

방게(*Helice tridens tridens*)혈구의 형태학적 연구

윤상선 · 노용태

건국대학교 이과대학 생물학과

방게의 혈구는 투명혈구, 소과립혈구, 그리고 대과립혈구로 동정되었다. 투명혈구의 모양은 세포질에 비해 큰 핵을 가지며, 세포질에는 난형의 전자밀도가 약한 과립과 소포 및 소포체들이 관찰된다. 소과립혈구는 투명혈구보다 더 작은 핵을 가지며, 세포질에는 잘 발달된 소포체, 골지체, 그리고 작은 원형의 전자밀도가 강한 과립을 갖는다. 대과립혈구는 소과립들이 서로 융합해서 된 전자밀도가 강한 대과립들을 갖는다. 방게의 혈구는 투명혈구로 부터 대과립혈구로 발달한다. 즉 리소솜효소를 갖는 투명혈구의 과립들은 핵막으로부터 작은 소포들을 형성하며, 이 소포들이 골지체를 통과하면서 전자밀도가 강한 물질로 채워지고, 이 작은 소과립들은 융합하면서 대과립이 된다. 모든 혈구에는 글리코겐 입자들이 산재한다. 대과립혈구들 중 과립의 소멸현상으로 생각되는 이형과립들이 존재한다.

KEY WORDS: Ultrastructure, Hemocytes, *Helice tridens tridens*

갑각류 혈구는 혈액응고(Durliat, 1985; Hose *et al.*, 1987)와 식균작용(Ratiner and Vinson, 1983; Söderhäll *et al.*, 1986)과 같은 주요 기능을 하고, 그밖에 저장기능(Johnston *et al.*, 1971; Wood *et al.*, 1971; Bauchau *et al.*, 1975; Bauchau and Mongeot, 1978)과 삼투조절(Evans, 1972; Miller *et al.*, 1973)과 같은 기능도 갖고 있다. 갑각류의 혈구를 Carus(1824)는 처음 배회세포(wandering cell)라 하였고, Hardy(1892)와 George(1941), 그리고 George와 Nichols(1948)는 과립의 유무에 따라 무과립혈구(agranulocyte)와 과립혈구(granulocyte)로 구분 하였다. Toney(1958)는 갑각류의 혈구를 과립의 크기에 따라 임파구, 단핵구, 그리고 두 종류의 explosive granulocyte로 나누었고, Stang-Voss(1971)는 *Astacus astacus*에서 무정형혈구(ameobocyte)만 존재한다고 하였으며, 이 무정형혈구를 기능에 따라 응고혈구, 식세포, 과립혈구로 구분하였다. Bauchau와 Brower(1972)는 투명혈구, 반과립혈구(semigranulocyte), 과립혈구, 그리고 지질단

백혈구(lipo-proteinocyte)로, Hoarau(1976)는 *Helleria brevicornis*의 혈구를 과립의 수와 크기에 따라 제1형혈구에서 제4형혈구로 구분하기도 하였다. Martin과 Graves(1985) 그리고 Martin 등(1987)은 *Sicyonia ingentis*의 혈구를, Hose 등(1987, 1990)은 *Homarus americanus*와 *Panulirus interruptus* 그리고 *Loxorhynchus grandis*의 혈구들을, 그리고 Aono(1992)는 *Panulirus japonicus*의 혈구를 각각 투명혈구와 과립혈구로 구분하고, 과립혈구는 과립의 크기와 형태에 따라 소과립혈구와 대과립혈구로 나누어, 세가지의 형태로 분류하였다.

그러나 국내에서 무척추동물의 혈구에 관한 연구는 일부 곤충(Chang *et al.*, 1994; Jeong *et al.*, 1994)에 관한 것만 발표되었고, 다른 무척추 동물, 특히 해양 무척추동물에서는 전무한 실정이나 다름없다. 본 연구는 방게를 재료로 혈구를 관찰하여, 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 재료는 갑각류(Crustacea), 십각목(Decapoda), 방게속(*Helice*)의 방게(*Helice tridens tridens* De Haan, 1835) 중 갑각폭 15 mm이상의 성체만을 채집, 암·수를 구별하여 사용하였으며, 암컷은 포란하지 않은 것만을 사용하였다. 재료는 인천시 중구 영종동(영종도) 인천조선 옆 갯벌 조간대에서 1992년 9월부터 1993년 8월까지 간조 시간에 약 50여마리를 채집하였다.

방게 혈구의 광학현미경적 관찰은 Arnold와 Hinks(1979)의 방법을 이용하여 관찰하였다. 방게를 $60 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 물에 2분간 고정시키고, 제1보각을 잘라 slide glass위에 혈림프를 떨어뜨린 후 공기중에서 건조하여 김사(Giemsa) 염색액에 30분간 염색한 후 증류수로 수세하였다. 공기 중에서 건조한 후 Canadian Balsam으로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

전자현미경으로 관찰하기 위하여 채집한 방게의 제1보각을 잘라 2.5% glutaraldehyde-2% paraformaldehyde(0.1 M phosphate buffer, 4°C , pH 7.2)가 들어있는 eppendorf tube에 혈림프를 채취하여 2,500 g로 20분간 원심분리하였다. 상층액을 버리고 혈구를 2시간 30분동안 전고정한 후, 0.1 M phosphate buffer(4°C)로 10분간 3회 세척하였다. 1% osmium tetroxide(0.1 M phosphate buffer, 4°C , pH 7.2)로 2시간동안 후고정하고, 0.1 M phosphate buffer(4°C)로 10분간 3회 세척하였다. 이어서 상승농도순의 ethanol로 탈수하였고, Epon-812 혼합액으로 포매한 후, 60°C vacuum drying oven에서 36시간 중합하였고, 초박절편기로 $1 \mu\text{m}$ 두께의 절편을 만들어, 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰할 부위를 확인하였다. 확인된 부위를 초박절편기로 초박절편을 만들어 동grid에 부착하였고, uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경(Phillips CM-10, Holland)으로 80 KV에서 관찰하였다.

결과

광학현미경적 관찰

광학현미경상에 나타난 혈구는 Wood와 Visentin(1967), Hose 등(1990)의 분류 방법에 따라 투명혈구(hyalin hemocyte), 소과립혈구(small granulocyte), 그리고 대과립혈구(large granulocyte)로 분류하였다(Plate I).

투명혈구

크기는 $6 \sim 8.5 \mu\text{m}$ 이며, 직경 $5 \sim 7 \mu\text{m}$ 의 핵은 중앙에 위치하며, 광학현미경상으로는 과립을 구분할 수 없었다(Plate I, Figs. 2, 4).

PLATE I

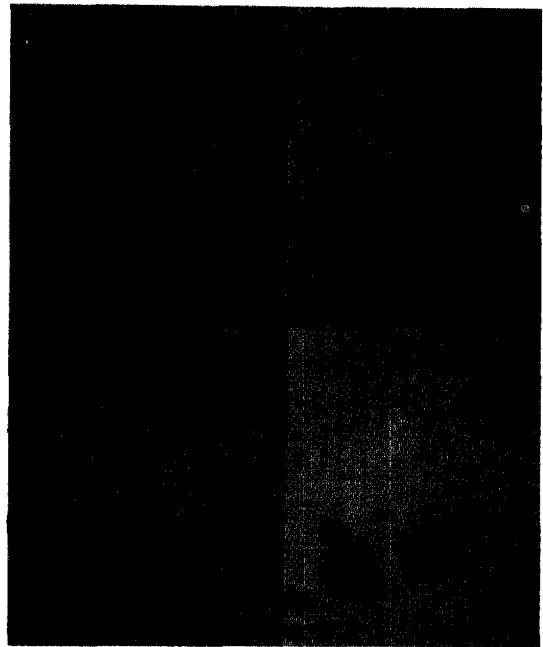


Plate I;

Fig. 1, 2. Hemocytes of male in March. (Fig. 1: $\times 260$, Fig. 2: $\times 1,000$) G: Granule, LG: Large Granulocyte, N: Nucleus, SG: Small Granulocyte.

Fig. 3. Hemocytes of female in May. ($\times 1,000$) H: Hyaline Cell, LG: Large Granulocyte, N: Nucleus, SG: Small Granulocyte.

Fig. 4. Hemocytes of male in March. ($\times 1,000$) H: Hyaline Cell, LG: Large Granulocyte.

소과립혈구

직경이 8~15 μm 로 길게 신장된 것이 많았다. 핵은 중앙이나, 한쪽으로 치우쳐 있기도 하였다. 핵의 크기는 6~7 μm 정도 이었다(Plate I, Figs. 2, 3).

대과립혈구

직경이 10~15 μm 이며, 길이가 22 μm 까지 되는 것도 있었다. 핵은 직경이 4.5~8 μm 으로 한쪽으로 치우쳐 있으며, 과립이 산재하여 있을 경우에는 핵이 관찰되지 않았다(Plate I: Figs. 2, 3, 4).

전자현미경적 관찰

과립의 유무, 크기에 따라 투명혈구와 과립혈구로 구분하고 과립혈구는 소과립혈구와 대과립혈구로 구분하여 다음과 같은 3가지 유형으로 분류하였다(Plate II).

투명혈구

투명혈구(Plate II: Fig. 1-H, Figs. 2~5)는 형태적으로 가장 변화가 큰 혈구로 주로 난형(Plate II: Fig. 1-H)이거나 원형(Plate II: Fig. 2)으로 세포질의 크기에 비해 핵이 매우 커서 직경 4.6 μm 이었고, 과립이 매우 적으며 전자밀도는 일반적으로 낮았다. 투명혈구의 크기는 직경 6~8 μm 정도이었다. 핵은 중앙에 위치하고 핵공도 잘 관찰되었다(Plate II: Fig. 2). 세포질에는 몇몇의 미토콘드리아가 있을 뿐이며, 골지체는 매우 드물게 보였다. 과립은 원형 또는 난형으로 전자밀도가 약해 과립의 막이 선명하였다(Plate II: Fig. 1). 과립의 크기는 다양하여 가장 큰 것은 0.5 μm 정도이었고, 과립이 적은 반면 소포들이 매우 많았다. 또한 세포질 내에는 매우 많은 글리코젠이 관찰되었다. Plate II의 Fig. 3과 4 및 5에서와 같이 좀 더 발달한 투명혈구는 핵의 중앙이 함입되곤 하였다. 핵막 주변에는 조면소포체가 매우 발달하였으며, 핵이 함입되는 곳에는 매우 큰 과립이 들어가 과립내의 리소솜효소가 핵막을 용해하여 소포를 계속 만들어내고 있었다(Plate II: Fig. 4). 또한 그 주

PLATE II

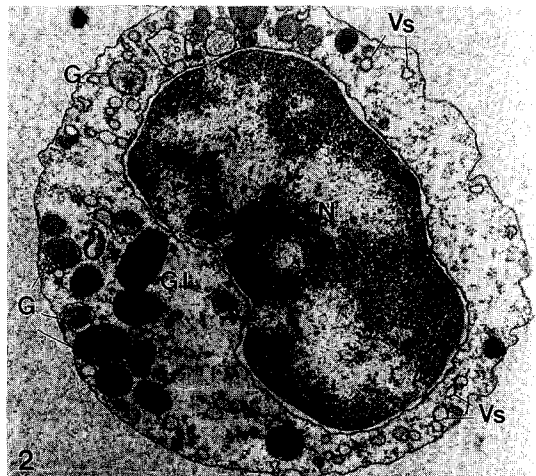
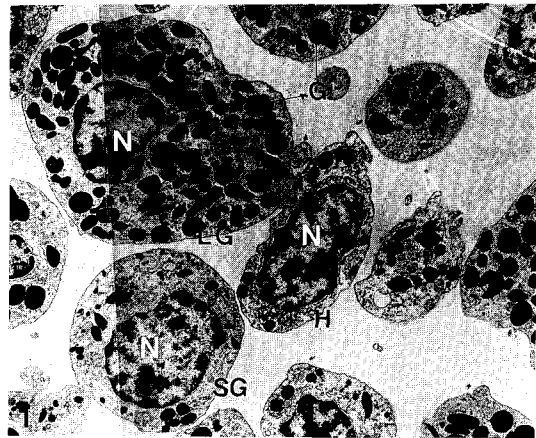


Plate II;

Fig. 1. The hemocytes of the male in August show hyaline cell (H), small granulocyte (SG), large granulocyte (LG). ($\times 4,400$)

Fig. 2. Hyaline cell of the female in March. Nucleus (N) are centric. Nuclear pores (arrows) are well observed. Many vesicles (VS) are present in the cytoplasm. Granules are present although not abundant. They have less electron density. ($\times 22,400$)

변에는 미토콘드리아가 다량 밀집되어 있었다.

소과립혈구

소과립혈구(Plate II: Fig. 1-S, Figs. 6~9)는 투명혈구에 비하여 더 크며(길이: 8.5~15 μm , 폭: 6~8 μm) 주로 타원형이지만 좀 더

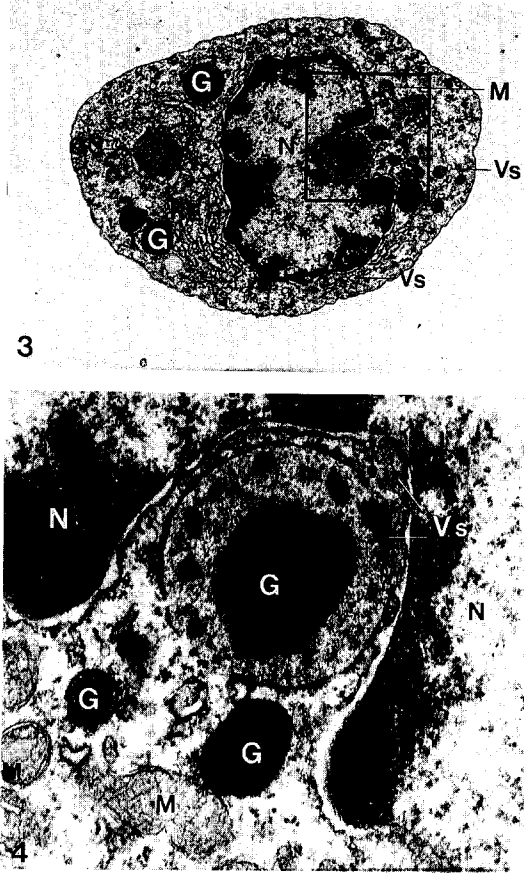


Fig. 3, 4. Hyaline cell of the male in March showing the formation of the vesicles (VS) from nuclear envelope by granule in the box. Fig. 4. ($\times 62,400$) shows the macrofication of box in Fig. 3. ($\times 10,576$). Lysosomal enzyme from granule attack upon the nuclear envelope (arrow), and destroyed nuclear envelope is changing into vesicles. Well-developed endoplasmic reticulum (ER), Golgi complex (GC), and mitochondria (M) are observed in the cytoplasm. RER: Rough Endoplasmic Reticulum.

발달하면 방추형으로 늘어나기도 하였다. 핵(길이: $5\sim 6\ \mu\text{m}$, 폭: $3\sim 4\ \mu\text{m}$)은 보통 함입되어 있으며 약간 길게 신장되기 시작하여 함입이 일어나, 마치 사람의 콩팥과 같은 모양이 되기도 하였다. 골지체가 나타나기 시작하며(Plate II: Figs. 6, 7), 핵막으로부터 소포들이 형성되는 것이 관찰되었고, 세포질내의 많은 소포들이 골지체를 지나면서 전자밀도가 강한 물질로 채워지고 있었다(Plate II: Fig. 6). 세포질 내에는

유리 리보솜이 나타나기도 하고, 미토콘드리아와 원추형의 과립이 세포질에 산재하고 있었다. 과립의 크기는 $0.2\sim 0.5\ \mu\text{m}$ 이었다. 소과립혈구는 발달하면서 핵이 점점 납작해지고 그 크기도 작아졌고(Plate II: Figs. 7, 8, 9), 방추형의 과립은 서로 융합하여(arrow in Figs. 7, 8 of Plate II) 원형으로 변하면서 그 크기도 커지고 있는 것이 관찰되었다. 또한 과립이 점점 커지면서 반대로 소포들은 그 수가 감소하였다. 세포질 내에는 원형이거나 길게 신장된 미토콘드리아와 조면소포체가 발달되어 있었다(Plate II: Figs. 7, 8). Plate II의 Fig. 9는 소과립혈구 중 가장 발달한 형태로 작은 과립들이 왕성하게 융합하고 있으며 가장 큰 과립의 직경은 거의 $1\ \mu\text{m}$ 이었다. 조면소포체는 다른 소과립혈구에 비하여 퇴화되어 있었다.

대과립혈구

대과립혈구(Plate II: Fig. 1-L, Figs. 10~13)는 길이가 $12.5\sim 14\ \mu\text{m}$ 이며, 폭은 $6.5\sim 9\ \mu\text{m}$ 이었다. 핵은 세포질에 비해 크기가 매우 작아 길이는 $4\sim 6\ \mu\text{m}$ 이며, 폭은 $3\ \mu\text{m}$ 이었다. 세포질내 과립은 그 크기가 더욱 커져서 직경 $1\ \mu\text{m}$ 내외가 많이 나타났고, 전자밀도도 매우 높았다(Plate II: Fig. 10). 소포와 병합된 것으로 보이는 이형과립도 나타났다(Plate II: Figs. 10, 12). Plate II의 Fig. 10은 아직 충분히 성숙되지 못한 대과립혈구의 가장자리 단면으로 골지체에서는 계속 과립이 생산되고, 소포체도 다소 관찰되며, 다양한 크기의 미토콘드리아들도 관찰되었다. Plate II의 Fig. 11에서 보는 바와 같이 더욱 성숙한 대과립혈구에서 핵은 한쪽으로 완전히 치우쳐있고 과립의 직경이 $1\ \mu\text{m}$ 이상인 과립이 많이 존재하며 소포체와 미토콘드리아의 수도 많이 감소하였다. Plate II의 Fig. 12는 충분히 성숙한 과립혈구로서, 핵은 더욱 작아졌고, 직경 $2\ \mu\text{m}$ 에 가까운 과립이 많이 관찰되었다. 대과립혈구중 Plate II의 Fig. 13과 같은 대과립혈구는 과립들이 핵 주위에 몰려 있으며, 많은 양의 글리코겐 입자들이 세포질의 외곽에 산재하고 있어, 광학현미경상으로는

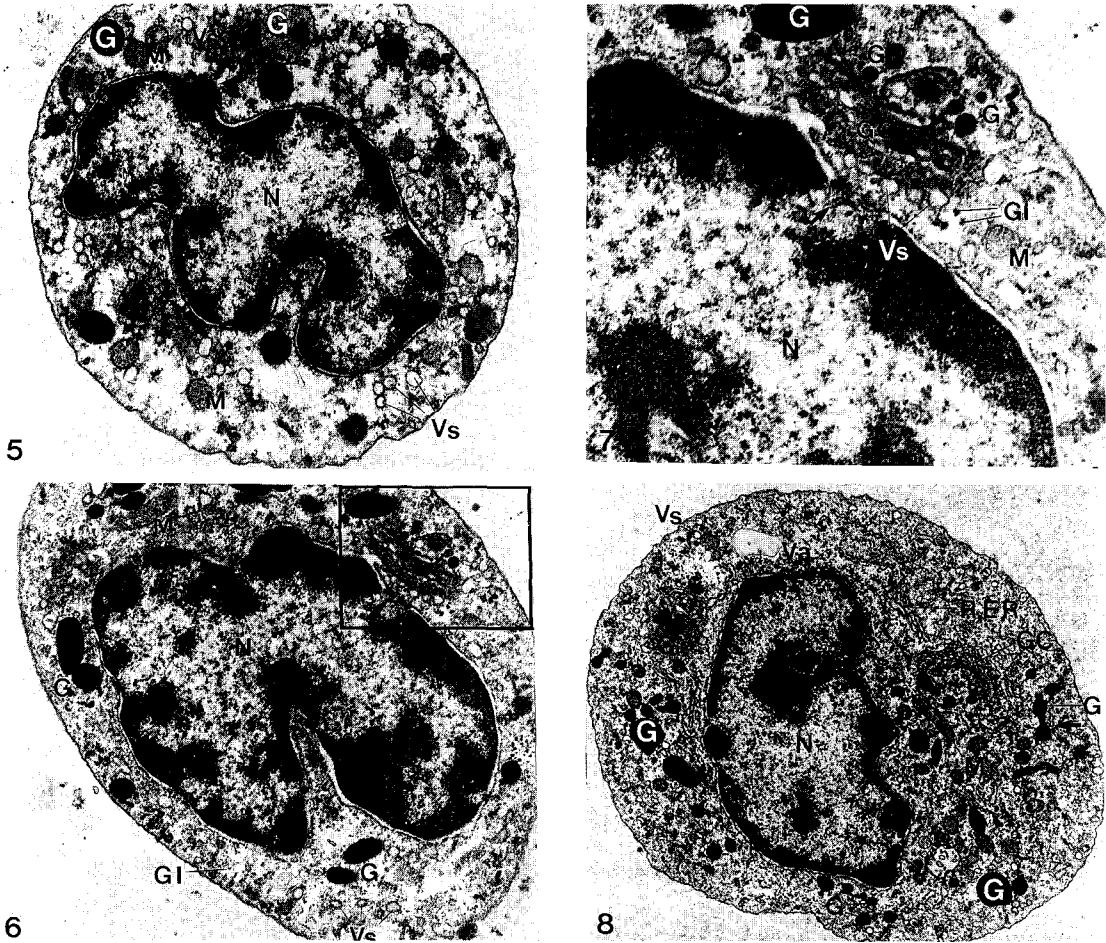


Fig. 5. Hyaline cell of the male in June. A bundle of vesicles (VS) are seen from destroyed nuclear envelope (arrow). ($\times 18,400$)

Fig. 6, 7. Small granulocyte of the male in June. They are characterized by presence of small and spindle-shaped granules (G). Vesicles were formed from nuclear envelope, which are changed into granules filled with density materials (box). Fig. 7 shows magnification of box in Fig. 6. Fig. 6: $\times 18,400$, (Fig. 7: $\times 36,800$)

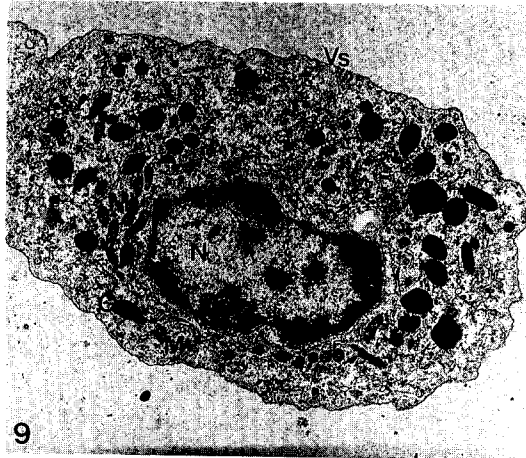
Fig. 8. Small granulocyte of the male in March. Small granules that passed through the Golgi complex (GC) fuse with each other (arrow). Nucleus is slightly eccentric. ($\times 14,200$)

과립과 핵을 거대한 하나의 핵으로 판단할 우려가 있었다.

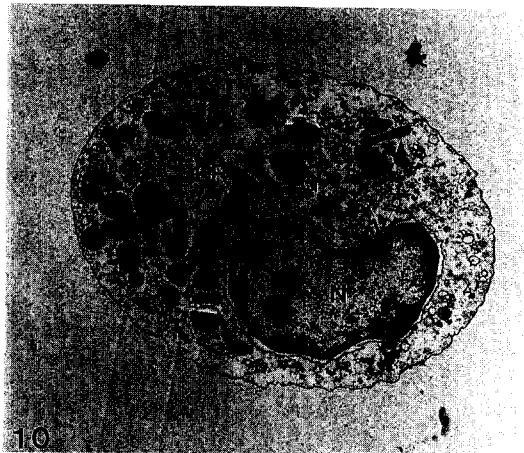
고찰

본 연구에서 혈구는 크게 투명혈구와 과립혈구로 구분하였고, 과립혈구는 다시 소과립혈구와 대과립혈구로 분류하였다.

갑각류 혈구의 연구사적 측면에서 보면 Haeckel(1857)은 과립성 무정형혈구 (granular amoebocyte)와 비과립성 무정형혈구 (nongranular amoebocyte)로 구분하였고, Hardy(1892), Kollman(1908), George(1941), George와 Nichols(1948)는 투명혈구와 과립혈구로 분류하였으며, Wood와 Visentin(1967)은 투명혈구, 소과립혈구 (small granulocyte), 그리고 대과립혈구



9

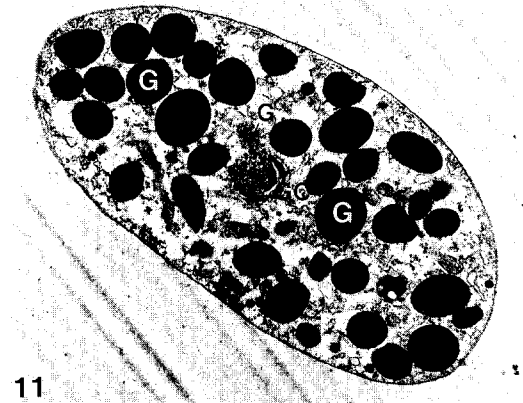


10

Fig. 9. Small granulocyte of the male in March. Nucleus is more eccentric and smaller than that in Fig. 7. The granules of various size granules are present in the cytoplasm. ($\times 10,500$)

Fig. 10. Small granulocyte of the female in March. Fused small and spindle-shaped granules (G) change into large and ovoid granules. ($\times 11,200$)

(large granulocyte)로 분류하였다. Bachau와 Brower(1972)는 투명혈구, 반과립혈구(semigranulocyte), 과립혈구, 그리고 지질단백혈구(lipo-proteinocyte)로, Aono(1992)는 *Panulirus japonicus*의 혈구를 원심분리밀도 등급에 따라 투명혈구, 반과립혈구, 과립혈구로, Martin과 Graves(1985) 그리고 Martin 등(1987)은 *Sicyonia ingentis*의 혈구를 투명혈구와 과립혈구로 구분하고, 과립혈구는 과립의 크기와 형태에 따라 소과립혈구와 대과립혈구로



11

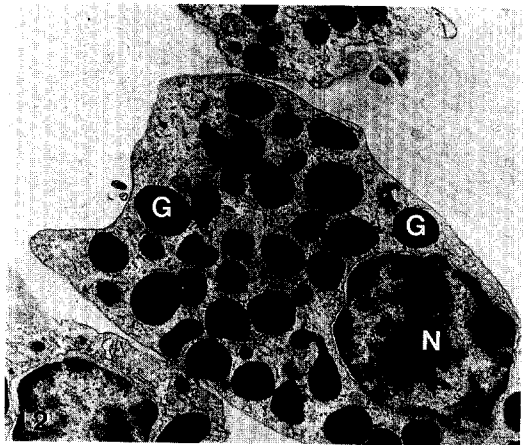


Fig. 11. Large granulocyte of the male in July. Many granules are large. Most of them are ovoid-shaped. Golgi complex makes the new small granules (arrow). ($\times 10,500$)

Fig. 12. Large granulocyte of the male in August. Nucleus is eccentric, placed nearly in the end of the cell. Much of cytoplasm is filled with the ovoid granules. ($\times 11,200$)

나누어, 세가지의 형태로 분류하였다. 최근에 Hose 등(1990)은 십각목의 *Homarus americanus*, *Panulirus interruptus*, 그리고 *Loxorhynchus grandis*의 혈구들을 형태와 세포화학, 그리고 기능 등을 기준으로 하여 갑각류의 혈구들을 투명혈구, 소과립혈구, 그리고 대과립혈구로 통일 할 것을 제의하였고, Barracco와 Amirante(1992)는 *Squilla mantis*의 혈구를 Hose 등의 기준과 동일하게 분류하였다. 이처럼 갑각류 혈구의 분류는 학자들에 따라 분

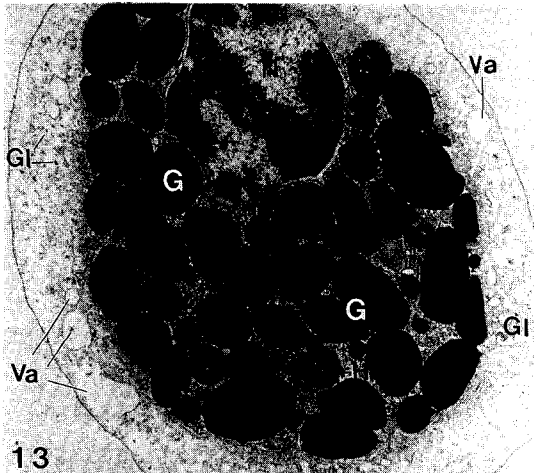


Fig. 13. Fully matured-large granulocyte of the male in July. Most of cytoplasm is filled with large and ovoidal granules, which are placed around nucleus. Distorted mitochondria are seen between granules. Some of heterogeneous granules (HG) are observed. Glycogen particles (Gl) are present in outer cytoplasm. ($\times 14,200$)

류용어와 분류기준도 약간씩 달라서 상당히 논란이 있으며, Ravindranath(1975)는 등각목 (*Ligia exotica*)의 혈구를 곤충혈구와 유사한 방법으로 분류하기도 하였다. 또한 Amirante (1986)와 같은 곤충학자는 한 때는 투명혈구와 소과립혈구를 무정형혈구(plasmocyte)로 간주하기도 하였으나 대부분의 연구자들은 각각류의 혈구를 용어 사용상의 차이일뿐 형태학적으로 투명혈구와 과립혈구 두가지의 기본적 형태로 구분하고 있다. 따라서 본 연구에서도 Martin 등 (1987)과 Hose 등(1990)의 분류기준을 이용하여 투명혈구와 과립혈구의 두가지 집단으로 크게 분류하였다(Plate I, II).

Bauchau와 Brower(1972, 1974), Martin과 Grave(1985), Martin 등(1987), Hose 등(1987, 1990)은 투명혈구는 원형 또는 타원형으로 핵이 세포질에 비해 크며, 세포질의 중앙에 위치하고, 투명혈구의 크기가 과립혈구 보다 작으며, 세포질내의 과립은 거의 없거나, 있는 경우에는 전자밀도가 약해 과립의 막이 선명하게 나타난다고 하였다. 본 연구에서도 이와 유사한 경향을 나타내고 있으며, 이와 유사한 형태를

Hoarau(1976)는 제1형혈구로 표현하였다. 또한 투명혈구 세포질내 소기관 존재는 관찰자에 따라 달라지고 있는데, Hose 등(1990)은 투명혈구의 세포질에는 골지체와 소포체가 관찰된다고 하였으나, Bauchau와 Brower(1972, 1974)와 Hoarau(1976)는 골지체가 존재하지 않는다 하였다. 본 연구에서 골지체는 간혹 관찰 할 수 있었는데, 이는 종에 따른 특성이거나, 좀 더 분화된 투명혈구에서 나타나는 것으로 생각된다.

소과립혈구의 특징은 투명혈구 보다는 크고 대과립혈구 보다는 작고, 대개는 둥글거나, 타원형이지만 방추형의 모습이 되기도 하며, 핵은 세포질에 비해 상당히 작고, 세포질의 중앙에 위치하며 납작해지기도 하고 함입이 일어난다. 골지체가 나타나며, 방추형의 과립이나 작고 둥근 과립들이 관찰된다(Martin *et al.*, 1987; Hose *et al.*, 1987, 1990). 이와 유사한 형태를 Bauchau와 Brower(1972, 1974)는 반과립혈구라 하였으며, Hoarau(1976)는 제2형혈구라 하였다. 본 연구에서도 소과립혈구는 주로 타원형이 많이 관찰되었다. 초기의 소과립혈구에서는 함입된 핵이 주로 관찰되었고, 과립이 발달하면서 핵이 점점 작아지는 유형을 나타내었다. 소과립혈구의 세포질에서는 투명혈구에 비해 미토콘드리아, 골지체, 소포체, 소포 등이 잘 발달해 있었는데, 과립을 형성하기 위해 가장 활발히 활동하는 것으로 생각된다.

대과립혈구는 가장 큰 혈구의 형태로 대개 핵이 한 쪽으로 치우쳐 있으며, 세포질내에는 $1\mu\text{m}$ 안밖의 원형 또는 타원형 과립들이 매우 풍부하다(Martin *et al.*, 1987; Hose *et al.*, 1987, 1990). Bauchau와 Brower(1972, 1974)는 이 유형의 혈구를 과립혈구라 칭하였고, 이 혈구의 세포질에는 글리코겐이 풍부하며, 전자 밀도가 달리 나타나는 이형과립이 나타난다고 하였다. 또한 Hoarau(1976)는 대과립혈구의 유형을 제4형혈구라 하였고, 소과립 혈구중 방추형의 큰 과립을 가지며, 골지체의 퇴화 현상을 보이는 것을 제3형혈구라고 하였다. 본 연구에서 대과립혈구는 이들 저자들과 비슷한 경향을 나타내고 있으나, 글리코겐의 존재는 투명혈구로

부터 대과립혈구에 이르기 까지 거의 모든 혈구에 존재하는 것으로 관찰되어 중간, 또는 환경간의 차이로 사료된다. Hoarau(1976)가 주장하는 제3형혈구는 본 연구에서 관찰한 바로는 소과립혈구에서 대과립혈구로 전이하는 형태라고 생각된다.

Bauchau와 Brower(1974)는 소과립혈구에서 작은 소포들이 골지체를 지나면서 과립이 형성되고 이들 과립들이 융합하여 대과립이 된다고 하였다. 본 연구의 결과도 투명혈구에서 수많은 소포들이 형성되었고, 이들 소포들이 골지체를 지나면서 작은 과립들이 형성되고 이들 과립들은 서로 융합하여 대과립이 형성되는 것이 관찰되어 투명혈구로 부터 대과립혈구로 발달한다고 생각된다.

갑각류에서 식균작용은 주로 투명혈구와 소과립혈구가 수행한다(Amirante, 1986; Söderhäll *et al.*, 1986). Wood 등(1971), Ravindranath(1975, 1980) 그리고 Hose 등(1990)은 투명혈구가 혈액응고와 관계 있다고 한 반면에, Toney(1958), Hearing과 Vernick(1967), 그리고 Mongeot 등(1976, 1987)은 과립혈구가 관계있다고 하였다. 또한 Aono 등(1993)은 *Panulirus japonicus*의 투명혈구와 반과립혈구가 혈액응고에 관여하며, 과립혈구는 혈액응고를 일으킬 수 있는 요인을 방출한다고 하였다. 본 연구에서 투명혈구의 과립은 리소솜효소를 갖는 점으로 미루어 혈액응고는 주로 투명혈구와 관계있으며, 과립혈구로 발달하는 중간 단계인 소과립혈구도 혈액응고와 약간의 연관이 있을 것으로 생각된다. 그 이외의 혈구기능으로서는 글리코겐의 저장, chitin합성(Johnston *et al.*, 1971, 1973; Bauchau and Mongeot, 1978; Bauchau, 1981), 그리고 hemocyanin 합성(Fahrenbach, W. H., 1970; Chirett-Magaldi *et al.*, 1977) 등이 알려지고 있고, 탈피나 먹이(Sewell, 1955), 생식과정(Bauchau and Plaquet, 1973)으로 인한 생리적인 변화의 가능성도 시사되고 있으며, 이에 대한 구체적인 형태 및 생리적인 변화에 관한 연구가 뒤따라야 할 것으로 사료

된다.

인용문헌

- Amirante, G.A., 1986. Cellular immune response in crustaceans, In: Hemocytic and Humoral immunity in Arthropods (Gupta, A., ed.). Wiley, New York, pp. 61-75.
- Aono, H., 1992. Interaction between cell types in hemocyte clotting system of spiny lobster, *Panulirus japonicus*. *Zool. Sci.* **9**: 1249.
- Aono, H., I. Oohara, and K. Mori, 1993. Cell type-specific roles in the hemocyte clotting system of the spiny lobster, *Panulirus japonicus*. *Comp. Biochem. Physiol.* **105A**: 11-15.
- Arnold, J.W. and C.F. Hinks, 1979. Insect Hemocytes Under Light Microscopy: Techniques, In: Insect Haemocytes (Gupta, A., ed.). Cambridge Univ., Press, pp.531-538.
- Barracco, M.A. and G.A. Amirante, 1992. Morphological and Cytochemical Studies of the Hemocytes of *Squilla mantis* (Stomopoda). *J. Crustacean Biol.* **12**: 372-382.
- Bauchau, A.G., 1981. Crustaceans, In: Invertebrate Blood Cells, Academic Press, New York, Vol. 2, pp. 386-420.
- Bauchau, A.G. and M.B. de Brower, 1972. Ultrastructure des hémocytes d'*Eriocheir sinensis*, Crustacé Décapode Brachyoure. *J. Microsc.* **15**: 171-179.
- Bauchau, A.G. and M.B. de Brower, 1974. Etude Ultrastructurale de la Coagulation de l'hémolymphe chez les Crustacés. *J. Microsc.* **19**: 37-46.
- Bauchau, A.G., M.B. de Brower, E. Passelecq-Gerin, and J.C. Mengeot, 1975. Etude cytochimique des hemocytes des crustacés décapodes brachyours. *Histochemistry* **45**: 101-113.
- Bauchau, A.G. and J.C. Mongeot, 1978. Structure et fonction des hémocytes chez les crustacés. *Arch. Zool. Exp. Gen.* **119**: 227-248.
- Bauchau, A.G. and J.C. Plaquet, 1973. Variation du nombre des hémocytes chez les Crustacés Brachyours. *Crustaceana* **24**: 215-223.
- Carus, D.C.G., 1824. Von den Ausseren Lebensbergungen der Weiss und Kaltblütigen Thiere, Leipzig, pp.80-87.
- Jeong, M.W., J.H. Kim, and W.K. Kim, 1994. Encapsulation of the hemocyte in *Hyphantria cunea*. *Korean J. Entmol.* **24**: 207-216.
- Chang, B.S., S.S. Han, and S.M. Yoe, 1994. Cellular

- Immune Response in Hemopoietic Organ of the Grasshopper, *Euprepocnemis shirakii* Bolivar. *Korean J. Entmol.* **24**: 335-342.
- Chirett-Magaldi, A.F. Chirett, and B. Salvato, 1977. The evolution of hemocynine. *Symp. Zool. Soc. Lond.* **38**: 513-523.
- Durliat, M., 1985. Clotting processes in Crustacea Decapoda. *Biol. Rev.* **60**: 473-498.
- Evans, P.D., 1972. The free amino acid pool of the hemocytes of *Carcinus maenas* (L.). *J. Exp. Biol.* **56**: 501-507.
- Fahrenbach, W.H., 1970. The Cyanoblast. Hemocyanin formation in *Limulus polyphemus*. *J. Cell Biol.* **44**: 445-453.
- George, W.C., 1941. Comparative haematology and the function of the leukocytes. *Q. Rev. Biol.* **16**: 426-429.
- George, W.C. and J. Nichols, 1948. A study of the blood of some crustacea. *J. Morphol.* **83**: 425-440.
- Haeckel, J., 1857. Über die Gewebe des Flusskrebse. *Müller's Arch. F. Anat. und Phys.* pp. 510-514.
- Hardy, B.A., 1892. The blood-corpuscles of the crustacea, together with a suggestion as to the origin of the crustacean fibrin-ferment. *J. Physiol.* **13**: 165-190.
- Hearing, V. and S.H. Vernick, 1967. Fine structure of the blood cells of the lobster *Homarus americanus*. *Chesapeake Sci.* **8**: 170-186.
- Hoarau, F., 1976. Ultrastructure des hémocytes de l'oniscoïde *Helleria brevicornis* Ebner (Crustacé Isopode). *J. Microsc. Biol. Cell.* **27**: 45-52.
- Hose, J.E., G.G. Martin, and A.S. Gerard, 1990. A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function. *Biol. Bull.* **178**: 33-45.
- Hose, J.E., G.G. Martin, V.A. Nguyen, J. Lucas, and T. Rosenstein, 1987. Cytochemical features of shrimp hemocytes. *Biol. Bull.* **173**: 178-187.
- Johnston, M.A., P.S. Davis, and H.Y. Elder, 1971. Possible hepatic function for crustacean blood cells. *Nature* **230**: 471-472.
- Johnston, M.A., H.Y. Elder, and P.S. Davis, 1973. Cytology of *Carcinus* hemocytes and their function in carbohydrate metabolism. *Comp. Biochem. Physiol.* **46**: 569-581.
- Kollman, M., 1908. Recherches sur les leucocytes et le tissulymphoïde des invertébrés. *Ann. Sci. Nat. Zool.* **9**: 1-238.
- Martin, G.G. and B.L. Grave, 1985. Fine structure and classification of shrimp hemocytes. *J. Morphol.* **185**: 339-348.
- Martin, G.G., J.E. Hose, and J.J. Kim, 1987. Structure of hematopoinic nodules in the ridgeback prawn *Sicyonia ingentis*: light and electron microscopic observations. *J. Morphol.* **192**: 193-204.
- Miller, R., G. Leaf, and P.N.R. Usherwood, 1973. Blood glutamate in arthropods. *Comp. Biochem. Physiol.* **44A**: 991-996.
- Mongéot, J.C., A. Bauchau, N.D. de Brower, and E. Plassalaq-Guerin, 1976. Séparation des granules présents dans les hémocytes des crustacés par exocytose provoqué. *Comp. Biochem. Physiol.* **54**: 145-148.
- Mongéot, J.C., A. Bauchau, N.D. de Brower, and E. Plassalaq-Guerin, 1987. Isolement des granules des hémocytes de *Homarus vulgaris*: Examens électrophoretiques du contenu protéique des granules. *Comp. Biochem. Physiol.* **58**: 393-403.
- Ratiner, S. and S.B. Vinson, 1983. Phagocytosis and encapsulation: cellular immune responses in Arthropoda. *Am. Zool.* **23**: 185-194.
- Ravindranath, M.H., 1975. Effects of temperature on the morphology of hemocytes and coagulation process in the mole-crab *Emertia (=Hippa) asiatica*. *Biol. Bull.* **148**: 286-302.
- Ravindranath, M.H., 1980. Hemocytes in haemolymph coagulation of arthropods. *Biol. Rev.* **55**: 139-170.
- Sewell, M.T., 1955. Lipo-protein cells in the blood of *carcinus maenas* and their cycle of activity correlated with the moult. *Q. J. Microsc. Soc.* **96**: 73-83.
- Söderhäll, K., V.J. Smith, and M.W. Hohansson, 1986. Exocytosis and uptake of bacteria by isolated haemocyte populations of two crustaceans evidence for cellular cooperation in the defence reactions of arthropods. *Cell Tissue Res.* **245**: 43-49.
- Stang-Voss, C., 1971. Zur Ultrastruktur der Blutzellen wirbelloser Tiere. V. Über die Hämocyten von *Astacus astacus* (L.) (Crustacea). *Z. Zellforsch.* **122**: 68-75.
- Toney, D., 1958. Morphology of the bloodcells of some crustacea. *Growth* **22**: 35-50.
- Wood, P.J., J. Podlewski, and T.E. Shenk, 1971. Cytochemical observations of the hemolymph cells during coagulation in the crayfish *Orconectes virilis*. *J. Morphol.* **134**: 479-488.
- Wood, P.J. and L.P. Visentin, 1967. Histological and histochemical observations of the hemolymph cells in the crayfish *Orconectes virillis*. *J. Morphol.* **123**: 559-567.

(Accepted April 3, 1995)

**Morphological Studies on Hemocytes of the Common Shore Crab,
Helice tridens tridens (Decapoda, Crustacea)**

Sang-Seon Yoon and Yong-Tai Noh (Department of Biology, College of Science,
Kon-Kuk University, Seoul 133-701, Korea)

In *Helice tridens tridens*, hyaline cells, small granulocytes, and large granulocytes were identified. Features of hyaline cells include a large nucleus in proportion to the cytoplasm, and weak electron-dense granules of oval shape and vesicles, and endoplasmic reticulum (ER) in the cytoplasm. Small granulocytes have smaller nucleus than that of the hyaline cells, well-developed ER, Golgi complex, and small, round and electron-dense granules in the cytoplasm. Large granulocytes contain large and electron dense granules (about 1 μm) that fused small granules. Hemocytes of *Helice tridens tridens* differentiated from hyaline cell to large granulocyte granules of hyaline cells have lysosome and make small vesicles from nuclear envelopes. While these vesicles pass through the Golgi complex, they are filled with electron dense materials, and then fused with the small granules. They eventually matured into large granules. All of hemocytes have the glycogen particles. In the large granulocytes heterogeneous granules were supposed to occur by disappearance of granules.