

## 한국산 작은 말거머리 (*Whitemenia edentula*)의 상피조직과 선세포의 구조적 특성

장 남 섭  
목원대학교 이공대학 생물학과

### Structure of Epithelium and Gland cells in a Korean leech, *Whitemenia edentula*

Chang, Nam Sub  
Mokwon Univ., Dept. of Biology, Taejon 301-729, Korea  
(Received November 8, 1996)

#### ABSTRACT

Dorsal and ventral epithelium of leech, *Whitemenia edentula*, were observed, using both light and electron-microscope. Results are as follows.

Epithelia are composed of simple columnar or irregularly-shaped epithelium, the transversal folds were seen in the cross-sectioned dorsal and ventral epithelia, but only longitudinal folds(depth 500  $\mu\text{m}$ , width 350  $\mu\text{m}$ ) were discovered in the ventral epithelium.

As to muscular tissue under the dorsal epithelium of *Whitemenia edentula*, that of longitudinal muscle layer is thicker and more developed than that of circular muscle layer.

Seven gland cells (type-A, B, C, D, E, F and H cells) and one pigment cell (type-G cell) were discovered in the *whitemenia edentula*. Those were identified as three kinds of the neutral mucopolysaccharide granules (type-A, B and F cells), two kinds of acidic mucopolysaccharide granules (type-C and D cells), and two kinds of non-reactive granules respectively (type-E and F cells).

The granules of the type-A and type-B gland cells are electronly high-dense, and surrounded by the muscular tissue.

As to the distribution of gland cells, the type-A, type-B, type-C, type-D, type-E and type-H gland cells were discovered only between the connective tissue and the circular muscle layer, while type-F gland cells were discovered only between the circular muscle layer and the longitudinal muscle layer.

**Key words** : Epithelial cell, Gland cells, Leech.

## 서 론

환형동물 거머리류에 관한 연구는 1862년 Gratiolet에 의해 *Hirudinea medicinalis*의 신경절에 관한 연구를 시작으로 많은 고전적 연구가 있다(Bürger, 1891, 1894; Whitman, 1886, 1892; Moore, 1900a, b; Castle, 1900). 이어, 소화관에 관한 연구는 물부昧(物部)에 관한 연구(Scriban and Anstrum, 1934; Harant와 Grassé, 1959; Sawyer *et al.*, 1982), 인두(Damas, 1972), 소낭(Hammerson and Pokahr, 1972a) 및 장(Hammerson and Pokahr, 1972b; Sawyer *et al.*, 1982)에 관한 연구가 있다. 순환기관에 관해서는 거머리의 표피층 밑 Dorsal sinus와 ventral sinus 그리고 2개의 lateral sinus 등 4개의 Hemocoelomic system을 통해 혈림프를 몸 전체로 순환시키고, 표피와 수서환경 사이에 가스 교환을 하며, 배설물까지도 처리하는 것으로 보고되었다(Boroffke and Hamp, 1969).

1950년경 이후에는 생식기관에 관한 연구가 활발히 이루어졌는데, 정자 형성에 관해서는 Bonet와 Brake (1958), Nekhaev (1957, 1959) 및 Molinas (1988), 난자 형성에 관해서는 Clark (1965), Rahemtulla와 Løvtrup (1975) 등이 있었다. 그러나 거머리 표피상피에 관한 연구는 비교적 희소하고 대부분 점액세포의 형태적 연구(Clark, 1965; Rahemtulla and Løvtrup, 1975)에 국한된데 비해, Fernandez 등(1982)은 *Hirudinea medicinalis*의 표피 상피조직에서 큐티클층, 상피층 그리고 진피층 등을 각각 관찰하고, 그중 큐티클층은 두께가 1.5  $\mu\text{m}$  정도로서 어두운 부분의 바깥층과 밝은 부분의 중간층, 그리고 역시 밝은 부분의 내면층 등 3부분으로 구성되어 있음을 확인하였다. 특히 바깥층의 epicuticle층은 전자밀도가 높은 fibrilla band로 구성되어 있고, 위로는 상피성 융모가 밀생되어 있으며 콜라겐섬유도 존재한다고 하였다. 오래된 큐티클층이 벗겨지고 새로운 큐티클층이 만들어질 때는 상피세포속에 RER과 사립체가 크게 증가하는 경향이 있다고도 하였다(Bercktold, 1985). 그 이외에, 상피조직의 재생에 관한 연구와 선세포에 관한 많은 연구가 있지만(Huguet and Molinas, 1985,

1986, 1987, 1988, 1992), 상피세포와 분비선을 부위별로 구분하여 그 특징을 관찰한 연구(Chang, 1995)는 매우 드문 실정이다. 이에 본 연구에서는 한국산 작은 말거머리(*Whitemenia edentula*)를 재료로 하여 연구한 결과를 한국산 거머리 *Erpobdella lineata* (Chang, 1995)와 비교 검토하고자 본 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

1996년 5월경 충남 홍성군 홍성읍 홍북면에 소재한 논에서 한국산 작은 말거머리(*Whitemenia edentula*)를 채집하였고 실험실로 운반한 후, 재료로 사용하였다.

거머리가 수축하는 것을 방지하기 위하여 30% 알콜로 마취를 행한 후 해부하여 관찰 부위인 표피상피조직의背側部와腹側部를 부위별로 떼어낸 다음, 2.5% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde (인산완충용액, pH 7.3)용액에 2시간 전고정을 하고 이어서 인산완충용액(pH 7.3)으로 5분씩 3회 세척을 하였다. 계속해서 1% OsO<sub>4</sub> (인산완충용액, pH 7.3)에 2시간 후고정을 하고 단계적으로 아세톤을 사용하여 탈수한 다음 Epon 812에 포매하였다. 이어 초박절편기(LKB-V ultramicrotome)를 사용하여 1  $\mu\text{m}$  두께의 절편을 만들고 이를 toluidine blue로 단일 염색을 하였으며, 광학현미경에서 정확한 부위를 확인한 다음 초박절편을 만들었다. 또한 과립의 호염성과 호산성을 각각 확인하기 위하여 methylene blue-basic fuchsin 이중염색(이하 m-b 이중염색이라고 칭함)과 Hematoxyline-eosin 이중염색(이하 H-E 이중염색이라 칭함)을 행하고, 산성 및 중성점액 다당류를 확인하기 위해서는 PAS-Alcian blue (pH 2.5)반응을 수행하였다. 초박절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하고, 투과전자현미경 JEM 100CX-II (80 KV)로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 광학현미경 관찰

#### 1) 복측 상피조직 (Ventral epithelium)

작은 말머리(*Whitemenia edentula*) 복측 상피조직은 많은 가로 주름들이 깊이 500  $\mu\text{m}$ 와 폭 350  $\mu\text{m}$ 으로 깊이 패어져 있으며, 그 밑으로는 550  $\mu\text{m}$  정도 두께의 환상근육층과 600  $\mu\text{m}$  정도 두께의 중주근층으로 둘러싸여 있었다(Figs. 1, 2). 특히 복측 상피조직을 구성하는 세포는 매우 불규칙하여 긴 타원형이거나 원추형으로 되어 있고 m-b 이중염색에서 methylene-philum을 나타내었다. 상피조직은 부위에 따라 고무풍선처럼 크게 팽출되면서 상피로부터 이탈되는 현상도 가끔 관찰되었는데 이 때 상피조직속에 들어 있던 alcianophilia성 물질까지도 배출되는 것으로 보였다.

복측 상피조직 및 결합조직에서는 6종류의 선세포와 1종류의 색소세포가 관찰되었다. 즉, 서양배형태의 선세포(직경 60 $\times$ 80  $\mu\text{m}$ , A형 선세포라 칭함)와 두 종류의 관상구조형 선세포(직경 20 $\times$ 60  $\mu\text{m}$ , 5 $\times$ 50  $\mu\text{m}$ , B형 및 C형 선세포라 칭함)(Figs. 4, 5), 약간 둥글거나 불규칙한 형태의 염색성이 없는 작은 선세포(직경 25  $\mu\text{m}$ , D형 선세포라 칭함), 크고 둥근 과립들을 소지하고 있는 불규칙한 형태의 선세포(직경 15 $\times$ 45  $\mu\text{m}$ , E형 선세포라 칭함)(Fig. 9), 두 종류의 과립을 포함하는 둥근 선세포(직경 20 $\times$ 30  $\mu\text{m}$ , F형 선세포라 칭함)(Fig. 13) 그리고 1종류의 작고 둥근 색소세포 등이다. 이들 선세포의 분포에 있어서는 A형, B형 및 C형 선세포들은 상피조직 및 결합조직과 환상근육층의 상층부에서만 대부분 관찰되고(Figs. 4, 5) 그 하단에서는 거의 찾아 볼 수 없는 반면, D형과 E형 선세포는 주로 환상근육층과 중주근층 사이에서(Fig. 9), 그리고 F형 선세포는 중주근층 깊은 곳에서만 관찰되는 특징을 보였다(Fig. 13). m-b 이중염색에서 A형, C형, E형 및 F형 선세포와 색소세포 등은 모두 methylenophilia를 나타낸 반면, B형 선세포는 basophilia를 나타내었다. PAS-alcian blue (pH 2.5)반응에서는 A형과 B형은 PAS에 양성반응을 나타낸 반면, C형은 alcianophilia를 보였고, D형은 과립을 감싸는 막만이 alcianophilia를 나타내었다. 그러나 E형과 F형 그리고 색소세포 등은 아무 반응이 없었고, 다만 과립만이 검게 보일 뿐이었다. 그러나 H-E 이중염색에서는 D형 선세포를 제외한 모든 선세포들은 정도의 차이는 있으나 Hematoxylin에 양성반응을 나타낸 바 있다.

과립의 형성과정 중 특이한 것은 A형과 B형 과립들은 주로 근육 속에서 형성되고(Fig. 12), 과립이 성숙한 후에는 근육층이 점점 얇아지면서 과립들이 근육층 밖으로 배출되거나, 얇은 근육층에 둘러싸인 상태로 존재하는 경우가 많았다(Figs. 4, 5). 그러나 이외의 과립들은 원형질막으로만 둘러싸여 있을 뿐 근육층은 확인되지 않았다.

## 2) 배측상피조직 (Dorsal epithelium)

작은 말머리의 배측부 상피조직은 복측부와는 달리 가로로 달리는 뚜렷한 주름이 없고, 상피조직의 두께도 100  $\mu\text{m}$  정도로 나타나 복측부의 약 1/5 정도 수준이었다. 상피조직을 구성하는 세포는 복측부처럼 불규칙하거나, 긴 타원형으로서 결합조직에까지 하강되어 나타나는 경우가 대부분 이었고 상피조직이 박리되는 현상도 관찰되었다. 상피조직 및 근육층의 발달도 복측부보다 훨씬 미약하여 그 두께가 20  $\mu\text{m}$  정도인 환상근층이 위와 아래 두줄로 있었고, 그 밑으로는 450  $\mu\text{m}$  정도 두께의 두터운 중주근층이 있었다(Fig. 3). 선세포는 배측부에서도 6종류가 관찰되었는데, A형 선세포는 배측부인 경우 복측부 보다 그 수도 많고, 형태도 비교적 컸다(크기 70 $\times$ 90  $\mu\text{m}$ ), 그러나 B형과 C형 선세포는 그 수도 적고 형태도 작게(크기 10 $\times$ 40  $\mu\text{m}$ ) 나타나는 반대현상을 보였는데, 이는 등피와 배피가 적응해야 하는 환경과 역할이 서로 다르기 때문인 것으로 사료되었다. 또한 이들 6종류의 선세포들이 지닌 염색성도 복측부와 같은 결과였지만 과립의 분포는 복측부와 약간 다른 양상을 보였다. 즉 A형과 B형 선세포는 상피조직 및 결합조직에서 보다 그 밑의 발달된 환상근층과 중주근층 사이에서만 대부분 관찰된 반면(Fig. 13), D형과 G형은 복측부 상피조직과 같은 부위에서 관찰되었다.

## 2. 전자현미경 관찰

광학현미경에서는 6종류의 선세포와 1종류의 색소세포가 관찰된 반면, 전자현미경 관찰에서는 7종류의 선세포와 1종류의 색소세포가 확인되었다. 광학현미경에서 C형으로 관찰된 선세포가 전자현미경을 통한 관찰에서는 C형과 H형으로 구분되었기 때문이다(Figs. 7, 16).

Table 1. Staining reaction of the secretory granules in cell types.

Stain	Cell types							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Methylene blue	+++		+++					++
Basic fuchsin		+++						
PAS	+++	+++						
Alcian blue (pH 2.5)			+++	+++				
Hematoxylin	++	++	++		++	+++	++	++
Eosin	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations ; +++, strong ; ++, moderate ; +, weak ; -, negative

전자현미경 관찰에서 A형 선세포는 직경 1.3  $\mu\text{m}$  정도 두께의 근육층으로 둘러싸여있고, 과립들은 0.5~1.5  $\mu\text{m}$  정도 크기의 전자밀도가 높은 둥근형태로 나타났다. 성숙된 과립들 사이에서 농축층에 있는 여러 단계의 과립들도 관찰되었다(Fig. 6).

B형 선세포는 그 크기가 6 $\times$ 15  $\mu\text{m}$  정도였고, 세포 주위에는 1  $\mu\text{m}$  정도 두께의 근육층으로 둘러싸여 있었다. 과립들은 전자밀도가 높아서 겹쳐 관찰되고 이들은 서로 합체되는 현상도 보였다(Fig. 8). 그러나 근육층으로 둘러싸여있지 않은 C형 선세포는 그 크기가 2.5 $\times$ 15  $\mu\text{m}$  정도로, 과립들은 B형에 비해 비교적 작았다(Fig. 7).

그러나 D형은 전자밀도가 낮아서 밝게 관찰되고 과립들은 0.4~1  $\mu\text{m}$  정도 크기였으며, 주로 상피조직 밀 환상근육층 사이에서 관찰되었다(Fig. 10).

이러 환상근육층 사이에서 D형 선세포 이외에 E형 선세포도 관찰되는데, 이들은 전자밀도가 높아서 겹쳐 관찰된 세포질속에 직경 1.2 $\times$ 1.8  $\mu\text{m}$ ~0.3 $\times$ 0.7  $\mu\text{m}$  정도 다양한 크기의 타원형의 지방성 과립들을 소지하고 있었다(Fig. 11).

F형 선세포는 환상근층과 종주근층 및 결합조직에서 확인되었는데, 이들은 10 $\times$ 11  $\mu\text{m}$  정도 크기의 타원형 또는 원형의 세포로서 세포질 속에는 전자밀도가 다소 높은 0.6  $\mu\text{m}$  정도인 결정과립들을 다수 소지하고 있을 뿐 아니라 1.8  $\mu\text{m}$  정도 크기의 지방과립들도 성글게 포함하고 있었다(Fig. 14).

그러나 0.1  $\mu\text{m}$  미만의 전자밀도가 매우 높은 작은 과립들을 다수 포함하는 G형 세포는 색소세포로 알려졌는데(Fig. 16), 이들은 관상구조형 선세포나 D형

선세포 주위에서 많이 확인되었다.

특이한 경우는, 광학현미경에서 C형으로 분류되었던 세포가 전자현미경 관찰에서 H형 세포로 확인된 경우인데, 이 세포는 비교적 작고 세포질 속에는 다양한 크기의(0.1~0.6  $\mu\text{m}$ ) 전자밀도가 높은 구형의 과립들과 불규칙한 형태의 수많은 공포들(0.1~0.7  $\mu\text{m}$ )을 소지하는 특징을 보였다(Fig. 16). 이 세포는 근육조직 사이 D형 세포 대부분과 혼재되어 나타났다.

## 고 찰

거머리 상피조직의 재생에 관한 연구는 *Hirudo medicinalis*를 대상으로 한 연구(Huguet and Molinas, 1992)가 있다. 이 논문에서 Huguet와 Molinas(1992)는 상피조직이 재생 초기에는 편평형이었다가 완성 시기에는 원주형으로 형태 변화를 일으킨다는 보고를 한 바 있고, Chang(1994)은 *Eryobdella lineata*의 전, 후 흡반을 대상으로 하여 관찰한 결과 흡반 상피조직이 원주형 또는 불규칙한 형태로 구성되어 있음을 확인한 바도 있다. 이어 Chang(1995)은 같은 종의 등피 및 배피 상피조직이 키가 큰 원주형이거나 불규칙 세포로 구성되어 있어 흡반을 구성하는 세포와 별 차이가 없음도 확인하였다.

그러나 *Whitemenia edentula*를 대상으로 한 본 연구에서는 등피와 배피를 구성하는 상피세포가 원주형 또는 불규칙형 이외에도 상피세포의 일부가 결합조직 밀 깊숙이 내려와 있는 경우도 종종 관찰되었다.

거머리 *Hirudo medicinalis* (Huguet and Molinas,

1992)인 경우 과립의 종류는 배피와 등피에서 서양배 형태의 선세포와 관상구조형 선세포 등 2종이 관찰된 바 있고, *Erpobdella lineata* (Chang, 1995)에서는 위 두 종의 선세포와 색소성 선세포(C형 선세포)가 추가로 관찰된 바 있다. 그러나 본 실험에서 사용한 작은 말거머리의 상피조직에서는 위에서 언급한 서양배 형태의 선세포(A형 선세포)와 관상구조형 선세포(B형 선세포) 이외 Basophilia를 나타내는 관상구조형 선세포(C형 선세포), m-b 이중염색에서 염색성이 없는 선세포(D형 선세포), 두 종류의 과립을 포함하는 타원형의 큰 선세포(F형 선세포) 등 4종류가 더 관찰되었다. 특이한 것은 *Erpobdella lineata* (Chang, 1995)와 *Hirudo medicinalis* (Huguët and Molinas, 1992)에서는 관상구조형 선세포가 methylenophilia를 나타내는 한 종류만이 관찰된데 비해, 본 실험에서는 Basophilia를 나타내는 종 등 두 종류가 관찰된 것이 특징이라 하겠다. 그러나 모든 거머리에서 공통적으로 관찰된 A형 선세포의 과립은 그 형성 과정이 본 실험에서는 매우 특이하게 관찰되었는데, 보통 과립들은 세포질내 과립성 또는 무과립성 내형질세망을 거쳐 골지체 등에서 농축 형성되는 것이 상례인데 비해, *Whitemenia edentula*에서는 근육층 속에서 형성되는 특징을 보였다. 처음에는 근육층내 결합조직에서 형성된 과립들이 그 수가 많아지면서, 근육층은 점점 얇아지고, 결국 과립들은 얇아진 근육층을 뚫고 결합조직속으로 배출되거나 상피외로 분비되었다. 모든 A형 선세포는 물론이고, methylenophilia성 B형 선세포까지도 이들 근육층에 의해 감싸여 있는 결과를 보였지만, 같은 관상구조형 선세포라도 basophilia성인 C형은 근육으로 둘러싸여 있지 않은 것이 특징이었다. 물론 이 두 종류의 선세포들은 얇은 근육층으로 싸여 있는 것을 제외하고는 형태적 특징이 서로 비슷하였지만, 과립의 형성 과정이나 염색성이 다른 것으로 미루어 이들은 서로 다른 종류의 선세포일 것으로 사료되었다. 전자현미경에서 관찰된 *Erpobdella lineata*의 A형 및 B형 선세포의 과립들은 *Whitemenia edentula*에서 관찰된 A형 및 C형 선세포 과립의 크기와 모양 그리고 전자밀도 등이 서로 비슷하였지만, *Erpobdella lineata* 경우에는 A형 선세포의 검고 둥근 과립속에 수많은 흰 반점들을 포함하는 특징을 보였다.

그러나 *Hirudo medicinalis* (Molinas and Huguët, 1992)의 A형 선세포내 과립들은 전자밀도가 낮은 기질 속에 검은 반점을 포함하고 있어, *Erpobdella lineata*와는 상반되는 현상을 나타내었다. 이로 미루어 같은 선세포내 과립일지라도 종에 따라서 전자밀도가 각각 다르게 나타날 수 있음을 알 수 있었다. 특히 복측 상피조직 밑에서 관찰된 선세포들(A형 및 B형)은 배측 상피조직 밑에서 관찰된 과립들보다 한층 두터운 근육층에 의해 둘러싸여 있었지만 선세포의 크기와 수는 오히려 배측부가 더 뚜렷하였다. 선세포의 수와 크기에 관해서는 *Erpobdella lineata*를 재료로 한 Chang (1995)의 연구 결과와도 일치한 바 있다.

선세포의 분포에 관한 연구에서 Chang (1995)과 Huguët와 Molinas (1992)는 A형 선세포들이 주로 상피조직 바로 밑에 위치해 있으면서 과립들을 상피외로 분비하고, B형 선세포들도 상피조직 바로 밑에 있거나 근육조직의 깊은 곳에 위치해 있으면서 상피외로 과립들을 분비한다고 하여, 선세포들이 주로 근육조직 깊숙이 위치해 있는 본 실험의 *Whitemenia edentula*와는 약간의 차이가 있었다. 본 실험에서는 배피와 복피에서 선세포들의 분포가 각각 다르게 나타났는데, A형 선세포들은 배피에서는 주로 환상근육층 사이에 밀집되어 나타났는데 비해 B형 선세포들은 환상근층 사이와 종주근층의 상단에서 주로 관찰되는 특징을 보였다. 거머리 근육조직에 관한 연구에는 지금까지 거의 미진하였고, Chang (1995)의 연구에서 약간 언급되었을 뿐이다. Chang (1995)은 *Erpobdella lineata*의 복피에서 환상근육층의 두께가 33  $\mu\text{m}$  정도이고, 종주근층은 300  $\mu\text{m}$ 로 각각 관찰되어 종주근층의 발달이 뚜렷하다고 보고한데 비해, 작은 말거머리(*Whitemenia edentula*)에서는 환상근육층과 종주근층의 두께가 300  $\mu\text{m}$ 와 200  $\mu\text{m}$  정도로 각각 관찰되어 두 근육층이 비교적 고르게 발달한 것으로 확인되었다. 그러나 특이한 것은 배측부에서는 환상근육층이 두 층 정도로 나타나서 발달이 미숙한데 비해, 종주근층은 여러 층으로 매우 두텁게 발달해 있었다. 아마도 이와 같은 현상은 거머리가 복측부 근육을 이용하여 물속에서 유영을 하거나, 모래 또는 돌 위 등을 기어다니는데 매우 적합한 구조를 나타낸 것으로 생각되지만, 상세한 것은 더욱 심도 있는 연구가 뒷받침되어야 할 것

으로 사료된다.

## 결 론

한국산 작은 말거머리 (*Whitemenia edentula*)의 상피를 배측 상피조직 (Dorsal epithelium)과 복측 상피조직 (Ventral epithelium)으로 나누어, 광학현미경과 전자현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

상피조직은 모두 단층 원주형세포이거나 불규칙형 상피세포로 구성되었으며, 몸통의 종단면에서는 배피와 복피에서 크기의 차이는 있으나 모두 횡주름이 확인되었다. 그러나 복피에서는 깊이 250  $\mu\text{m}$ , 넓이 130  $\mu\text{m}$  정도의 깊은 종주름만이 관찰되었다.

근육층의 발달은 복피에서 환상근층보다 종주근층이 더욱 두터우게 발달해 있는 반면, 등피에서는 두 근육층의 발달이 모두 미약하였다.

*Whitemenia edentula*의 배피와 복피에서는 7종류의 선세포 (A, B, C, D, E, F 및 H형)와 1종류의 색소세포가 각각 관찰되었는데, 그들은 중성점액과립세포 3종 (A, B 및 F형세포)과 산성점액과립세포 2종 (C 및 D형세포), 무반응과립세포 2종 (E 및 H형세포) 그리고 색소세포 1종 (G형세포) 등으로 각각 확인되었다.

A형 및 B형선세포내 과립들은 전자밀도가 높아서 쉽게 관찰 되었으며 과립들은 모두 근육층으로 둘러싸여 있는 특이한 형태를 보였다.

선세포의 분포에 있어서는 A형, B형, C형, D형, E형 및 H형들은 상피조직 및 결합조직과 환상근육층 사이에서 대부분 관찰된 반면, F형 선세포들은 종주근층 및 결합조직에서만 관찰되는 특징을 보였다.

## 참 고 문 헌

Berchtold JP, Sauber F, Reuland M, 1985. Etude ultrastructurale de l'évolution du tégument de la Sangsue *Hirudo medicinalis* L. (Annélide, Hirudinée) au cours d'un cycle de mue, Int. J. Invertebr. Reprod. Dev. 8, 127-138

Bonet S, Molinas M, 1988. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis and spemiogenesis of

*Dina lineata* (Hirudinea, Erpobdellidae), Gamete Res. 19, 177-190

Boroffka I, Hamp R, 1969. Topographie des Kreislauf-systems und Zirkulation bei *Hirudo medicinalis* (Annelida, Hirudinea), Z. Morphol. Tiere. 64, 59-76

Brake Z, 1958. *Hirudo medicinalis* spermatogeneze, Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis. 3, 99-106

Bürger O, 1891. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Hirudineen, Zur Embryologie von Nephelis. Zool. Jahrb. Anat. 4, 697-738

Bürger O, 1894. Neu Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Hirudineen. Zur Embryologie von *Hirudo medicinalis* und *Auslastomum gulo*, Z. Wiss. Zool. 58, 440-459

Castle WE, 1900. Metamerism on the leech, Science. N. S. 11, 175

Chang NS, 1994. Structural study on the anterior and posterior suckers of Korean Leech (*Erpobdella lineata*), Korean J. Zool. 37, 281-296

Chang NS, 1995. Fine structure of Epithelial Tissue in Korean Leech, *Erpobdella lineata*, Korean J. Zool. 38, 115-124

Clark AW, 1965. Microtubules in some unicellular glands of two leeches, Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 68, 568-588

Damas D, 1972. Durcissement de la cuticule de mâchoires chez *Hirudo medicinalis* (Annélide, Hirudinée). aboutissant aux structures dentaires: Étude histochimique et ultrastructurale, Arch. Zool. Exp. Gén. 113, 401-421

Fernández J, Stent GS, 1982. Embryonic development of the hirudinid leech *Hirudo medicinalis*: Structure, development and segmentation of the germinal plate, J. Embryol. Exp. Morphol. 72, 71-96

Gratiolet P, 1862. As cited in Autrum, H. (1939) Literatur ber Hirudineen bis zum Jahre 1938. In H.G. Bronn (ed.): Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. 4: Vermes. Abt. III: Annelides. Buch 4: Hirudineae. Teil 2. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft M.B.H. 539-642

- Hammersen F, Pokahr A, 1972a. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Epithelstruktur im Magen-Darmkanal von *Hirudo medicinalis* L. I. Mitteilung: Das Epithel der Divertikel, Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 125, 378-403
- Hammersen F, Pokahr A, 1972b. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Epithelstruktur im Magen-Darmkanal von *Hirudo medicinalis* L. II. Mitteilung: Das Epithel der Divertikel, Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 125, 532-552
- Harant H, Grassé P-P, 1959. Classe des Annelides Achètes ou Hirudinées ou Sangsues. In P. -P. Grassé (ed.): Traité de Zoologie. Anatomie. Systématique, Biologie. Tome V. Annelides. Myzostomides. Sipunculiens. Echiuriens, Priapulien. Endoproctes. Phoronidiens. Paris: Masson et Cie Editeurs 471-593
- Huguet G, Molinas M, 1985. Estructura y ultraestructura del revestiment cuticular de *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774), Sci. Gerundensis 11, 39-49
- Huguet G, Molinas M, 1986 Estructura i ultraestructura de les cel·lules epiteliais de *Dina lineata* (O.F. Müller, 1774)(Hirudinea), Scientia Gerundensis 12, 5-13
- Huguet G, Molinas M, 1987. Especialitzacions per l'unió cel·lular del tegument d'*Hirudo medicinalis* (Hirudinea), Scientia Gerundensis 13, 5-14
- Huguet G, Molinas M, 1988. Estudi estructural del procés de regeneració de ferides a *Hirudo medicinalis*, Scientia Gerundensis 14, 123-132
- Huguet G, Molinas M, 1992. Changes in epithelial cells in *Hirudo medicinalis* during wound healing, J. Invert. Pathol. 59, 11-17
- Moore JP, 1990a. A description of *Microbdella biannulata* with especial regard to the constitution of the leech somite, Porc. Acad. Nat. Sci. Phila. 52, 50-73
- Moore JP, 1990b. Note on Oka's biannulate leech, Zool. Anz. 23, 474-477
- Nekhaev VM, 1957. The problem of the spermatogenesis in the officinal leech, [In Russian.] Zh. Obshch. Biol. 18, 208-216
- Nekhaev VM, 1959. Annual developmental cycle of testes of the leeches *Hirudo medicinalis* L. and *Haemopis sanguisuga* Bergm., [In Russian.] Zool. Zh. 38, 280-282
- Rahemtulla F, Løtrup S, 1975. The comparative biochemistry of invertebrate mucopolysaccharides-III. Oligochaeta and Hirudinea, Comp. Biochem. Physiol. B. 50, 627-629
- Sawyer RT, Damas D, Tomic MT, 1982. Anatomy and histochemistry of the salivary complex of the giant leech *Haementeria ghilianii* (Hirudinea: Rhynchobdellida), Arch. Zool. Exp. Gen. 122, 411-425
- Scriban JA, Autrum H, 1934. Ordnung der Clitellata, Hirudinea, Egel. In W. Kukenthal and T. Krumbach (eds.): Handbuch der Zoologie. Vol. 2. Berlin: W. DE Gruyter. 119-352
- Whitman CO, 1886. The leeches of Japan, Q. J. Microsc. Sci. 26, 317-416
- Whitman CO, 1892. The metamerism of *Clepsine*. In Festschrift zum Siebenzigsten Geburtstag Rudolf Leuckarts: Dem Verehrten Jubilar Dargebracht von Seinen Dankbaren Schülern. Leipzig: W. Engelmann, 385-395

**FIGURE LEGENDS**

- Fig. 1.** Cross-section through the longitudinal folds (arrow) of ventral epithelium. Scale bar=200  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 2.** Light micrograph showing the circular muscle layers and longitudinal muscle layer of ventral epithelium. Scale bar=200  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 3.** Cross-section through the dorsal epithelium. arrow, circular muscle layers; arrowhead, type-A granule cell. Scale bar=200  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 4.** Light micrograph showing the type-B granule cell (B). arrow, muscular tissue. Scale bar=20  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 5.** Light micrograph showing the type-A (A) and type-C granule cell (C) in the connective tissue. Scale bar=20  $\mu\text{m}$ .
- Figs. 6, 7 and 8.** Electron micrographs showing the type-A (A), type-C (C) and type-B granule cells (B) in the connective tissue. arrow, type-G granule cell; Mu, muscular tissue. Scale bars=2  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 9.** Light micrograph showing the type-D (D) and type-E granule cells (E) between the circular muscle layers. Mu, muscular tissue. Scale bar=20  $\mu\text{m}$ .
- Figs. 10 and 11.** Electron micrographs showing the type-D (D) and type-E granule cells (E). Mu, muscular tissue. Scale bars=2  $\mu\text{m}$ .
- Figs. 12, 13 and 15.** Light micrographs showing the type-E (E), type-F (F) and type-H granule cells (H) in the connective tissue. Scale bars=20  $\mu\text{m}$ .
- Figs. 14 and 16.** Electron micrograph showing the type-F (F), type-H (H) and type-G granule cells (G) in the connective tissue. Scale bars=2  $\mu\text{m}$ .









