

소라, *Batillus cornutus* (Lightfoot, 1786) 혈구의 종류 및 미세구조적 특징

박정준¹, 김석렬², 이정식³, 박명애², 김재원⁴, 정귀권⁵

¹국립수산과학원 양식관리과, ²국립수산과학원 병리연구과, ³전남대학교 수산생명의학과,
⁴강원도립대학교 해양생명과학과, ⁵영광정보산업고등학교

Ultrastructural Characteristics and Categorization of the Hemocytes in Spiny Top shell, *Batillus cornutus* (Lightfoot, 1786) (Gastropoda: Turbinidae)

Jung Jun Park¹, Seok-Ryel Kim², Jung Sick Lee³, Myoung Ae Park¹, Jae Won Kim⁴ and
Jung Gui Kwon⁵

¹Aquaculture Management Division, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-902, Korea

²Pathology Division, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-902, Korea

³Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

⁴Department of Marine Life-Science, Gangwon Provincial College, Gangneung, Korea

⁵Yeonggwang Information Industry High School, Yeonggwang 513-851, Korea

ABSTRACT

Light and transmission electron microscopy of *Batillus cornutus* hemocytes revealed differences that the morphological distinctions between blast-like cell, granulocytes and hyalinocytes. Base on the morphological characteristics of the cells, we identified the eight types of hemocytes and present a categorization of the hyalinocytes into six sub-categories. The hemocytes of *B. cornutus* were observed basophilic cell under the light microscopy. Blast-like cells had a spherical profile with a central nucleus filling almost the whole cell. Granulocytes were characterized by presenting variable numbers of granules. This cell had spherical shape with diameter 7 μ m and smooth endoplasmic reticula, granules, mitochondria, glycogen granules in the cytoplasm. Hyalinocytes were the most abundant cell type. Especially, hyalinocyte VI had irregular an amoebal shape and observed autophagosome and heterophagosome in the cytoplasm. From these results, it is concluded that there are eight types of cells in the hemolymph of *B. cornutus*. Further studies are now needed to identify the role of these hemocytes in the enzymological and immunological response.

Key words: *Batillus cornutus*, hemocyte, granulocyte, hyalinocyte

서론

소라, *Batillus cornutus*는 연체동물문 (Mollusca), 복족강 (Gastropoda), 전새아강 (Prosobranchia), 원시복족목 (Archaeogastropoda), 소라과 (Turbinidae)에 속하며 대한

민국 동해남부와 남해안 및 제주도 연안일대와 일본의 남부 연안 그리고 중국의 황해 연안 등지의 암초성 해안에 서식하고 있는 정착성 복족류이다 (Yoo, 1988).

무척추동물은 식세포작용과 피막형성과 같이 세포를 이용한 방어 기작이 잘 발달되어있다 (Cheng and Auld, 1977). 식세포작용이란 acid phosphatase와 같은 라이소좀 효소 (lysosomal enzyme)를 이용하여 외부로부터 체내로 침입한 물질에 대항하는 기작으로 알려져 있다 (Meuleman, 1972). 특히 무척추동물의 혈구는 외인성 물질을 인지하고, 피막형성, 식세포작용, 세포독성반응, 결절형성, 배출과 같은 체내 면역 반응의 증추적인 역할을 수행한다 (Cheng and Galloway,

Received: November 14, 2012 ; Accepted: December 3, 2012

Corresponding author: Jung Gui Kwon

Tel: +82 (61) 352-4319 e-mail: kwon3524@hanmail.net

1225-3480/24455

1970; Matricon-Gondran and Letocart, 1999; Cavalcanti *et al.*, 2012).

혈액에 관한 연구로는 복족류의 혈액세포 종류 (George and Ferguson, 1950), 전복류 4종의 혈중 헤모시아닌 (hemocyanin) 농도 (Pilson, 1965), *Patella vulgata* (Davies and Partridge, 1972), *Cerithidea californica* (Yoshino, 1976) 그리고 무척추동물의 혈액세포 (Sminia, 1981), 연체동물의 백혈구형 혈액 (Bayne, 1983), *Haliotis cracherodii* (Jorgensen *et al.*, 1984) 와 *Viviparus ater* (Ottaviani, 1989) 의 혈액세포와 *Haliotis tuberculata*의 hemocyanin에 관한 연구 (Keller *et al.*, 1999; Lieb *et al.*, 1999; Harris *et al.*, 2000; Lieb *et al.*, 2000; Meissner *et al.*, 2000; Albercht *et al.*, 2001) 등 다수가 보고되고 있다.

기존에 복족류의 혈구에 관한 연구들은 과립세포와 무과립세포의 형태 및 기능적인 차이 또는 분포비율의 차이가 대부분이었으며, 특히 우리나라에서 복족류 중 전복과 더불어 가장 중요한 식량자원으로서 이용되고 있어 산업적으로 매우 중요한 위치에 있는 소라, *Batillus cornutus*의 혈구에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구의 목적은 소라 혈구의 미세구조적 특징을 관찰하여 소라의 면역반응 및 외인성 물질에 대한 방어기작에 관한 연구를 수행하는데 기초적인 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험종

본 연구에 사용된 소라, *Batillus cornutus*는 전라남도 완도군 청산면 모도리 연안에서 다이버에 의해 채집되었다. 실험에 사용된 소라의 각고 60.0-69.9 mm로서 20개체가 사용되었다.

2. 혈액채취

채집된 소라는 즉시 실험실로 옮겨와 각고 (shell height), 각폭 (shell width), 각구경 (aperture diameter), 개경 (operculum diameter), 전중량 및 육중량 등의 측정형질을 측정하였다. 소라의 혈구를 채취하기 위해 패각을 제거한 후 1 mL 주사기를 이용하여 아가미 아랫부분의 체강에서 체액을 채취하였다. 채취한 체액은 원심분리 튜브로 옮겨 고정액으로 고정한 후 3000 rpm으로 20분 동안 원심분리하여 혈구만을 모아 조직표본을 제작하였다.

3. 조직학적 분석

원심분리하여 모아진 혈구들은 광학현미경 관찰용 조직표본 제작하기 위해 Bouin's solution에 12시간 동안 재고정하였다. 시료들은 파라핀 포매법을 이용하여 두께 3-5 μm 의 연속

절편을 제작하였다. 제작된 조직표본은 Mayer's hematoxylin-eosin (H-E) 비교염색과 Masson's 삼중염색, Periodic acid-Schiff's solution (PAS) 반응, Alcian blue and periodic acid-Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

투과전자현미경으로 관찰 할 혈구들은 원심분리전 30분 동안 1.5 mL 원심분리 튜브에서 2.5% glutaraldehyde에서 30분 동안 전고정 후 3000 rpm으로 20분 동안 원심분리하여 혈구만을 모아 혈구 덩어리를 만들었다. 이후 시료들은 2.5% glutaraldehyde로 24시간 동안 재 고정하고, 1% osmium tetroxide (OsO_4) 로 4°C의 암실에서 2시간 동안 후 고정하였다. 고정이 끝난 조직은 70%에서부터 100%까지의 에탄올로 15분씩 점차적으로 탈수하여 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5 μm 의 semithin section 후 관찰부위를 결정 한 다음 70 nm 두께로 ultrathin section을 하였다. Ultrathin section은 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이중 염색하여 투과전자현미경 (JEM-1200EX II, JEOL)으로 관찰하였다.

결 과

파라핀 절편법으로 제작된 조직표본에서 여러 가지 형태의 혈구들이 관찰되었으나 핵의 크기 및 모양과 일부 과립의 존재 유무로만 혈구의 종류를 구분할 수 있었다 (Fig. 1).

투과전자현미경 표본과 semithin 표본 관찰 결과, 혈구는 핵의 형태 및 크기 또한 세포 자체의 크기 및 형태에 따라 표 1에서와 같이 구분하였다.

미성숙 혈구 (blast-like cell) 는 semithin 표본에서는 핵만 염색되어 작은 구형으로 관찰되었다 (Fig. 2A) 투과전자현미경 관찰결과 이들은 직경 4.5-5.5 μm 로서 세포의 형태는 불완전한 구형이며, 세포질의 가운데에는 세포의 50% 이상을 차지하고 있는 지름 2-3 μm 인 원형의 핵이 존재하고 있었다 (Fig. 2B).

과립세포 (granulocyte) 는 직경 약 7 μm 크기의 원형이었다. 핵은 직경 4 μm 크기의 원형으로 세포의 중심에 위치하며, 핵막 주변과 핵질 가운데 일부에서 이형염색질이 발달되어 있었다. 세포질에서는 비교적 전자밀도가 낮고 크기가 다양한 과립들과 발달된 미토콘드리아 그리고 글리코겐 과립들이 관찰되며, 특히 잘 발달된 활면소포체들이 세포질에 고르게 분포하고 있었다 (Fig. 3).

초세포 I (hyalinocyte I) 는 이들은 장경 약 8 μm , 단경 약 5.5 μm 크기의 타원형이었다 (Figs. 4A, B). 핵은 세포의 중심에 위치하며, 장경 약 5.3 μm , 단경 약 3.6 μm 크기의 타원형으로 핵막 주변과 핵질 가운데 일부에서 이형염색질이 발달되어 있었다. 세포질에서는 발달된 미토콘드리아와 글리코

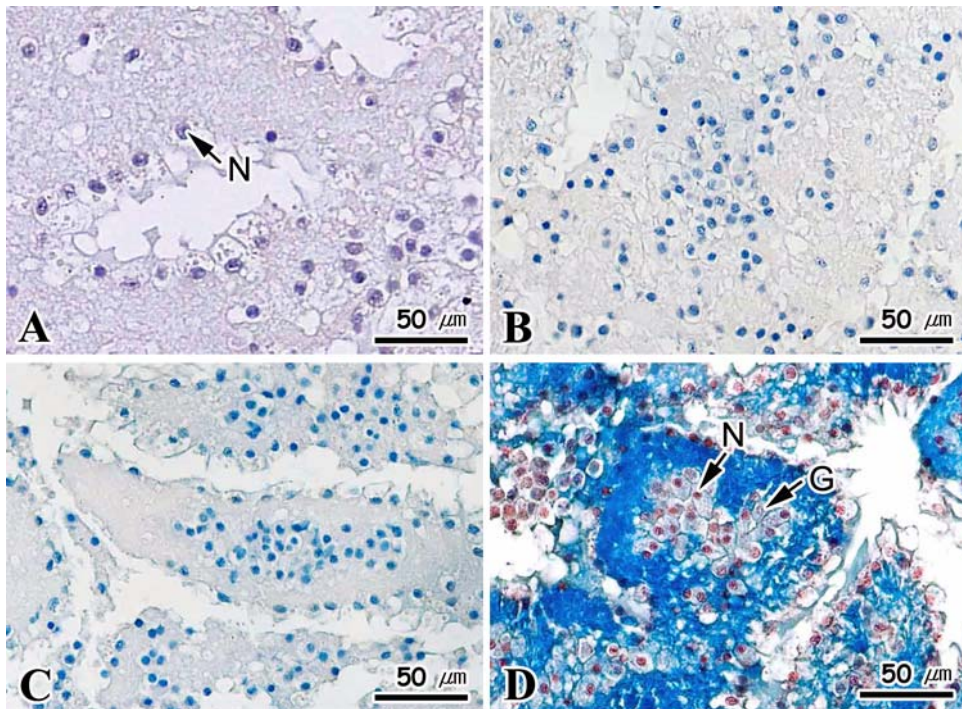


Fig. 1. Photomicrograph of hemocytes of the spiny top shell, *Batillus cornutus*. **A:** H-E stain. **B:** PAS reaction. **C:** AB-PAS (pH 2.5) reaction. **D:** Masson's trichrome stain. G, granule; N, nucleus.

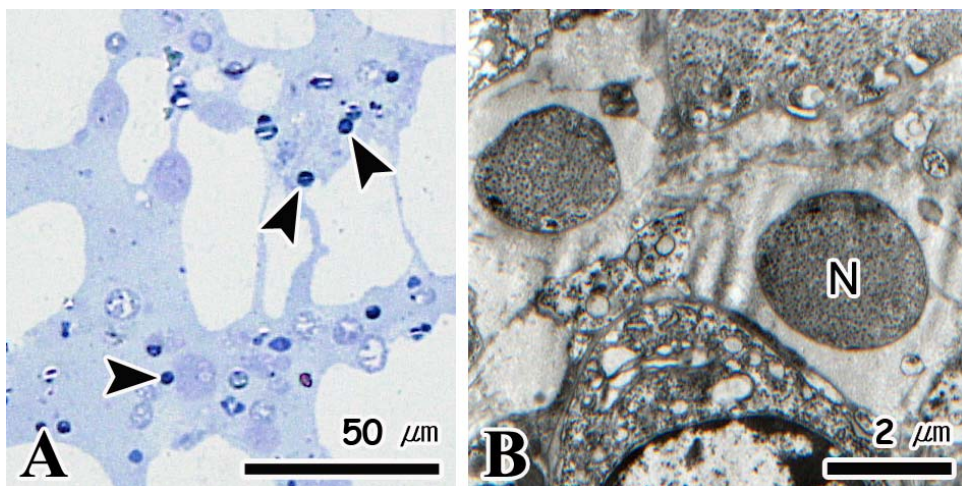


Fig. 2. Ultrastructure of the blast-like cell of the spiny top shell, *Batillus cornutus*. **A:** Semithin section, showing the blast-like cell (black arrowhead). **B:** Note the large centrally located nucleus (N) almost filling the whole cell. ≡ ≡

겐과립들이 관찰되었으며, 다수의 발달된 활면소포체와 일부 조면소포체들이 세포질에 고르게 분포하고 있었다. 그리고 수는 적지만 소형의 환층판 구조를 확인할 수 있었다 (Fig. 4B).

초자세포 II (hyalinocyte II) 는 타원형으로 장경 약 8.6 μm , 단경 약 6.6 μm 크기였다 (Figs. 5A, B). 핵은 세포의 중심에 위치하며, 장경 약 4.2 μm , 단경 약 3.2 μm 크기의

타원형으로 핵막 주변과 핵질의 상당 부분을 전자밀도가 높은 이형염색질이 차지하고 있었다. 세포질에서는 핵 주위에 활면소포체들과 소수의 미토콘드리아 그리고 직경 1 μm 내외의 용해소체들이 관찰되었다 (Fig. 5B).

초자세포 III (hyalinocyte III) 는 장경 약 13.2 μm , 단경 약 7.3 μm 크기의 긴 타원형이었다 (Figs. 5A, C). 핵은

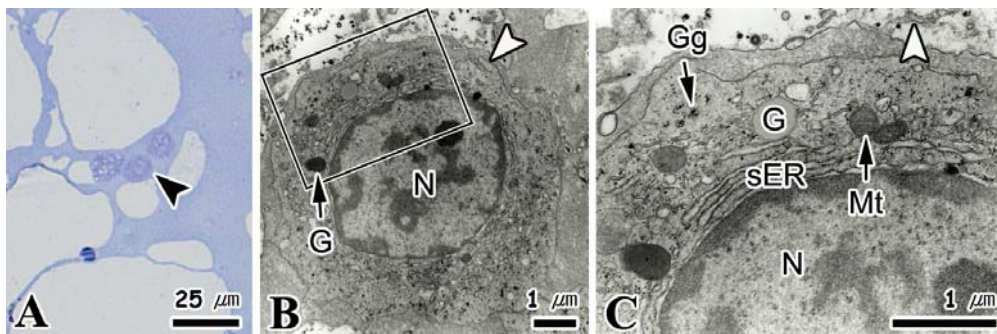


Fig. 3. Ultrastructure of the granulocyte of the spiny top shell, *Batillus cornutus*. **A:** Semithin section, showing the granulocyte (black arrowhead). **B:** Granulocyte, note the filopodia (white arrowhead). **C:** High power view of the rectangular area in the B micrograph showing the smooth endoplasmic reticula (sER), granules (G), mitochondria (Mt) and filopodia (white arrowhead). Gg, glycogen granule; N, nucleus.

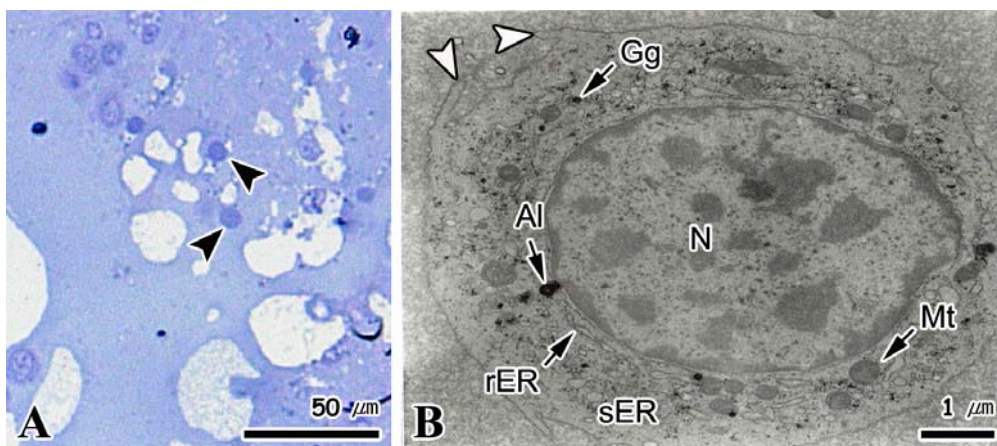


Fig. 4. Ultrastructure of the hyalinocyte I of the spiny top shell, *Batillus cornutus*. **A:** Semithin sections, showing the granulocyte (black arrowhead). **B:** hyalinocyte I, note the filopodia (white arrowhead). Al, annulated lamella; Gg, glycogen granule; Mt, mitochondrion; N, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum; sER, smooth endoplasmic reticulum.

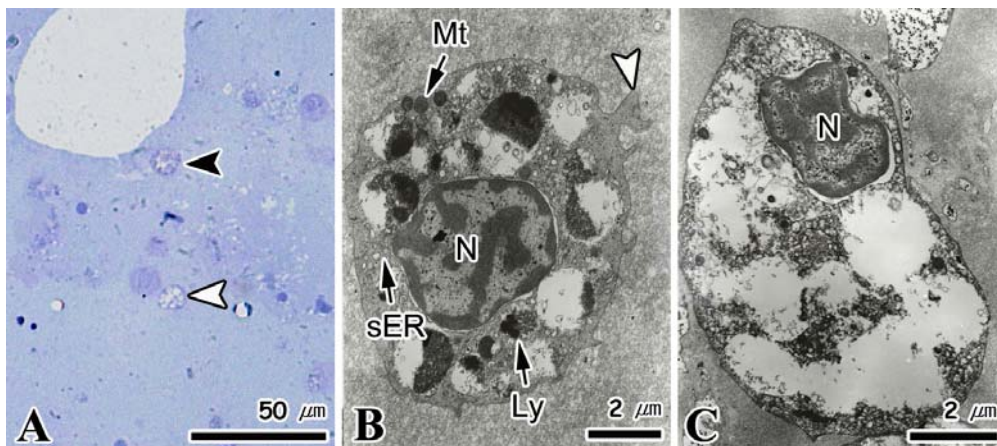


Fig. 5. Ultrastructure of the hyalinocyte II and III of the spiny top shell, *Batillus cornutus*. **A:** Semithin section, showing the hyalinocyte II (black arrowhead) and hyalinocyte III (white arrowhead). **B:** Hyalinocyte II, note the pilopodia (white arrowhead). **C:** Hyalinocyte III. Ly, lysosome; Mt, mitochondrion; N, nucleus; sER, smooth endoplasmic reticulum.

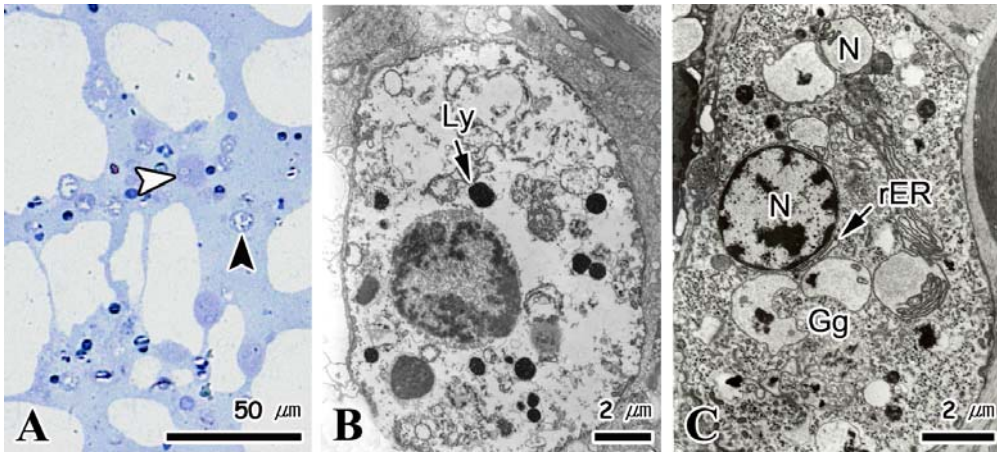


Fig. 6. Ultrastructure of the hyalinocyte IV and V of the spiny top shell, *Batillus cornutus*. **A:** Semithin section, showing the hyalinocyte IV (black arrowhead) and hyalinocyte V (white arrowhead). **B:** Hyalinocyte IV. **C:** Hyalinocyte V. Gg, glycogen granule; Ly, lysosome; N, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum.

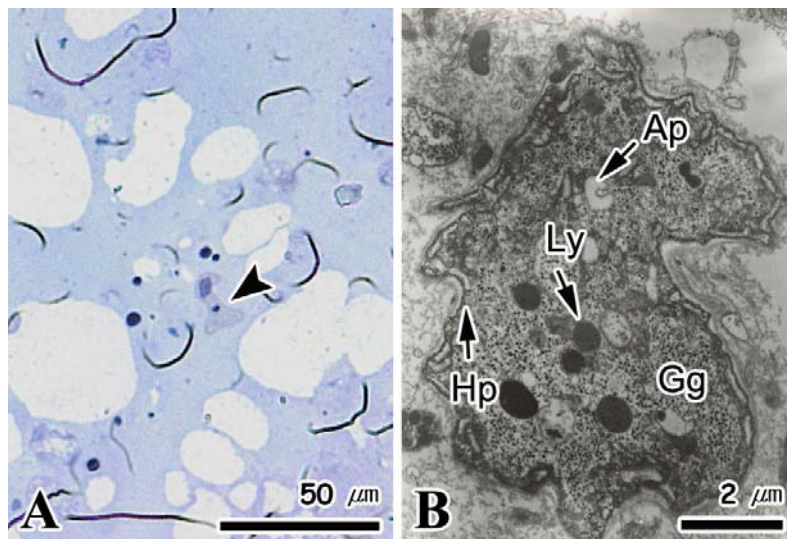


Fig. 7. Ultrastructure of the hyalinocyte VI of the spiny top shell, *Batillus cornutus*. **A:** Semithin section, showing the hyalinocyte VI (black arrowhead). **B:** Hyalinocyte VI. Ap, autophagosome; Hp, heterophagosome; Gg, glycogen granule; Ly, lysosome.

세포의 한 쪽 측면에 위치하며 전체적으로 전자밀도가 높은 편이다. 세포질의 대부분은 전자밀도가 매우 낮은 대형의 공포들이 차지하고 있었다 (Fig. 5C).

초자세포 IV (hyalinocyte IV) 는 장경 약 14.5 μm , 단경 약 10.3 μm 크기의 타원형이었다 (Figs. 6A, B). 세포질의 전자밀도는 매우 낮았으며, 직경 약 4 μm 크기의 대형 용해소체와 전자밀도와 크기가 다양한 소형의 용해소체들이 분포하고 있었다 (Fig. 6B).

초자세포 V (hyalinocyte V) 는 장경 약 12.8 μm , 단경

약 7.0 μm 크기의 세포로서 핵은 원형이었으며 (Figs. 6A, C), 핵질에서는 전자밀도가 매우 높은 이형염색질이 뚜렷이 구분되었으며, 핵막 주변의 세포질에서는 잘 발달된 조면소포체가 관찰되었다. 세포질 전체에는 글리코겐과립들이 고르게 분포하고, 일부에서는 미세한 섬유상 물질을 가진 전자밀도가 낮은 공포들이 분포하고 있었다 (Fig. 6C).

초자세포 VI (hyalinocyte VI) 는 형태가 불규칙한 아메바형 (Fig. 7) 으로 세포질에 전체적으로 글리코겐 과립들이 분포하므로 전자밀도는 높은 편이었다. 세포막 근처에서는 이식

Table 1. Characteristics of hemocytes of the spiny top shell, *Batillus cornutus*

| Cell type | Characteristics |
|-----------------|---|
| Blast-like cell | Oval profile |
| Granulocyte | Spherical profile (7 μ m) |
| Hyalinocyte I | Oval profile (8 \times 5.5 μ m) |
| Hyalinocyte II | Oval profile (8.6 \times 6.5 μ m) |
| Hyalinocyte III | Long oval profile (13.2 \times 7.3 μ m) |
| Hyalinocyte IV | Oval profile (14.5 \times 10.3 μ m) |
| Hyalinocyte V | Oval profile (12.8 \times 7.0 μ m) |
| Hyalinocyte VI | Irregular an amoebal profile |

Table 2. A categorization of the hemocyte in gastropod from the previously studies

| Species | Sub-categories | | Reference |
|---|----------------|-------------|---------------------------------|
| | Hyalinocyte | Granulocyte | |
| <i>Trachea vittata</i> <i>Indoplanorbis exustus</i> <i>Pila globosa</i> | I | I-III | Mahilini and Rajendran (2008) |
| <i>Biomphalaria glabrata</i> <i>B. straminea</i> | I-III | I | Cavalcanti <i>et al.</i> (2012) |
| <i>Turbo (Batillus) cornutus</i> | I-II | I | Donaghy <i>et al.</i> (2010) |
| <i>Batillus cornutus</i> | I-VI | I | In this study |

포 (heterophagosome) 가 관찰되며, 세포질 내부에는 전자 밀도가 다양한 용해소체와 자식포 (autophagosome) 가 분포하고 있었다 (Fig. 7B).

고 찰

혈구 (hemocyte) 는 호흡과 운반에 중요한 역할을 하는 체액성분의 일종으로 전새류에 속하는 고등류의 혈구들은 색소를 함유하지 않기 때문에 백혈구성이다 (Bayne, 1983). 그것들은 전형적인 아메바성 세포이다. 세포내에 과립을 함유한 혈구는 과립세포 (granulocyte) 라고 부르고, 과립을 함유하지 않은 경우에는 무과립세포 (agranulocyte) 또는 초자세포 (hyalinocyte) 라고 부른다 (Sminia, 1981).

George와 Ferguson (1950) 는 신복족목, 물레고둥과에 속하는 *Busycon carica* 의 혈액에서 과립세포와 초자세포를 보고했다. 표 2에서 보이는 것처럼 Donaghy *et al.* (2010) 의 결과와 마찬가지로 소라, *B. cornutus* 의 혈액에는 과립세포보다 초자세포의 종류가 더 많은 것으로 나타났다.

소라, *B. cornutus* 의 6종류 초자세포 중에서 한 종류는 비정형의 아메바성으로 관찰되었다. Davies and Partridge 저너 (1972) 는 *Patella vulgata* 의 혈구 중 대부분이 아메바성이고 1%가 직경 30-50 μ m의 거대세포 (macrophages) 임을 발견했다. Sminia와 Barendsen (1980) 은 *Lymnaea stagnalis* 와 기안목 또아리물달팽이과에 속하는 *Biomphalaria glabrata* 와 *Bulinus truncatus* 에 대한 혈구의 형태와 미세구조에서 한 가지 타입의 세포로 amoebocyte를 보고하였다.

본 연구에서 소라, *B. cornutus* 의 모든 종류의 혈구들은 호염기성의 특징을 나타내었다. 특히 미성숙 혈구의 경우에는 크기가 작고 강한 호염기성의 특징을 보였기 때문에 광학현미경 상에서 쉽게 구별이 가능하였다. *Biomphalaria glabrata* 와 *B. straminea* 의 경우에도 과립세포와 초자세포 모두 호염기성의 특징을 보였다 (Cavalcanti *et al.*, 2012). 하지만 *Trachea vittata*, *Indoplanorbis exustus*, *Pila globosa* 의 혈구들 중에서 과립세포 III은 호산성의 특징을 보였는데 이 세포는 세 종류의 과립세포 중에서 가장 크면서 분포비율이 가

장 낮은 세포였다 (Mahilini and Rajendran, 2008). 굴, *Crassostrea gigas*의 혈액 중에서 과립을 가지는 아메바성 혈구는 광학현미경으로 관찰하였을 때 호산성의 특징을 보였으며, 세포질에 존재하는 과립은 섬유성 과립으로 관찰되었다 (Ruddell, 1971). 본 연구에서 관찰된 과립세포의 경우 세포질에 존재하는 과립은 전자밀도가 낮은 균질한 과립물질을 가지고 있었으며, 아메바성 형태를 가지는 초자세포 VI은 세포질에 과립이 존재하지 않았다. 따라서 일반적으로 과립세포들은 호산성의 특징을 보인다고 할 수 있지만 과립안에 존재하는 과립물질의 특징에 따라서 호산성 혹은 호염기성의 특징을 보이는 것으로 추측된다.

복족류 혈액내 혈구들의 분포비율은 *B. glabrata*의 경우 미성숙 혈구 45%, 과립세포 4%, 초자세포 51% 정도였으며 (Cheng and Auld, 1977; Cavalcanti *et al.*, 2012), *Turbo (Batillus) cornutus*에서는 미성숙 혈구 4%, 과립세포 3%, 초자세포 93%였다 (Donaghy *et al.*, 2010). 본 연구에서는 정확한 비율을 분석하지는 못하였지만 과립세포는 한 종류인데 반해 초자세포는 6가지로 관찰되었으며, 광학현미경을 이용한 semithin 조직표본에서도 초자세포가 더 많이 관찰되었다.

복족류의 혈구들은 filopodia와 lobopodia로 구별되어지는 세포질 돌출부위 (cytoplasmic projection) 가 관찰된다. 대부분의 연구들에서는 초자세포 보다 과립세포에서 더 많은 세포질 돌출부위가 관찰된다 (Cheng and Auld, 1977; Barracco *et al.*, 1993). 하지만 *Biomphalaria glabrata*와 *B. straminea*에서는 초자세포에서 더 많은 세포질 돌출부위가 관찰되었다 (Cavalcanti *et al.*, 2012). 또한 Cheng and Guida (1980)의 연구보고에 따르면 과립세포에는 filopodia와 lobopodia 둘 다 형성되어지고, 초자세포에는 주로 lobopodia가 형성된다. filopodia의 주 기능은 기질 부착이며, lobopodia의 주 기능은 운동기작이라고 보고하였다. 그러므로 혈구를 세포배양 하였을 때 초자세포 보다 과립세포들이 배양 용기의 벽에 더 많이 붙어 있는 것을 확인할 수 있었다. 특히 과립세포의 경우에는 세포질 돌출부위로 인하여 혈구의 형태적 변화가 나타날 수도 있고, 과립세포의 경우에는 분당 4 μm 까지 이동이 가능하다. 또한 다양한 환경 오염물질에 노출된 이매패류와 달팽이류의 경우 과립세포의 비율이 높아졌다는 연구결과가 보고되었다 (Seiler and Morse, 1988; Marigomez *et al.*, 1990). 따라서 과립세포는 식세포로서의 기능을 수행하며, 초자세포는 영양분 흡수 및 운반의 기능을 수행할 것으로 추측된다. 즉 과립세포에 존재하는 filopodia의 주 기능은 외부침입물질을 포획하여 식작용을 도와주기 위한 부속기관으로 생각된다.

본 연구에서는 투과전자현미경 관찰 결과, 혈구는 일곱 종류

의 혈구가 구분되었는데, 초자세포 III은 세포질내에 라이소좀 및 글리코겐 과립의 형성이 미약하였다. 하지만 초자세포 III 뿐만 아니라 다른 세포들의 정확한 기능을 파악하기 위해서는 효소학적 및 면역학적인 연구를 추가적으로 수행해야 할 것으로 판단된다.

요 약

전라남도 완도군 인근연안에서 채집된 소라, *Batillus cornutus*의 혈구를 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 혈구의 종류 및 미세구조적인 특징을 연구하였다. 광학현미경 상에서 소라의 혈구들은 호염기성 세포로 관찰되었다. 혈구의 형태학적인 특징으로 분류를 하였을 때 소라의 혈구는 모두 8종류로 나눌 수 있었다. 미성숙 혈구는 직경 약 4.5-5.5 μm 로서 세포질 내에 지름 2-3 μm 인 원형의 핵이 대부분을 차지하고 있었다. 과립세포는 직경 약 7 μm 로서 세포질에는 전자밀도가 낮고 크기가 다양한 과립들과 미토콘드리아, 글리코겐 과립들이 관찰되었다. 초자세포는 핵의 크기 및 세포질에 존재하는 미세소관의 특징에 따라 6종류로 세분화 할 수 있었다. 초자세포 III은 라이소좀 및 글리코겐 과립의 형성이 미약하여 식세포의 기능 보다는 영양분의 흡수 및 운반 기능을 수행하는 것으로 판단되며, 특히 초자세포 VI은 형태가 불규칙한 아메바형으로 세포질에 글리코겐 과립의 분포가 높고, 이식포와 자식포가 분포하고 있었다. 따라서 이들 혈구들의 정확한 기능을 파악하기 위해서는 효소학적 및 면역학적 연구를 추가적으로 수행해야 할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 2012년 국립수산과학원의 시험연구사업 지원을 받아 수행된 연구임 (RP-2012-AQ-117)

REFERENCES

- Albercht, U., Keller, H. and Gebauer, W. (2001) Rhogocytes (pore cells) as the site of hemocyanin biosynthesis in the marine gastropod *Haliotis tuberculata*. *Cell Tissue Research*, **304**: 455-462.
- Barraco, M.A., Steil, A.A. and Gargioni, R. (1993) Morphological characterization of the hemocytes of the pulmonate snail *Biomphalaria tenagophila*. *Memórias Do Institute Oswaldo Cruz*, **88**: 7
- Bayne, C.J. (1983) Molluscan immunobiology. *In*: The Mollusca Vol. 5, Physiology Part 2, Saleuddin, A.S.M. and K.M. Wilbur, eds. Academic press, New York, pp. 407-486.
- Cavalcanti, M.G.S., Filho, F.C., Mendonça, A.M.B., Duarte, G.R., Barbosa, C.C.G.S., De Castro, C.M.M.B., Alves, L.C. and Brayner, F.A. (2012) Morphological characterization of hemocytes from

- Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea*. *Micron*, **43**: 285-291.
- Cheng, T.C. and Auld, K.R. (1977) Hemocytes of the pulmonate gastropod *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **30**: 119-122.
- Cheng, T.C. and Galloway, P.C. (1970) Transplantation immunity in molluscs: the histoincompatibility of *Helisoma duryi* normale with allografts and xenografts. *Journal of Invertebrate Pathology*, **15**: 177-192.
- Cheng, T.C. and Guida, V.G. (1980) Behavior of *Bulinus truncatus rohlfsi* hemocytes (Gastropoda: Pulmonata). *Transactions of the American Microscopical Society*, **99**: 101-111.
- Davies, P.S. and Partridge, T. (1972) Limpet haemocytes. I. Studies on aggregation and spike formation. *Journal of Cell Science*, **11**: 757-769.
- Donaghy, L., Hong, H.-K., Lambert, C., Park, H.-S., Shim, W.J. and Choi, K.-S. (2010) First characterisation of the populations and immune-related activities of hemocytes from two edible gastropod species, the disk abalone, *Haliotis discus discus* and the spiny top shell, *Turbo cornutus*. *Fish and Shellfish Immunology*, **28**: 87-97.
- George, W.C. and Ferguson, J.H. (1950) The blood of gastropod molluscs. *Journal of Morphology*, **86**: 315-327.
- Harris, J.R., Scheffler, D., Gebauer, W., Lehnert, R. and Markl, J. (2000) *Haliotis tuberculata* hemocyanin (HtH): analysis of oligomeric stability of HtH1 and HtH2, and comparison with keyhole limpet hemocyanin KLH1 and KLH2. *Micron*, **31**: 613-622.
- Jorgensen, D.D., Ware, S.K. and Redmond, J.R. (1984) Cardiac output and tissue blood flow in the abalone, *Haliotis cracherodii* (Mollusca: Gastropoda). *Journal of Experimental Zoology*, **231**: 309-324.
- Keller, H., Lieb, B., Altenhein, B., Gebauer, D., Richter, S., Stricker, S. and Markl, J. (1999) Abalone (*Haliotis tuberculata*) hemocyanin type 1 (HtH1). Organization of the \approx 400 kDa subunit, and amino acid sequence of its functional units f, g and h. *European Journal of Biochemistry*, **264**: 27-38.
- Lieb, B., Altenhein, B., and Markl, J. (2000) The sequence of a gastropod hemocyanin (HtH1 from *Haliotis tuberculata*). *Journal of Biological Chemistry*, **275**: 5675-5681.
- Lieb, B., Altenhein, B., Lehnert, R., Gebauer W., and Markl, J. (1999) Subunit organization of the abalone *Haliotis tuberculata* hemocyanin type 2 (HtH2) and the cDNA sequence coding for its functional unit d, e, f, g and h. *European Journal of Biochemistry*, **265**: 134-144.
- Mahilini, H.M. and Rajendran, A. (2008) Categorization of hemocytes of three gastropod species *Trachea vittata* (Muller), *Pila globosa* (Swainson) and *Indoplanorbis exustus* (Dehays). *Journal of Invertebrate Pathology*, **97**: 20-26.
- Marigomez, J.A., Cajaraville, M.P. and Angulo, E. (1990) Cellular cadmium distribution in the common winkle, *Littorina littorea* (L.) determined by X-ray microprobe analysis and histochemistry. *Histochemistry*, **94**: 191-199.
- Matricon-Gondran, M and Letocart, M. (1999) Internal defenses of the snail *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **74**: 224-234.
- Meissner, U., Dube, P., Harris, J.R., Stark, H. and Markl, J. (2000) Structure of a molluscan hemocyanin didecamer (HtH1 from *Haliotis tuberculata*) at 12 Å resolution by cryoelectron microscopy. *Journal of Molecular Biology*, **298**: 21-34.
- Meuleman, E. (1972) Host-parasite interrelationships between the freshwater pulmonate *Biomphalaria pfeiferi* and the trematode *Schistosoma mansoni*. *Netherlands Journal of Zoology*. **22**: 355-427.
- Ottaviani, E. (1989) Hemocytes of the freshwater snail *Viviparus ater* (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of Mollusca. Studies*, **55**: 379-382.
- Pilson, M.E.Q. (1965) Variation of hemocyanin concentration in the blood of four species of *Haliotis*. *Biological Bulletin*, **128**: 459-472.
- Ruddell, C.L. (1971) The fine structure of the granular amebocytes of the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of invertebrate Pathology*, **18**: 169-275.
- Seiler, G.R. and Morse, P. (1988) Kidney and hemocytes of *Mya arenaria* (Bivalvia): normal and pollution-related ultrastructural morphologies. *Journal of Invertebrate Pathology*, **52**: 201-214.
- Sminia, T. (1981) Gastropods. *In*: *Invertebrate Blood Cells*, Ratcliffe, N.A. and A.F. Rowley, eds. Academic Press, New York, pp. 191-232.
- Sminia, T. and Barendsen, L. (1980) A comparative morphological and enzyme histochemical study on blood cell of the freshwater snails *Lymnaea stagnalis*, *Biomphalaria glabrata*, and *Bulinus truncatus*. *Journal of Morphology*, **165**: 31-39.
- Yoo, J.S. (1988) Korean shells in color. Iljisa Publishing Co., Seoul, pp. 196.
- Yoshino, T.P. (1976) The ultrastructure of circulating hemolymph cells of the marine snail *Cerithidea californica* (Gastropoda: Prosobranchiata). *Journal of Morphology*, **150**: 485-494.