

Les nombreuses cellules amiboïdes mésogléennes pourraient faciliter le transfert des éléments nutritifs et des déchets entre les diverses régions de l'Actinie. Un amas de cellules mésogléennes, en maturation, a été mis en évidence au niveau supérieur des entéroïdes.

Summary

Histochemical and ultrastructural study of the digestive parts of *Actinia equina* L. (Cnidaria, Actiniaria)

Using techniques of histochemistry and electron microscopy, the cells of the digestive parts of mesenteries are described. The five types of glandular cells are compared with homologous cells of other Cnidarians.

The distribution of the different kinds of cells in the mesenteries of Actinians constitutes three specialized parts. The flagellar epithelial cells and the mucus of spumous cells of the throat and the upper portion of the mesenterial filaments facilitate the transit of prey. The secretions of the zymogen cells of the lower portion of the mesenterial filaments ensure the extracellular digestion. The final intracellular digestion takes place in phagocytic cells which are abundant in the convoluted portion of the mesenteroids. The food carrying capacity of the numerous amoeboid mesoglean cells of the Actinians is discussed.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BONNEFOY, A.M. et KOLENKINE, x., 1975. — Ultrastructure et signification des « corps tubulaires » et « particules » de la mésoglée chez les Hydres. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 280, pp. 2673-2676.
- BOUILLON, J., 1966. — Les cellules glandulaires des Hydroïdes et Hydroméduses. Leur structure et la nature de leurs sécrétions. *Cah. Biol. Mar.*, 7, pp. 157-206.
- CHIA, P.S., 1972. — Note on the assimilation of glucose and glycine from seawater by the embryos of the sea-anemone, *Actinia equina*. *Can. J. Zool.*, 50 (10), pp. 1333-1334.
- COAN, M.H. et TRAVIS, J., 1970. — Comparative biochemistry of proteases from a Coelenterate. *Comp. Biochem. Physiol.*, 32, pp. 127-139.
- DAVIS, L.E., 1972. — Ultrastructural evidence for the presence of nerve cells in the gastrodermis of *Hydra*. *Z. Zellforsch. Anat.*, 123, pp. 1-17.
- DE DUVE, C. et WATTIAUX, B., 1966. — Functions of lysosomes. *Ann. Rev. Physiol.*, 28, pp. 435-492.
- DI SALVO, L.M., 1971. — Ingestion and assimilation of bacteria by two Scleractinian coral species. In *Experimental Coelenterate Biology*, ed. by Lenhoff H.M., L. Muscatine and L.V. Davis. University of Hawai'i Press, Honolulu, pp. 129-136.
- DOUMENC, D.A., 1977. — Etude dynamique de la morphogenèse au cours des phases actinella et edwardsia de l'actinie *Cereus pedunculatus* Pennant. *Arch. Zool. exp. gén.*, 118 (1), pp. 79-102.
- GIBSON, D. et DIXON, G.H., 1969. — Chymotrypsin like protease from the sea anemone *Metridium senile*. *Nature*, London, 222, pp. 753-756.
- GRIMSTONE, A.V., HORNE, R.W., PANTIN, C.F.A. et ROBSON, E.A., 1958. — The fine structure of the mesenteries of the sea-anemone, *Metridium senile*. *Q.J. Microsc. Sc.*, 99, pp. 523-549.

- JEUNIAUX, c, 1962. — Digestion de la chitine chez les Actinaires. *Cah. Biol. Mar.*, 3, pp. 391-400.
- KRIJGSMAN, B.J. et P.H. TALBOT, 1953. — Experiments of digestion in sea anemones. *Arch. Int. Physiol.*, 61, pp. 277-291.
- METSCHNIKOFF, E., 1880. — Über die intracelluläre Verdaung bei Coelenteraten. *Zoolog. Anzeiger*, 3, pp. 261-263.
- MOUCHET, s., 1929. — Présence de xanthine chez les actinies. *Bull. Soc. Zool. France*, 54, pp. 345-350.
- MOUCHET, s., 1930. — L'excrétion chez les actinies. Publications de la « Station océanographique de Salammbô », Notes, n° 15.
- MUHDOCK, G.R. et LENHOFF, H.M., 1968. — Alcohol soluble proteins ; their formation and assimilation during intracellular digestion in *Hydra littoralia* and *Aiptasia*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 26, pp. 963-970.
- NICOL, J.A., 1959. — Digestion in sea anemones. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 38, pp. 469-476.
- ROSE, P.G. et BURNETT, A.L., 1968. — An electron microscopic and histochemical study of the secretory cells in *Udora vididis*. *Arch. Entw. Mech. Org.*, 161, pp. 281-297.
- SCHLICHTEB, D., 1974. — Aufnahme in Meerwasser gelöster Aminosäuren durch *Anemonia sulcata* P. Das unetterschiedliche Resorptionsvermögen von Ekto- und Endoderm. *Z. Morphol. Okol. Tiere Dtsch.*, 79 (1), pp. 65-74.
- SCHLICHTER, D., 1975. — The importance of dissolved organic compounds in sea water for the nutrition of *Anemonia sulcata* Pennant (Coelenterata). *Proc. 9th Europ. mar. Biol. Symp.*, 1975, pp. 395-405.
- TIFFON, Y. et BOUILLON, J., 1975. — Digestion extracellulaire dans la cavité gastrique de *Cerianthus lloydii* Gosse. Structure du gastroderme ; localisation et propriétés des enzymes protéolytiques. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 18, pp. 255-269.
- TIFFON, Y. et BOUTIBONNES, p., 1976. — Nutrition particulière expérimentale de l'Anthozoaire *Cerianthus lloydii*. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 282, pp. 1629-1632.
- TRENCH, R.K., 1974. — Nutritional potentials in *Zoanthus sociatus*. *Helgoländer wiss. Meeresunster*, 26, pp. 174-216.
- VADER, w. et LÖNNING, s., 1975. — The ultrastructure of the mesenterial filaments of the sea anemone, *Bolocera tuedia*. *Sarsia*, 58, pp. 79-88.
- VAN PRAËT, M., 1974. — Régénération de la région péri-orale d'*Actinia equina* L. Thèse 3^e cycle, Université Paris VI.
- VAN PRAËT, M., 1976. — Les activités phosphatasiques acides chez *Actinia equina* L. et *Cereus pedunculatus* P. *Bull. Soc. Zool. France*, 101 (3), pp. 367-376.
- VAN PRAËT, M., 1977. — Les cellules à concrétions d'*Actinia equina* h. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 285, pp. 45-48.
- VAN PRAËT, M., 1977. — Etude histocytologique d'*Hoplangia durotrix* Gosse (Anthozoa, Scleractinia). *Ann. Sc. Nat., Zool., Paris* (à paraître).
- VAN PRAËT, M. et DOUMENC, D., 1975. — Morphologie et morphogenèse expérimentale du tentacule chez *Actinia equina* L. *J. Microscopie Biol. Cell.*, 23, pp. 29-38.
- YAMAO, Y. et MAKINO, N., 1954. — Histochemistry and biochemistry of sea anemones. 2. Histochemical distribution of the acid and alkaline glycerophosphatasases. *J. Coll. Arts Sc. Chiba University*, 1 (3), pp. 181-183.