

Sur la présence de quelques types cellulaires dans l'hémolymphe d'*Araneus diadematus*

GUADALUPE GONZALEZ-BASCHWITZ¹

Résumé

Suspendus dans l'hémolymphe d'*Araneus diadematus* CLERCK, ou directement baignés par elle, on a différencié, les suivants types cellulaires: hémocytes vésiculeux, hémocytes à granules homogènes, hémocytes à granules cristallins, hémocytes hyalins, néphrocytes, cellules reticulaires et cellules fibreuses.

Ces types cellulaires son étudiés et observés aussi en microscopie électronique à balayage. Au même temps on fait une étude quantitative sur leurs respectives proportions. On présente aussi une analyse plus précis sur leur possible evolution et interrélations.

Resumen

Suspendidos en la hemolinfa de *Araneus diadematus* CLERCK, o directamente bañados por ella, se han diferenciado los siguientes tipos celulares: hemocitos vesiculares, hemocitos de gránulos homogéneos, hemocitos de gránulos cristalinos, hemocitos hialinos, nefrocitos, células reticulares y células fibrosas.

Todos ellos son estudiados y analizados con el microscopio electrónico de barrido. Al mismo tiempo se hace un estudio cuantitativo sobre sus respectivas proporciones. Se expone también un análisis más preciso sobre su posible evolución e interrelaciones.

Summary

Suspended in the haemolymph of *Araneus diadematus* CLERCK, or directly bathed by it, the following cellular types are differentiated: vesicular haemocits, homogeneous granules haemocits, cristalins granules haemocits, hyalin haemocits, nephrocits, reticular cells and fibrous cells.

All these cellular types, were studied with the scanning electron microscope. At the same time, a quantitative study, was made. Their respective proportions and a more precise analysis dealing with their possible evolution and interrelation, is given.

INTRODUCTION

Ce travail a pour but de dénombrer et décrire différents types d'hémocytes trouvés dans l'hémolymphe d'*Araneus diadematus* CLERCK (Araneae, Argoipidae) ainsi que d'autres types cellulaires, même s'ils ne sont pas considérés spécifiquement comme des cellules sanguines, car ces cellules sont baignées directement par l'hémolymphe et s'y rencontrent typiquement en suspension.

Chez les Aranéides les espaces de la cavité du corps qui restent libres après le développement des différents organes, sont occupés par le tissu sanguin. L'hémolymphe occupe les lacunes sanguines et baigne intérieurement tous les organes; en suspension se trouvent divers types d'hémocytes. Les

(1) Universidad de Oviedo. Facultad de Ciencias. Departamento de Zoología. Oviedo.

recherches réalisées sur le tissu sanguin sont assez rares et la plupart de vieille date, nous pouvons citer M. KOLLMAN (1908) et J. MILLOT (1926). Après cette date seulement K. A. SEITZ (1972 a et b) s'intéresse à ce sujet. Cet auteur a étudié les hémocytes et le coeur dans l'opisthosoma de *Cupiennius sale* Keys, appartenant à la famille des Ctenidae. Dans ce travail nous signalons la présence de plusieurs types morphologiques d'hémocytes dans le prosome d'individus adultes de l'espèce *Araneus diadematus*, famille Argiopidae, en constatant certaines homologues et différences avec les données acquises par ailleurs.

Nous devons indiquer que dans certaines zones de la cavité du corps existent des ensembles de cellules pelotonnées, qui forment un véritable tissu réticulaire. Ce tissu est constitué, principalement, par un type de grandes cellules intersticielles qui se trouvent lâchement anastomosées. Nous avons retrouvé ce même type cellulaire, circulant librement dans l'hémolymphe; dans les deux cas ces cellules sont toujours en contact directe avec l'hémolymphe.

Englobés dans ces ensembles cellulaires intersticiels on rencontre fréquemment des néphrocytes, cellules fibreuses, et tous les types d'hémocytes sanguins qui forment, dans ces cas, un véritable tissu de remplissage mixte.

On peut trouver ces catégories cellulaires isolées flottant dans le liquide sanguin. Ainsi, nous les avons vues dans l'hémolymphe qui remplit les pièces buccales, gnathocoxes et, en général, toutes les cavités du corps, parmi les muscles et différents organes. Nous signalons leur présence et nous donnons ici, une brève description de toutes ces différentes cellules.

MATERIEL ET TECHNIQUES

Nous avons utilisé pour la réalisation de cette étude, des céphalothorax d'exemplaires adultes de l'espèce *Araneus diadematus* CLERCK (Araneae, Argiopidae).

En suivant le procédé habituel, nous avons utilisé les suivantes méthodes de fixation: 1) formaldéhyde à 4 % en solution tamponnée Millonig, 2) glutaraldéhyde à 5 % en solution Millonig pendant un temps compris entre 4 et 6 heures à 4 °C. Puis, les pièces sont conservées dans une solution de sucrose à 6,84 % dans la même solution tamponnée.

Les pièces ont été imprégnées par le tétr oxyde d'ormium à 4 % et contrastées par l'acétate d'uranyle à 2 %. Après une forte déshydratation, elles ont été incluses à l'araldite (Durcupan ACM). Les sections ultrafines ont été pratiquées à l'ultramicrotome LKB. Les coupes ont été observés et photographiés à l'aide du microscope électronique Philips EM-300.

RESULTATS

En suspension dans l'hémolymphe ou baignées par elle, nous avons caractérisé dans le céphalothorax d'*Araneus diadematus*, au moins, sept types cellulaires différents. Voilà ceux-ci: plusieurs types d'hémocytes sanguins (hémocytes vésiculeux, deux types d'hémocytes granuleux et hémocytes hyalins), néphrocytes, cellules réticulaires, et cellules fibreuses. La figure 1 nous of-

fre un panorama général du tissu sanguin remplissant une lame maxillaire, nous pouvons y observer quelques-uns des types cellulaires cités.

HÉMOCYTES VÉSICULEUX. Ce sont des cellules relativement petites, environs 7μ de diamètre, arrondies au repos, mais qui peuvent émettre des pseudopodes quand elles sont isolées. Sont localisées, soit en suspension dans l'hémolymph, soit englobées dans des ensembles de cellules réticulaires ou de néphrocytes, ou tout simplement en alternance avec d'autres hémocytes dans des agglomérats de cellules sanguines. La figure 2 nous montre un groupe d'hémocytes vésiculeux entourant un grand hémocyte hyalin.

Ce type cellulaire se caractérise par l'aspect peu dense et vésiculaire de son cytoplasme, dans lequel on peut remarquer une abondance de vésicules sphériques, un réticulum endoplasmique granulaire et des mitochondries sphériques, qui contribuent à lui donner sa texture caractéristique (fig. 3).

Ces hémocytes vésiculeux possèdent aussi quelques granules denses (figure 3). Quand ces granules sont en grand nombre, les autres organites diminuent, nous sommes alors devant des types morphologiques intermédiaires entre les hémocytes vésiculeux et les hémocytes granuleux que nous étudierons après. Entre ces deux types cellulaires tous les états intermédiaires existent. Il est très probable, que ces deux types cellulaires soient apparentés et que les seconds proviennent de la transformation progressive des premiers, après synthèse et accumulation de réserves.

HÉMOCYTES GRANULEUX À GRANULES HOMOGÈNES. Parmi les hémocytes granuleux, le plus fréquent est le type à granules homogènes (fig. 4). On les rencontre, libres dans l'hémolymph ou bien mélangés aux cellules sanguines et interstitielles. Quand ils sont libres dans le courant sanguin, ces hémocytes peuvent présenter des formes amiboïdes avec de gros pseudopodes, ils présentent alors un système de locomotion propre du type amiboïde. Ils mesurent entre 8 et 12μ .

Le noyau est à peu près central, sans aucune différenciation particulière. Le cytoplasme est très transparent. On y remarque le réticulum endoplasmique, quelques vésicules et mitochondries, mais il est caractérisé par la présence de granules, de $0,5$ à 1μ de diamètre, lesquels se répartissent dans la totalité du volume cytoplasmique. Leur contenu est dense et homogène sans trace d'organisation interne ou de cristallisation. Nous croyons qu'il s'agit de réserves de substances lipopides. Dans ce cas les hémocytes granuleux exerceraient leurs fonctions comme réservoir de ces substances.

HÉMOCYTES À GRANULES CRISTALLINS. Ce second type d'hémocytes granuleux est plus rare que le premier, et, en général, un peu plus petit (fig. 5).

Le noyau peut présenter une forme très irrégulière et un caryoplasme très dense. Le cytoplasme est presque complètement occupé par des gros granules d'accumulation à structure cristalline; on y trouve aussi quelques mitochondries, un réticulum et des vésicules.

Dans une même cellule existe toute une gamme quant au nombre et dimensions des granules. Les petits ressemblent à denses gouttes de $0,25 \mu$ de diamètre; les plus grands ont $1,5 \mu$, leur forme peut être polyédrique-arrondie, mais pas obligatoirement sphérique. Lorsque leur opacité diminue on peut

voir clairement la disposition cristalline de sont contenu en couches concentriques. Parmi les deux extrêmes il existe tous les états intermédiaires, et on peut supposer qu'ils correspondent aux étapes successives de l'accumulation des cristaux.

Le processus serait: d'abord le granule très petit et dense pour aboutir enfin au plus grand et moins dense, par suite d'une hydratation progressive du granule de départ.

Ces hémocytes contiennent des granules de nature protéinique, comme semble le montrer l'aspect cristalin inégal mais dont nous ne connaissons pas la nature véritable.

HÉMOCYTES HYALINS. Un quatrième type est constitué par les hémocytes halins, qui sont appelés ainsi à cause de l'homogénéité générale de leur cytoplasme. Ce sont les plus abondants. Dans certains cas ils représentent 50 % ou même plus, des globules sanguins. En état de repos, leur forme est sphérique ou ovoïde. Parfois nous avons vu la membrane cytoplasmique apparaître déformée par de petits pseudopodes courts et gros. Il semble assez clair que ces cellules sont douées de mouvements amiboïdes propres qui leur permettent de se déplacer dans le plasma. Leur diamètre peut atteindre jusqu'à $12\ \mu$ (fig. 6).

Le noyau d'un hémocyte hyalin mesure de 3 à $4\ \mu$ et il est placé toujours excentriquement sur un côté de la cellule. Les masses chromatiques adhèrent à la membrane nucléaire et il y a, au moins, un grand nucléole central très caractéristique. Les deux feuilles de la double membrane nucléaire sont fréquemment séparées, entourant le noyau dans un étroit saccule de basse densité.

Dans le cytoplasme il y a une grande partie moins dense, de texture homogène, qui, semblable à une grande goutte, déplace le noyau, les autres organites et le cytoplasme, qui reste vers la périphérie (fig. 6). Il ne s'agit pas d'une vacuole, car elle n'est pas délimitée par aucune membrane. Le reste du cytoplasme est, en principe, uniformément dense et seulement avec un grossissement suffisant est visible une fine granulation (fig. 7). Chacune de ces particules denses ne mesure pas plus de 150 Å. Par leur taille et leur aspect morphologique elles pourraient être des ribosomes. Le chondriome est situé dans les zones denses et granuleuses du cytoplasme. Les mitochondries sont généralement sphériques et avec des crêtes digitiformes. Le réticulum est peu développé et ses saccules sont aussi à la périphérie des cellules.

NÉPHROCYTES. En suspension dans le liquide sanguin on remarque aussi la présence de néphrocytes. Les néphrocytes se trouvent dans la plupart des interstices céphalothoraciques, mais surtout dans la région antérieure et ventrale du prosoma où ils se rassemblent en amas. La figure 8 montre un ensemble de néphrocytes dans la base du rostre; dans les interstices libres nous voyons des hémocytes plus petits, granuleux et vésiculeux.

Les néphrocytes sont caractérisés par leur grande taille, celles-ci sont les plus grandes cellules somatiques des Araignées. Leur diamètre, sensiblement uniforme pour les éléments mononucléés, oscille, chez *Araneus diadematus*

autour de 40 μ . Ils ne présentent pas de mouvement propre et ne forment pas de pseudopodes.

Les néphrocytes peuvent avoir plusieurs noyaux. Chez *Araneus diadematus* nous avons vu seulement des néphrocytes mono ou binuclées (figure 9), ces derniers sont en proportion assez grande, atteignant dans certaines zones le nombre des mononuclées.

Leur cytoplasme est peu dense, le reticulum granulaire est rare et se trouve, en général, près du noyau. Le chondriome est représenté par des petites mitochondries sphériques pas plus grandes que 1 μ (fig. 9). Jadis on avait attribué aux néphrocytes une fonction excrétoire (MILLOT, 1930). Dans le cytoplasme on peut observer de denses enclaves de déchets, fortement osmiophiles, de taille et forme variable.

Avec un grossissement approprié on peut voir que l'aspect granulé du cytoplasme se traduit par un système de fins tubules agranulaires, de 0,1 μ de diamètre, qui se repandent dans tout le cytoplasme (fig. 10), à l'exception des certaines lacunes ou cavités optiquement vides.

CELLULES RÉTICULAIRES. Celui-ci sont des éléments cellulaires semblables aux composants du tissu réticulaire, qui remplissent les espaces dans les régions antérieure et ventrale du prosoma. Ils peuvent être libres, circulant dans l'hémolymphe, comme une cellule sanguine (fig. 11).

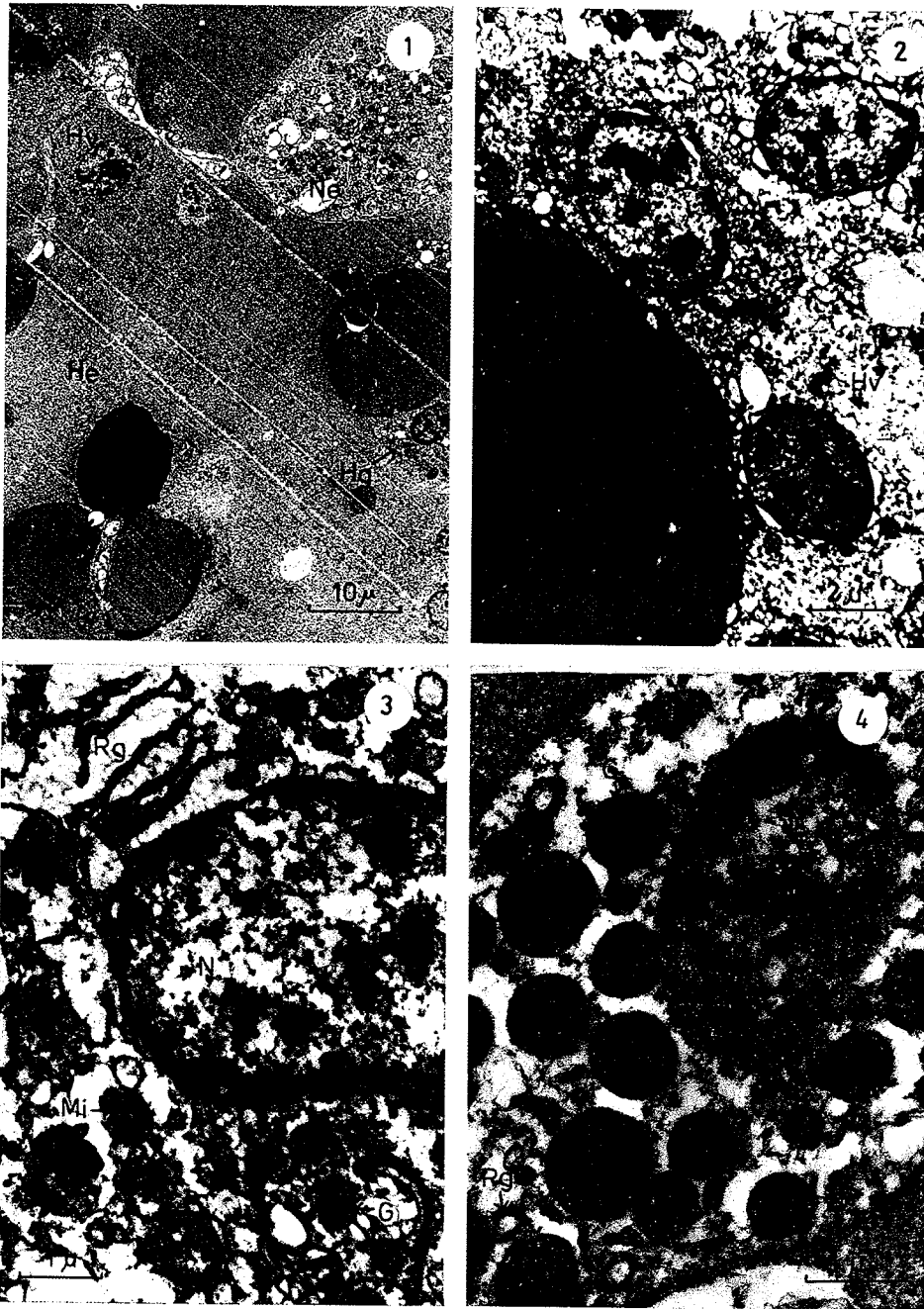
Ces éléments ont une taille assez grande, de 15 à 25 μ environ, mais n'atteignent jamais celle d'un néphrocyte. De forme ovale ou arrondie si elles sont libres, deviennent polyédriques si elles se groupent dans le tissu réticulaire de remplissage.

Le cytoplasme des cellules réticulaires est dense, granuleux homogènement et avec peu de différenciations cytoplasmiques. On y trouve quelques mitochondries de forme irrégulière au voisinage du noyau et de rares saccules de reticulum endoplasmique. En position à peu près centrée se trouve le noyau sphérique qui peut apparaître atranglé en son diamètre (fig. 11).

Il y a des différences de densité parmi les cytoplasmes de ces cellules, temoins de leur concentration ou de leur perte de substance. Mais la relation nucléo-cytoplasmique, qui semble propre aux cellules adultes, ainsi que l'absence de structures synthétiques, font écarter l'hypothèse d'une fonction de synthèse endocrine.

CELLULES FIBREUSES. Finalement nous ajoutons ici la présence des cellules avec fibres, et, malgré qu'elles ne flottent pas dans la courante sanguine, sont toujours directement baignées par l'hémolymphe (fig. 12). Elles se localisent toujours au contact direct ou très près de la membrane basale qui tapisse intérieurement l'épiderme, les yeux et les glandes prosomiennes; quelque fois, elles sont même incluses dans le tissu réticulaire.

Ces cellules fibreuses sont peu abondantes et toujours isolées. Leur forme est très irrégulière avec de profondes invaginations repliées de la membrane cytoplasmique, se traduisant par une vue d'ensemble irrégulière et ramifiée. Adossée à la membrane cellulaire, une couche homogène de grosseur uniforme de matériel extracellulaire, forme une couverture externe ou glucocalix.



LEGENDE DES FIGURES:

- Fig. 1. — Vue générale de l'hémolymph de *Araneus diadematus*: on peut observer divers types cellulaires en suspension. He., hémolymph. Hg., hémocyte granuleux. Hh., hémocyte hyalin. Hv., hémocyte vésiculeux. Ne., nephrocyte.
- Fig. 2. — Groupe d'hémocytes vésiculeux entourant un gran hémocyte hyalin. Hh., hémocyte hyalin. Hv., hémocyte vésiculeux.
- Fig. 3. — Détail d'un hémocyte vésiculeux. G., granule. Mi., mitochondrie. N., noyau. Rg., réticulum endoplasmique granulaire.
- Fig. 4. — Hémocyte granuleux à granules homogènes. G., granule de réserve. He., hémolymph. N., noyau. Rg. réticulum granulaire.

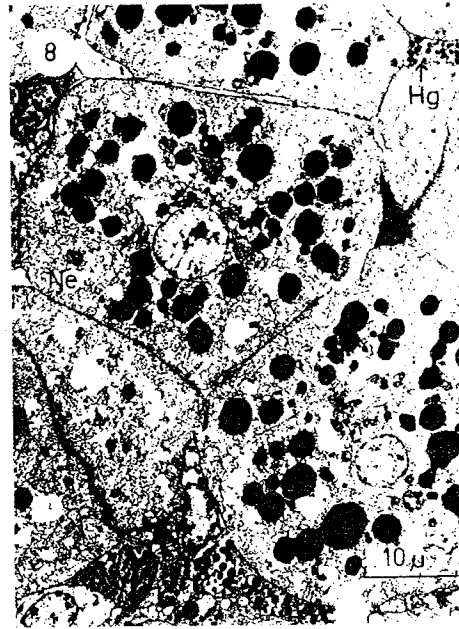
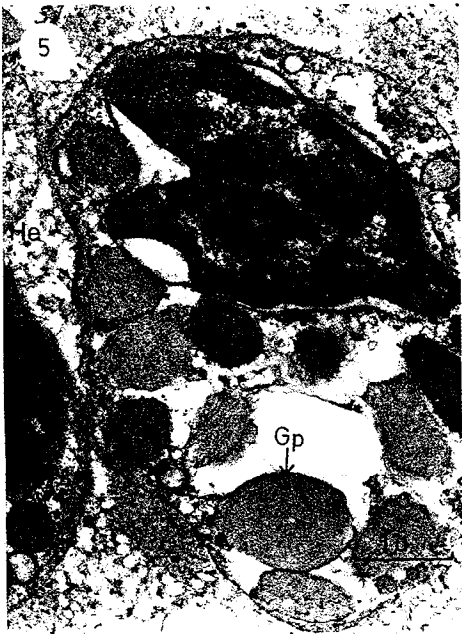
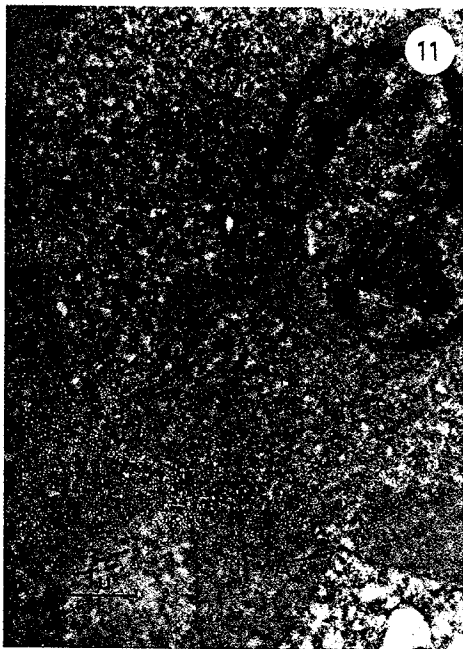
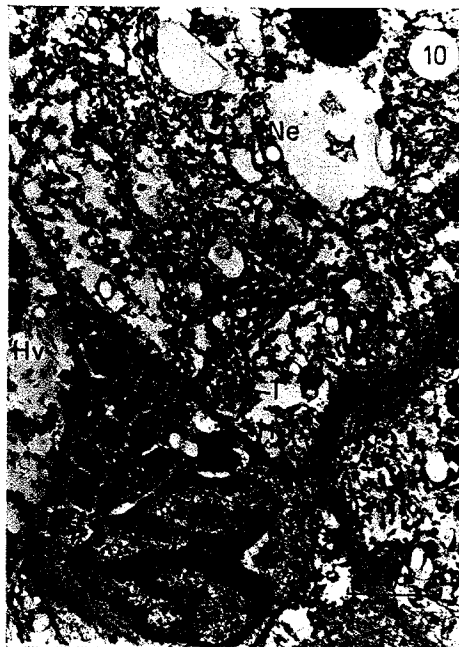
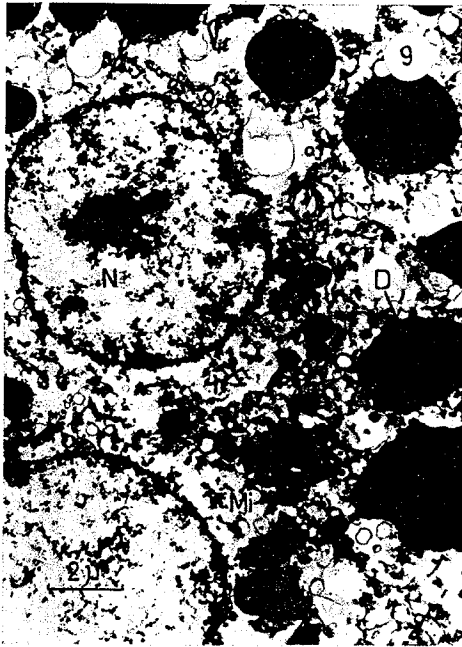


Fig. 5. — Hémocytes granuleux à granules cristallins. On voit la gradation suivie par ces granules dès les plus petits et denses jusqu'au les plus grands et hydratés. Gp., granule cristallin de nature protéinique. He., hemolymphe. Mi., mitochondrie. N., noyau.

Fig. 6. — Hémocyte hyalin typique; la double membrane nucléaire forme un saccule de basse densité autour du noyau. Le cytoplasme a une granulation plus grosse vers la périphérie. Cg., cytoplasme granulaire. Mi., mitochondrie. N., noyau, Nu., nucléole. R., reticulum.

Fig. 7. — Détail du cytoplasme périphérique d'un hémocyte hyalin. Cg., cytoplasme granulaire. Ch., cytoplasme hyalin. Mi., mitochondrie.

Fig. 8. — Ensemble de néphrocytes dans la base du rostre; dans les interstices se placent cellules sanguines plus petites. Hg., hémocyte granuleux. Ne., néphrocyte.



- Fig. 9.—Néphrocyte binucléé. D., enclave de déchet. Mi., mitochondries. N., noyau.
- Fig. 10.—Système de fins tubules agranulaires répandus dans tout le cytoplasme des néphrocytes. Entre les néphrocytes on peut observer petits hémocytes granuleux et vésiculeux.
- Fig. 11.—Cellules réticulaires flottant librement dans l'hémolymphe. A., zone anastomosée. He., hémolymphe. Mi., mitochondrie. N., noyau. R., saccules du réticulum endoplasmique.
- Fig. 12.—Cellule fibreuse, baignée par l'hémolymphe, placée près de la membrane basale des formations épithéliales. F., fibrilles. Gl., glucocalix. Mb., membrane basale. N., noyau.



Fig. 13. — Détail d'une cellule fibreuse; structures cytoplasmiques autour du noyau. Go., appareil de Golgi. Mi., mitochondrie. N., noyau. Rg., réticulum granulaire. Ra., réticulum agranulaire. V., vésicules.

Fig. 14. — Cytoplasme d'une cellule fibreuse. F., fibrilles. Gl., glucocalix qui couvre extérieurement les invaginations de la membrane cytoplasmique. Ra., réticulum agranulaire.

Le noyau est déplacé vers un côté. Il est entouré par la plupart des organites cytoplasmiques (fig. 13): appareil de Golgi, réticulum endoplasmique granulaire et agranulaire, chondriome, et abondance de petites vacuoles ou vésicules membraneuses de $0,1$ à $0,2 \mu$, qui alternent avec les fibrilles et s'introduisent dans les replis de la membrana cellulaire. Le cytoplasma fondamental est peu dense.

Le cytoplasme restant est envahi par une matière fibreuse. Les fibrilles s'orientent dans toutes les directions, avec une tendance à se grouper en petites faisceaux. La longueur moyenne d'une fibrille est de 1μ , et sa section est circulaire (fig. 14).

Nous ne connaissons pas la fonction de ces cellules. Par leur situation proche de la membrane basale, nous avons cru, d'abord, qu'elles pourraient synthétiser des fibrilles collagènes. Mais les fibrilles, vraisemblablement ne sont pas de collagène, car elles n'ont pas une structure serrée laquelle indiquerait cette nature. La signification de ces cellules aurait besoin de nouvelles recherches.

DISCUSSION

Dans le sang des Araneides M. KOLLMAN (1908) et J. MILLOT (1926) ont différencié: des leucocytes hyalins, des leucocytes granuleux, et finalement un type plus rare, les leucocytes vacuolaires; ces derniers apparaîtraient, selon MILLOT, dans la période critique de la mue. MILLOT ajoute encore un quatrième type: les cellules de Cuénot, très rares (ne dépassant jamais 5 %) et absentes chez 60 % des individus. Les leucocytes granulaires comme les cellules vacuolaires et celles de Cuénot proviendraient des leucocytes hyalins. Etant donné les différences qui existent entre ces différentes familles cellulaires et du fait de l'absence de microphotographies, nous ne pouvons comparer d'une manière précise notre matériel avec ces descriptions et, par conséquent, établir une correspondance certaine entre les leucocytes de MILLOT et les types cellulaires que nous avons trouvés chez *Araneus diadematus*.

Dans son travail sur les hémocytes de *Cupiennius salei*, SEITZ (1972) postule un cycle fonctionnel entre eux; il se base sur la forme et le nombre des divers hémocytes, les diverses formes fonctionnelles qu'on peut différencier, dériveraient les unes des autres; mais il s'abstient d'indiquer quelle classification auraient dans ce cycle les leucocytes de MILLOT.

Chez *Araneus diadematus* nous avons vu toute la série morphologique depuis les petits hémocytes à cytoplasme clair, bien structurés et d'aspect vésiculaire, jusqu'aux hémocytes granuleux de réserve où diminue le nombre des organites et augmente celui de granules d'accumulation. Ce processus de transformation serait parallèle à celui que SEITZ décrit chez *Cupiennius salei* Keys, comme une transformation progressive de l'hémocyte en phase de différenciation en hémocyte granulaire en phase de synthèse, et celui-ci en hémocyte granulaire d'accumulation.

Dans l'hémolymphe prosomique d'*Araneus diadematus*, il y a en suspension, des hémocytes hyalins en abondance. Ils sont d'une morphologie constante et caractéristique. Cependant, SEITZ dans ses travaux de 1972 sur les hémocytes de *Cupiennius salei* ne décrit aucun type homologable; cet fait a frappé notre attention. Peut-être, peut-on établir une ressemblance parmi les hémocytes hyalins que nous avons décrit chez *Araneus diadematus* et les hémocytes de la mue («molting haemocytes») qui apparaissent chez *Cupiennius salei* (SEITZ, 1976) pendant les jours avant la mue; cependant il y a des claires différences en ce qui concerne la structure générale du noyau et surtout la présence d'une grande vacuole de contenu transparent que SEITZ remarque dans ces hémocytes de la mue et qui n'existe pas dans nos hémocytes hyalins. L'auteur, suivant à MILLOT (1926), suppose que tous ces hémocytes proviendraient d'un type initial, peu différencié.

En plus des cellules proprement sanguines, nous avons remarqué la présence dans l'hémolymphe de néphrocytes et de cellules réticulaires. Nous avons décrit aussi l'existence d'un type très particulier de cellules fibreuses jusqu'ici non décrites.

Après la révision préalable des divers types cellulaires présents dans l'hémolymph, l'étude quantitative de leur proportions respectives, et l'analyse plus précise de leur possible évolution et leurs interrelations, ont été exposées.

Bibliographie

- KOLLMANN, M., 1908. «Sur les leucocytes et le tissu lymphoïde des invertébrés». *Ann. Sc. Zool.*, 9e. série. 8, 1 et suiv.
- MILLOT, J., 1926. «Contribution à l'histophysiologie des Araneides». *Bull. Biol. Fr. Belgique. Supl.* 8: 1-238.
- MILLOT, J., 1930. Le tissu reticulé du céphalothorax des Araneides et ses dérivés, nephrocytes et cellules endocrines». *Arch. Anat. Micros.*, 26: 43-81, fig. 2 pl.
- SEITZ, K. A., 1972. «Zur Histologie und Feinstruktur des Herzens und der Hämocyten von *Cupiennius salei* Keys. (Araneae, Ctenidae). I Herzwandung, Bildung und Differenzierung der Hämocyten». *Zool. Jb. Anat.* 89, S. 351-384.
- SEITZ, K. A. 1972. «Zur Histologie und Feinstruktur des Herzens und der Hämocyten von *Cupiennius salei* Keys. (Araneae, Ctenidae). II Zur Funktionsmorphologie des Phagocyten». *Zool. Jb. Anat.* 89: 395-397.
- SEITZ, K. A., 1976. «Zur Feinstruktur der Häutungshämocyten von *Cupiennius salei* Keys. (Araneae, Ctenidae)». *Zool. Jb. Anat.* 96: 280-292.