

DONNÉES RÉCENTES SUR LES HÉMOCYTES DES CRUSTACÉS

par

A. G. Bauchau

Département de Biologia Animale, Faculté « Universitaires
61, rue de Bruxelles 5000 Namur. Belgique

Les nombreuses recherches sur la structure et le rôle physiologique des hémocytes des crustacés ont fait l'objet de mises au point relativement récentes (Grégoire, 1970; Bauchau et Mengeot, 1978; Ravindranath, 1980; Bauchau, 1981). Au cours des dernières années cependant, plusieurs travaux ont permis de compléter ou même de renouveler substantiellement l'analyse de certaines fonctions hémocytaires. Les résultats les plus significatifs de ces recherches sont regroupés ici sous cinq rubriques principales.

1. L'HÉMATOPOIÈSE

L'organe hématopoïétique des crustacés se compose d'un ensemble de nodules cellulaires juxtaposés. Il est anatomiquement bien localisé à la base du rostre chez les Natantia tandis qu'il s'étale largement sur les parois dorsale et latérales de l'estomac broyeur des Reptantia.

L'examen histologique minutieux de cet organe chez *Carcinus maenas* amène Bazin (1979) à proposer une origine fibroblastique pour les cellules sanguines. Les fibrocytes秘rètent la gaine limitante des nodules, faite d'un feutrage de fibrilles et de faisceaux collagènes. Certaines de ces cellules au moins subissent un processus de dédifférenciation, reconnaissable aux nombreuses figures myéliniques de leur cytoplasme et deviennent les cellules-souches de l'hématopoïèse. Les hémoblastes ainsi formés parcourront plusieurs cycles mitoïques et se différencieront ensuite à des degrés divers dans l'organe lui-même pour donner naissance aux trois types d'hémocytes circulants : les cellules hyalines ou halocytes (Mix and Sparks, 1980), les hémocytes semi-granuleux, les plus abondants à être libérés dans l'hémocoele de plusieurs espèces (Johnson *et al.*, 1981) et les granulocytes.

Si toutes les cellules sanguines proviennent d'une même souche, le problème de leur filiation n'est cependant pas définitivement tranché. Les trois types d'hémocytes libres correspondent selon toute vraisemblance à trois étapes dans la formation des granulocytes, comme leur charge régulièrement croissante en granules le suggère (Fig. 1). La différenciation, amorcée dans l'organe hématopoïétique, se poursuit et s'achève dans le courant circulatoire. Chaque type assure une ou plusieurs fonctions particulières. D'autres hémoblastes au contraire ne se différencient qu'après fixation sur le tissu conjonctif. Ils suivent cette fois des

lignes d'évolution indépendantes. Les cellules lipo-protéiniques de Sewell (1955) et les phagocytes, attachés en divers points du réseau vasculaire (Johnson *et al.*, 1981) rentrent apparemment dans cette catégorie. Malheureusement l'origine hémocytaire des phagocytes n'a pas été clairement établie. Aussi à l'heure actuelle, les cyanoblastes fournissent le meilleur exemple d'une voie de différenciation autonome.

Ghiretti-Magaldi *et al.* (1977) décrivent en effet chez *Carcinus maenas* un type hémocytaire très particulier, comparable au cyanoblaste de la limule (Fahrenbach, 1970). Les cyanoblastes du crabe proviennent apparemment d'hémothroblastes qui, après avoir quitté l'organe hématopoïétique, se mêlent aux hémocytes dans les lacunes sanguines du réseau conjonctif. Mais, contrairement aux hémocytes circulants, les cyanoblastes se fixent au tissu conjonctif qui entoure l'artère ophtalmique, l'estomac broyeur et les tubules de l'hépatopancréas. Ils se différencient ensuite directement et irréversiblement (Perrero *et al.*, 1980), c'est-à-dire qu'ils synthétisent et accumulent de l'hémocyanine sous forme de granules où apparaissent fréquemment des réseaux paracrystallins. Ces granules fusionnent en une vésicule volumineuse qui ne laisse subsister finalement qu'une mince frange cytoplasmique. Le cyanocyte passe ainsi d'une taille initiale de 10 à 15 µm à 50-70 µm. Son noyau devient pycnotique et des figures myéliniques indiquent une résorption progressive des organelles cytoplasmiques qui ont achevé leur programme de synthèse d'hémocyanine. Finalement le pigment respiratoire passe dans le sang par rupture de la membrane plasmique, selon une sécrétion de type holocrine (Fig. 1).

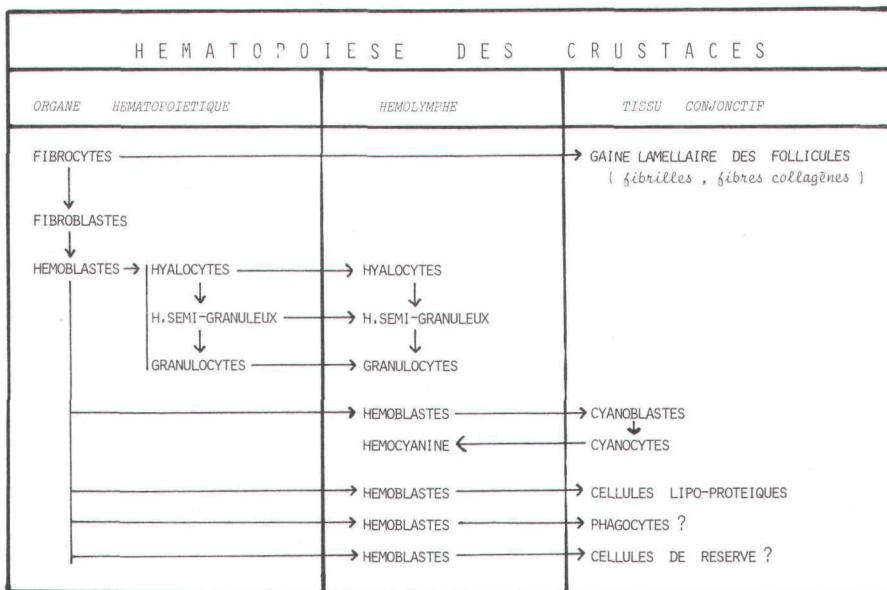


FIG. 1
Schéma de l'évolution des hémocytes libres et fixés dans différents compartiments tissulaires.
Evolution scheme of free- and fixed-hemocytes in different tissue compartments.

Le cyanocyte, et non l'hépatopancréas, apparaît comme le lieu de synthèse de l'hémocyanine, quoique le cuivre soit abondamment stocké dans certains hépatocytes (Zuckerland, 1960). Le lien étroit qui unit obligatoirement cyanocytes et tissu conjonctif explique sans doute pourquoi certains auteurs localisent toujours

dans l'hépato-pancréas le lieu de synthèse de l'hémocyanine (Senkbeil and Wriston, 1981). Le conjonctif qui s'insinue entre les tubules retient en effet des cyanoblastes et il est certainement malaisé de les en éliminer totalement lors du prélèvement de l'organe. Remarquons à cet égard que Al-Mohanna *et al.* (1985) décrivent dans l'hépato-pancréas d'une crevette *Penaeus* une cellule dont la morphologie paraît proche, sinon identique à celle d'un cyanocyte.

Schönberger *et al.* (1980) signalent la présence assez inattendue de cyanocytes dans l'œil composé de *Squilla mantis*. Ils se trouvent en contact étroit avec la paroi des vaisseaux sanguins et entourent de longues et fines extensions pseudopodiales un ou plusieurs axones des cellules rétinulaires. Leur différenciation se fait dans l'ommatidie, c'est-à-dire qu'ils complètent sur place leur charge en hémocyanine. La raison précise de cette localisation dans l'appareil visuel n'est pas élucidée. Peut-être les paracristaux concourent-ils à renvoyer la lumière incidente sur les rhabdomes mais l'orientation quelconque des paracristaux ne peut réfléchir qu'une lumière diffuse.

2. MORPHOLOGIE DES HÉMOCYTES : MICROTUBULES ET MICROFILAMENTS

L'immense majorité des hémocytes en suspension dans l'hémolymphé adoptent une forme ovoïde, qui réduit sensiblement la viscosité du liquide cavitaire que leur présence entraîne.

Par contre, les mêmes cellules, déposées sur un support étranger, modifient profondément leur morphologie. Les éléments du cytosquelette sont évidemment impliqués dans ces remaniements. Cohen *et al.* (1983) mettent en lumière le rôle des microtubules (MT). Dans un hémocyte libre, les MT se groupent en un faisceau méridien de 60 à 70 unités, circulaire ou ellipsoïdal, situé dans le plan d'aplatissement de la cellule. Ce faisceau sous-tend la membrane plasmique sans y adhérer directement car il en reste séparé par une couche sous-corticale. En suivant grâce à l'immunofluorescence les étapes de l'étalement d'un hémocyte sur une lamelle de verre, il apparaît que le faisceau microtubulaire se disloque, se disperse dans le cytoplasme pour finalement disparaître au bout d'une vingtaine de minutes. Ces observations soulignent l'étroite corrélation qui relie la forme cellulaire à la présence comme à la répartition des MT.

Nous avons pu montrer en outre que la dislocation du réseau de microfilaments (MF) par la cytochalasine B provoque des distorsions spectaculaires de la membrane plasmique, en présence de l'ion Ca^{2+} (Bauchau and Passecq-Gérin, 1983).

Ces données, établies *in vitro*, s'appliquent selon toute vraisemblance *in vivo*, lors de l'intervention des cellules sanguines dans des processus aussi divers que la cicatrisation des plaies, la coagulation de l'hémolymphé, la phagocytose et l'encapsulation des parasites internes. L'interaction de ces organelles cytoplasmiques paraissent d'ailleurs jouer un rôle analogue dans toutes les cellules sanguines du Règne Animal (Neumhauser *et al.*, 1980).

3. LA COAGULATION

L'intervention des hémocytes dans la coagulation du sang est connue depuis longtemps; elle comporte deux aspects complémentaires : l'agglutination des hémocytes et la gélification du plasma (Bauchau et De Brouwer, 1974; Sternshein and Burton, 1980). Tait (1911) en a déduit l'existence de trois types de coagulation,

variant selon les espèces étudiées. Type A : simple agglutination des hémocytes sans gélification du plasma (ex. *Cancer pagurus*, *Maïa squinado*); type B : agglutination des hémocytes et gélification généralisée du plasma (ex. *Palaemon serratus*, *Homarus vulgaris*, *Macropipus puber*, *Carcinus maenas*, *Galathea squamifera*); type C : faible agglutination des hémocytes avec une gélification limitée à la périphérie des cellules mais s'étendant progressivement à la totalité du plasma (ex. Isopodes, *Astacus* sp., *Palinurus regius*). Cette classification a le mérite d'être simple et pratique. Les travaux récents en montrent cependant les limites. Elle ne doit pas être interprétée comme reflétant une opposition fondamentale entre les trois types mais bien comme la résultante de l'importance variable des principaux facteurs de coagulation.

Le premier facteur s'identifie à une protéine plasmatique (ou à un groupe de molécules représentant divers degrés de polymérisation d'un monomère) dénommée coagulogène; elle joue un rôle comparable au fibrinogène des vertébrés (Durliat et Vranck, 1981). Cette protéine a été retrouvée dans toutes les espèces étudiées, quel que soit leur type de coagulation (Ghidalia *et al.*, 1981). Toutefois sa concentration dans l'hémolymph varie non seulement d'une espèce à l'autre mais aussi au cours du cycle d'intermue. Sa faible concentration dans le plasma des espèces de type A explique l'absence de gélification observée de même que les résultats négatifs cherchant à la détecter par électrophorèse (Vendrely *et al.*, 1979; Bauchau, 1981). Par contre les espèces de type B en contiennent beaucoup, le groupe C occupe une position intermédiaire entre A et B.

Sous sa forme monomérique, le coagulogène a été identifié en faible concentration dans les hémocytes d'*Astacus leptodactylus* (Durliat et Vranck, 1976, 1981), ce qui laisse supposer qu'il est synthétisé dans ces cellules, puis rapidement libéré dans le plasma. Il subirait alors une polymérisation plus ou moins prononcée, tout en restant soluble. Il pourrait aussi être capté par différents tissus (Durliat, 1984). Notons à cet égard que le fibrinogène des vertébrés est synthétisé dans le foie et secrété dans le sang, ce qui établit un certain parallélisme avec les crustacés.

Le deuxième facteur de la coagulation, appelé initialement «fibrin-ferment» par Hardy (1892) est contenu dans les hémocytes. Sa nature exacte soulève cependant de nombreuses questions, imparfaitement résolues à l'heure actuelle. Il semble en effet que nous soyons en présence de plusieurs enzymes agissant en cascade.

Elles ne paraissent pas spécifiques. Ghidalia *et al.* (1981) montrent en effet qu'un extrait d'hémocytes de *Macropipus puber* provoque la gélification du plasma de nombreuses autres espèces, à condition bien entendu que le coagulogène plasmatique y soit présent en quantité suffisante.

Quant au nombre et à l'identité des enzymes impliquées dans ces réactions, seuls des éléments de réponse sont disponibles. Selon toute vraisemblance, une sérine-protéase intervient. Cette affirmation repose sur le fait que les inhibiteurs de la trypsine (une sérine-protéase) suppriment totalement ou retardent la coagulation (Durliat et Vranck, 1981; Söderhäll, 1981). Son rôle se rapprocherait ainsi de celui de la thrombine des vertébrés mais elle ne s'identifie pas chimiquement avec elle. Cette sérine-protéase agirait sur le coagulogène pour catalyser la formation de liaisons peptidiques et former ou préparer la formation de coaguline.

Cette même sérine-protéase activerait également un transamidase qui renforcerait les liens entre les filaments de coaguline pour donner naissance cette fois à la coaguline insoluble d'un gel stabilisé. Cette transamidase jouerait le même rôle que la fibrinoligase des vertébrés; dans les deux cas en effet, de petites

amines synthétiques (comme la glycine-méthyl-ester et la monodansylcadavérine) retardent ou inhibent la formation d'un gel stable, que ce soit chez un mammifère ou chez le homard (Laki, 1972; Lorand, 1972; Durliat et Vranck, 1981). La faible concentration de ce ferment n'a pas permis toutefois de le détecter par électrophorèse chez *Astacus leptodactylus* (Durliat et Vranck, 1981).

Ces données, encore incomplètes, permettent de proposer un schéma général (Fig. 2) qui a l'avantage de clarifier les réactions probables et d'orienter les recherches ultérieures. Il apparaît en tout cas que la coagulation chez les crustacés est un phénomène plus complexe que prévu. La cascade des réactions enzymatiques la rapproche de celles de la limule et des vertébrés, considérés auparavant comme très différentes.

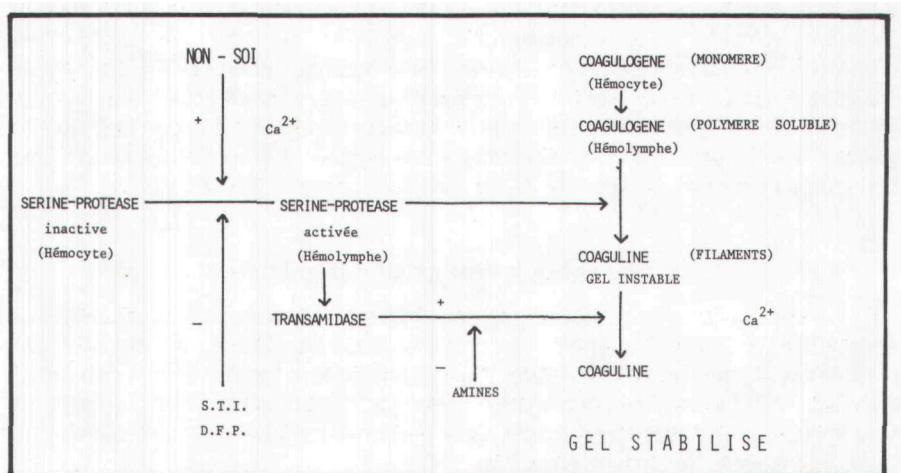


FIG. 2
Schéma provisoire des étapes de la coagulation de l'hémolymph.
Provisional scheme of the stages in hemolymph coagulation.

4. LA PHAGOCYTOSE

Elle constitue une réaction classique de défense dans laquelle les hémocytes sont largement impliqués. Au cours des dernières années, plusieurs travaux ont mis en évidence un autre aspect de la fonction phagocytaire des cellules sanguines, à savoir leur intervention dans le turn-over cellulaire de certains organes.

A cet égard, les ommatidies des arthropodes se sont révélées comme un matériel de choix pour l'expérimentateur. Waterman et Piekos (1981) ont observé chez l'écrevisse *Procambarus clarkii* que la lumière accélère ou induit une dégradation des membranes villositaires du rhabdome. L'équilibre s'inverse au cours de la nuit pour promouvoir une synthèse membranaire et rétablir l'intégrité fonctionnelle des rhabdomères.

En suivant des protocoles expérimentaux rigoureux, ces auteurs ont pu suivre pendant les mois d'hiver les trois phases d'un cycle complet du turn-over des rhabdomes : dégradation rapide entre minuit et 2h; synthèse reconstitutive entre 2h et 4h; équilibre rétabli entre 4h et 6h (Piekos and Waterman, 1983). En outre, ils relèvent un parallélisme étroit entre ces processus et la migration des hémocytes dans l'appareil visuel (Waterman and Piekos, 1983). Les cellules sanguines franchissent la membrane basale des ommatidies à hauteur des pertuis ménagés pour le passage des axones. Tout au cours de la phase de dégradation, ils émettent

de longues extensions pseudopodiales qui s'insinuent entre les cellules rétinulaires. Simultanément une intense activité phosphatasique acide est mise en évidence autour du rhabdome et des rhabdomères; elle provient selon toute probabilité des hémocytes dont le réticulum endoplasmique et les citerne périnucléaires apparaissent chargés de cette hydrolase. Au cours des deux phases ultérieures du cycle, des fragments très reconnaissables des rhabdomes, des cellules rétinulaires et gliales sont phagocytés par les hémocytes, qui assurent ainsi une épuration des éléments dégradés.

Ce ne sont là que les premiers résultats de l'exploration d'un domaine encore mal connu. Les relations précises qui se nouent entre les remaniements ommatidiens d'une part et d'autre part le changement de saison, de photopériode, d'intensité lumineuse, des cycles de mue et de reproduction, du taux des hormones restent à élucider. Les données déjà recueillies peuvent être rapprochées d'observations plus anciennes de Chassard-Bouchaud et Hubert (1975), concernant l'Organe Y de *Carcinus maenas*. Ces glandes de mue sont en effet abondamment infiltrées d'hémocytes. Elles dégénèrent de manière asynchrone lorsque un crabe est parasité par la sacculine. Précisément les hémocytes déploient alors une intense activité phagocytaire, comparable à celle des macrophages de vertébrés.

5. ENCAPSULATION ET MÉLANISATION

Lorsqu'un parasite se développe dans le corps d'un crustacé, la phagocytose apparaît bien souvent comme une parade dérisoire. Aussi la stratégie des hémocytes se modifie en conséquence. Ils emprisonnent l'intrus dans de multiples couches cellulaires concentriques. C'est le phénomène bien connu de l'encapsulation, habituellement suivi d'une mélanisation plus ou moins étendue de la surface externe du parasite (Bauchau, 1981).

Depuis une dizaine d'années, l'équipe suédoise de Söderhäll a méthodiquement analysé les réactions; les résultats obtenus ouvrent des perspectives inattendues, dont nous présentons ici l'essentiel. L'étude de Söderhäll a porté principalement sur le champignon *Aphanomyces astaci*, capable de parasiter toutes les écrevisses européennes tandis que l'espèce américaine *Pacifastacus leniusculus* est résistante.

Grâce à ses protéases et chitinases, la spore du champignon perce l'épicuticule, pénètre l'endocuticule, généralement à hauteur des replis membraneux du segment anal, et se développe. Les hyphes sont éventuellement encapsulées par les hémocytes et recouvertes d'un dépôt de mélanine. Cette réaction globale se décompose en deux phases coordonnées (Fig. 3).

Les β -1,3-glucanes, constituants solubles des polysaccharides de surface du champignon, activent spécifiquement une pro-phénoloxydase (proPO), présente à la fois dans la cuticule et dans les hémocytes semi-granuleux et granuleux (Söderhäll and Smith, 1983). Cette activation est médiatisée par une sérine-protéase hémocytaire; elle active la proPO en détachant un fragment peptidique. La phénoloxydase (PO) ainsi produite est responsable de la formation d'un dépôt de mélanine. Cette molécule, de même que les quinones du métabolisme intermédiaire des phénols, jouit de propriétés fungistatiques et cytotoxiques (Söderhäll and Ajaxon, 1982; Ashida and Söderhäll, 1984). Les liposaccharides de trois bactéries gram-négatif exercent la même action (Söderhäll and Häll, 1984).

En outre, les β -1,3-glucanes activent également un facteur hémocytaire qui induit *in vitro* la flocculation du surnageant d'un lysat d'hémocytes et *in vivo* initie la coagulation partielle de l'hémolymphe, en présence d'ions Ca^{2+} .

Ce facteur confère également des propriétés adhésives à plusieurs protéines plasmatiques, qui dès lors s'attachent à tout corps étranger se trouvant à proximité. La PO est l'une de ces protéines, le coagulogène semble en être une autre. Söderhäll démontre que ce facteur correspond à une sérine-protéase. En effet la trypsine induit en présence de Ca^{2+} la flocculation d'un lysat d'hémocytes de même que l'adhésion de la PO. Par contre les inhibiteurs de la trypsine, STI (soybean trypsin inhibitor) et DFP (di-isopropylfluorophosphate), empêchent flocculation et

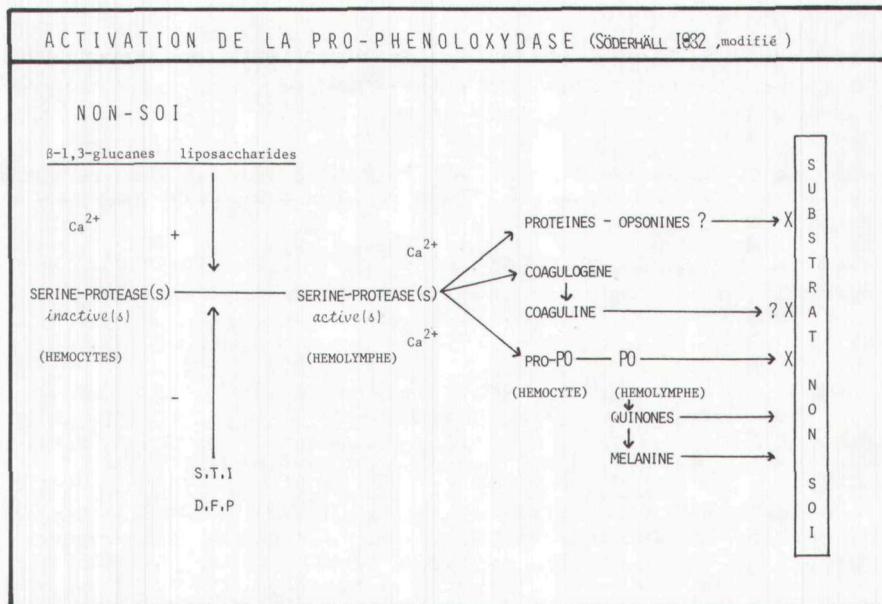


FIG. 3
Schéma des réactions entraînées par la présence de molécules non-soi.
Scheme of reactions induced by non-self molecules.

adhésion de la PO; ils suppriment également l'action inductive des β -1,3-glucanes. Bref l'ensemble des phénomènes observés (activation de la proPO, dépôt de mélanine, flocculation d'un lysat d'hémocytes, acquisition de propriétés adhésives par certaines protéines) semble étroitement lié à l'activation d'une sérine-protéase d'origine hémocytaire.

La durée d'activité de ce ferment est cependant limitée afin d'éviter sans doute des réactions généralisées en présence de la menace très locale que représente un parasite.

Soulignons pour terminer la double utilité de la formation de protéines adhésives : l'attache de la PO sur une surface étrangère ne peut qu'augmenter l'efficacité cytotoxique et fungistatique des quinones et de la mélanine (Söderhäll, 1981); les protéines adhésives pourraient également jouer le rôle d'opsonines. Smith et Söderhäll (1983) ont montré *in vitro* que des bactéries (*Moraxella* sp. gram-négatif), préalablement traitées par le surnageant d'un lysat d'hémocytes, exaltent la dégranulation des hémocytes d'*Astacus astacus*; de même les hémocytes de *Carcinus maenas*, réagissent sélectivement à l'injection de β -1,3-glucane en formant de petits agrégats nodulaires (Smith *et al.*, 1984). Goldenberg *et al.* (1984) montrent également que les érythrocytes de mouton, traités par du sérum de homard, sont plus rapidement phagocytés par les hémocytes, lorsque ceux-ci ont été activés par des liposaccharides ou par également sur une surface étrangère.

Comme toute atteinte à l'intégrité physique d'un crustacé suscite une réaction de mélénisation, il est fort probable que le système activateur de la proPO constitue une partie essentielle d'un mécanisme intégré de reconnaissance du non-soi chez les arthropodes (Söderhall, 1982). Dans cette hypothèse, les hémocytes jouent un rôle de défense fondamental qui évoque à la fois celui des macrophages et des lymphocytes de vertébrés.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- AL-MOHANNA, S.Y., J.A. NOTT and D.J.W. LANE, 1985. — M'Mdget' cells in the hepato-pancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* De Hann, 1844 (Decapoda Natantia). *Crustaceana* 48, pp. 260-268.
- ASHIDA, M. and K. SÖDERHÄLL, 1984. — The prophenoloxidase activating system in crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 77 B, pp. 21-26.
- BAUCHAU, A.G., 1981. — Crustacea. In : Invertebrate Blood Cells, edit. N.A. Ratcliffe and A.F. Rowley. Vol. II, chap. 12, 385-420. London, Academic Press.
- BAUCHAU, A.G. et M.B. DE BROUWER, 1974. — Etude structurale de la coagulation de l'hémolymph chez les crustacés. *J. Microsc. (Paris)*, 19, pp. 37-46.
- BAUCHAU, A.G. and E. PASSELECQ-GERIN, 1983. — Crustacean haemocyte reactivity to cytochalasin B. *Ann. Soc. r. Zool. Belg.* 113, suppl. 1, pp. 239-247.
- BAZIN, F., 1979. — Ultrastructure de l'organe hématopoïétique chez le crabe *Carcinus maenas* L. (Crustacea Decapoda). *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 68, pp. 141-158.
- CHASSARD-BOUCHAUD, C. et HUBERT, M., 1975. — Etude ultrastructurale des hémocytes présents dans l'Organe Y de *Carcinus maenas*, L. (Crustacé Décapode). *C.R. Hebd. Séances Acad. Sci. Sér. D, Sci. Nat.*, 281, pp. 807-810.
- COHEN, W.D., NEMHAUSER, I. and COHEN, M.F., 1983. — Marginal bands of lobster blood cells : disappearance associated with changes in cell morphology. *Biol. Bull. (Woods Hole)*, 164, pp. 50-60.
- DURLIAT, M., 1983. — Etude immunochimique des protéines de divers tissus chez les crustacés décapodes : nature, rôle, origine. *Arch. Int. Physiol. Biochim.*, 9, pp. 297-332.
- DURLIAT, M. et VRANCK, R., 1976. — Analyse des protéines hémocytaires d'*Astacus leptodactylus*. *C.R. Acad. Sci. Paris. Série D*, 282, pp. 2215-2218.
- DURLIAT, M. and VRANCK, R. — Coagulation in the crayfish *Astacus leptodactylus*. Attempts to identify a fibrinogen-like factor in the haemolymph. *Biol. Bull. (Woods Hole)*, 151, pp. 467-477.
- DURLIAT, M. and VRANCK, R., 1981. — Action of various anticoagulants on hemolymph of lobsters and spiny lobsters. *Biol. Bull. (Woods Hole)*, 160, pp. 55-68.
- FAHRENBACH, W.H., 1970. — The cyanoblast : hemocyanin formation in *Limulus polyphemus*. *J. Cell Biol.* 44, pp. 445-453.
- FERRERO, E.A., GRAZIOSI, G., MARZARI, R. AND MOSCO, A., 1983. — Protein pattern variability of the hemolymph of mantis shrimp, *Squilla mantis*, L. (Crustacea Stomatopoda). *J. Exp. Zool.* 225, pp. 341-345.
- GHIDALIA, W.R., VENDRELY, R., MONTMORY, C., COIRAUT, Y. and BROUARD, M.O., 1981. — Coagulation in decapod crustaceans. *J. Comp. Physiol.* 142, pp. 473-478.
- GHIRETT-MAGALDI, A., MILANESI, C. and TOGNON, G., 1977. — Hémopoïesis in Crustacea decapoda : origin and evolution of hemocytes and cyanocytes of *Carcinus maenas*. *Cell. Differ.* 6, pp. 167-186.
- GOLDENBERG, P.Z., HUEBNER, E. AND GREENBERG, A.H., 1984. — Activation of lobster hemocytes for phagocytosis. *J. Invertebr. Pathol.* 43, pp. 77-88.
- GREGOIRE, C., 1970. — In : *The haemostatic mechanism in man and other animals*. Sympos. ZooL Soc. London. n° 27, 45-74. London, Academic Press.
- HARDY, W.B., 1892. — The blood corpuscle of the Crustacea together with a suggestion as to the origin of the Crustacea fibrin-ferment. *J. Physiol.* 13, pp. 165-190.
- JOHNSON, P.T., STEWART, J.E. and ARIE, B., 1981. — Histopathology of *Aerococcus viridans*, var. *homari* infection (Gaffkemia) in the lobster *Homarus americanus* and a comparison with histological reactions to a gram-negative species, *Pseudomonas perolens*. *J. Invertebr. Pathol.* 38, pp. 127-148.

- LAKI, K., 1972. — (Dur ancient heritage in blood-clotting and some of its consequences. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **202**, pp. 297-307.
- LORAND, L., 1972. — Fibrinoligase : the fibrin-stabilizing factor System of blood plasma. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **202**, pp. 6-30.
- MIX, M.C. and SPARKS, A.K., 1980. — Hemocyte classification and differential counts in the dungeness crab. *Cancer magister. J. Invertebr. Pathol.* **35**, pp. 134-143.
- NEMHAUSER, F., ORNBERG, R. and COHEN, W.D., 1980. — Marginal bands in blood cells of invertebrates. *J. Ultrastruct. Res.* **70**, pp. 308-317.
- PIEKOS, W.B. and WATERMAN, T.H., 1983. — Nocturnal rhabdom cycling and retinal hemocyte functions in crayfish (*Procambarus*) compound eyes. I. Light microscopy. *J. Exp. Zool.* **225**, pp. 209-217.
- RAVINDRANATH, M.H., 1980. — Haemocytes in haemolymph coagulation of Arthropods. *Biol. Rev. Camb. philos. Soc.* **55**, pp. 139-170.
- SCHÖNENBERGER, N., COX, J.A. and GABBANI, A., 1980. — Evidence for hemocyanin formation in the compound eye of *Squilla marais* (Crustacea Stomatopoda), *Cell Tis. Res.* **202**, pp. 397-409.
- SENKBEIL, E.G. and WRISTON, J.C., 1981. — Hemocyanin synthesis in the american lobster, *Homarus americanus*. *Comp. Biochem. Physiol.* **68 B**, pp. 163-171.
- SEWELL, M.T., 1955. — Lipo-protein cells in the blood of *Carcinus maenas* and their cycle of activity correlated with the moult *Quart. J. Microsc. Sci.* **96**, pp. 73-83.
- SMITH, V.J. and SÖDERHÄLL, K., 1983. — Induction of degranulation and lysis of haemocytes in the freshwater crayfish *Astacus astacus* by components of the prophenoloxidase activating System *in vitro*. *Cell. Tissue Res.* **233**, pp. 291-303.
- SMITH, V.J., SÖDERHÄLL, K. and HAMILTON, M., 1984. — β 1,3-glucan induced cellular deffence reactions in the shore crab, *Carcinus maenas*. *Comp. Biochem. Physiol.* **11 A**, pp. 635-639.
- SÖDERHALL, K., 1981. — Fungal cell wall β -1,3-glucans induce clotting and phenoloxidase attachment to foreign surfaces of crayfish hemocyte lysate. *Dv. Comp. Immunol.* **5**, pp. 565-573.
- SÖDERHÄLL, K., 1982. — Prophenoloxidase activating System and melanization : a recognition mechanism of arthropods. A review. *Dv. Comp. Immunol.* **6**, pp. 601-611.
- SÖDERHÄLL, K., 1983. — B-1,3-glucan enhancement of protease activiry in crayfish hemocyte lysate. *Comp. Biochem. Physiol.* **74 B**, pp. 221-224.
- SÖDERHÄLL, K. and AJAXON, R., 1982. — Effects of quinones and melanin on mycelial growth of *Aphanomyces* sp. and extracellular protease of *Aphanomyces astaci*, a parasite of crayfish. *J. Invertebr. Pathol.* **39**, pp. 105-109.
- SÖDERHÄLL, K. and HÄLL, L., 1984. — Lipopolysaccharide-induced activation of prophenoloxidase activating System in crayfish haemocyte lysate. *Biochim. Biophys. Acta* **797**, pp. 99-104.
- SÖDERHÄLL, K. and SMITH, J.V., 1983. — Separation of the haemocyte populations of *Carcinus maenas* and other marine decapods, and prophenoloxidase distribution. *Dv. Comp. Immunol.* **7**, pp. 229-239.
- STENSHEIN, D.J. and BURTON, P.R., 1980. — Light and electron microscopic studies of crayfish hemocytes. *J. Morphol.* **165**, pp. 67-83.
- TAIT, J., 1911; — Types of crustacean blood coagulation. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* **9**, pp. 191-198.
- VENDRELY, R., GHUIDALIA, W., COIRAUXT, Y. et MONTMORY, C., 1979. — Coagulation de l'hémolymphé chez les crustacés. Mise en évidence par électrophorèse d'un composant plasmatique intervenant dans l'hémostase chez un crustacé du Groupe A (*Cancer pagurus*). *CJi. Hebd. Séances Acad. Sci. Sér. D Sci. Nat.* **289**, pp. 849-851.
- WATERMAN, T.H. and OIEKOS, W.B., 1983. — Nocturnal rhabdom cycling and retinal hemocyte functions in crayfish (*Procambarus*) compound eyes. II. Transmission electron microscopy and acid phosphatase localization. *J. exp. Zool.* **225**, pp. 219-231.
- ZUCKERLAND, E., 1960. — Hémocyanine et cuivre chez un crustacé décapode dans leurs rapports avec le cycle d'intermue. *Ann. Inst. Océan.* **38**, Fasc. 1, pp. 1-22.