

리테르개명게 (*Halocynthia hilgendorfi ritteri*)의 초기발생

최영진 · 김삼연¹ · 이치훈¹ · 노 섬² · 이영돈^{1*}
 제주지방해양수산청, ¹제주대학교 해양과환경연구소, ²제주대학교 해양과학부

Early Development of the Ascidian (*Halocynthia hilgendorfi ritteri*)

Young Jin CHOI, Sam Yun KIM¹, Chi Hoon LEE¹, Sum RHO²
 and Young Don LEE^{1*}

Jeju Regional Maritime Affairs and Fisheries Office, Jeju 690-704, Korea

¹*Marine and Environmental Research Institute, Cheju National University, Jeju 695-814, Korea*

²*Faculty of Ocean Science, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea*

Early development and metamorphosis of the ascidian (*Halocynthia hilgendorfi ritteri*) were investigated from fertilized egg. The samples were collected in the coastal waters of Yongdam, northwest of Jeju Island in November 2002. *H. hilgendorfi ritteri* was solitary ascidian and produced spherical eggs with egg size ranging from 0.33±0.01 mm. On the outer surface of the vitelline coat are attached many follicle cells. At 21.0±0.5°C of water temperature, first cleavage took place in about 1.5 hrs after fertilization, and gastrulation followed in about 12.5 hrs. The formation of tailbud embryos and free swimming larvae were observed 13.3 hrs and 20.5 hrs after fertilization, respectively. The size of newly hatched tadpole larva was 1.30-1.45 mm, the larva swam for 2 hrs to 14 hrs. At 4 hrs after hatching, the palpi were lost and tail absorption began with an abrupt rupture of the anterior end of the notochord. At 17-18 hrs after hatching, tail completely absorption and remained trunk. The coniform adhesive papilla began protrusion at 30 hrs after hatching. The oral and atrial siphon formed at 6-7 days after settlement. At 17-18 days after settlement, metamorphosed the larvae developed into protoascidian of which the external morphology was similar to their adult.

Key words: Ascidian, *Halocynthia hilgendorfi ritteri*, Early development, Metamorphosis, Tadpole larva

서 론

명게류는 초기에 연체동물로 분류되었으나, 올챙이형 유생 (ascidian tadpole larva, appendicularia)이 발견된 이후 척색을 가진 고등동물로 밝혀졌다 (Kowalevsky, 1866). 유성생식을 하는 단체 명게류는 자웅동체로, 수정란과 올챙이형 유생의 크기가 매우 다양하다 (Kessel, 1983; Cloney, 1990; Richard, 1982; Na and Lee, 1977). 명게류는 자유 유영단계인 올챙이형 유생에서 변태를 한 후 고착하여 성체의 형태로 발달하는데, 변태는 올챙이형 유생의 꼬리가 흡수되면서 시작되고, 수정 후 약 1개월이 지난 개체는 대부분 성체와 유사한 기관을 형성한다 (Cloney, 1961; Numakunai et al., 1964). 명게류는 초기 난할 과정에서 세포질의 이동관계 및 각 할구의 세포계보가 (cell lineage) 작성되었고 (Conklin, 1905), 할구에 대한 인위적 조작이 용이하며 (Wada et al., 1999), 단순하고 원시적인 척색 체제를 갖고 있어 (Satoh, 1999), 발생 생물학 연구의 실험동물로 유용한 가치가 있다.

리테르개명게 (*Halocynthia hilgendorfi ritteri*)는 제주연안 수심 3 m 이심의 암반구조지역에 한두 마리씩 부착 서식하는 단체명게류이다. 우렁쟁이 (*H. roretzi*)와 달리 몸체의 외부피막에 해조류와 히드라 등으로 덮여 있어 마치 돌출된 작은

암반으로 보여 제주에서는 일반적으로 “돌명게”라 불리고 있다. 최근에 들어 리테르개명게의 독특한 향과 맛으로 수요가 급증하여 자원이 급격하게 감소하는 실정이다. 그러나 제주 연안에 서식하는 리테르개명게에 관한 자원생물학적 연구는 전무한 실정이다. 이 연구는 제주 연안에 서식하는 리테르개명게의 발생특성과 연안자원생물로서 종 유지와 자원 번식을 위해 수정란의 발생과 유생의 변태과정 등 초기성장과정을 조사하였다.

재료 및 방법

연구에 사용된 리테르개명게는 산란시기로 추정되는 (Choi, 2003) 2002년 11월 제주도 용담 연안 수심 3-9 m에서 채집하였다. 채집된 개체는 원형 투명아크릴 수조 (30 L)에 5개체(체장: 8.89±0.69 cm, 체중: 158.28±38.39 g)를 수용하여 실험실에서 사육하던 중 2002년 12월 3일에 산란을 하였다. 자연산란 후 수정된 알은 비이커 및 petri dish에 수용하여 지수식 방법으로 사육하였고, 1일 2회 사육수를 교환해 주었다. 사육기간 중 수온의 범위는 21.0±0.5°C, 명암은 12:12, 염분은 31.5-32.4 PSU, DO는 5.3-7.3 mg/L, pH는 8.4-8.5 이었다. 먹이는 입수공과 출수공이 확인된 이후부터 매일 1-2회씩 *Isochrysis galbana*를 공급하였다. 발생중인 알과 부화 유생의 외부 형태는 해부

*Corresponding author: leemri@cheju.ac.kr

현미경을 사용하여 관찰하였고, 디지털 카메라를 이용하여 수정란과 부화유생을 촬영한 후, Image scope 2.3 (Image Line, Inc.)으로 0.001 mm까지 계측하였다.

결 과

수정란의 발생과정

제주도 용담연안에서 2002년 11월 28일에 채집된 개체를 실내 사육수조에서 사육 중 12월 3일 산란이 일어났으며, 수온 21.0±0.5℃에서 리테르개명게의 발생단계별 소요시간은 Table 1과 같고, 발생단계별 분화 형태는 Fig. 1, 2와 같다. 미수정란의 크기는 평균 294.0±15.5 μm로 난막 외부에는 20.0±1.0 μm 크기의 여포세포가 단층으로 난을 감싸고 있어 여포세포층까지 포함한 크기는 334.0±14.1 μm이다 (Fig. 1A). 수정란은 분리침성난으로 부화될 때까지 여포세포로 감싸여 있다 (Fig. 1B). 수정후 1.5시간이 경과하면 수정란의 난황은 동·식물극을 축으로 난축방향에 수직으로 일어났다. 할구는 거의 같은 크기의 2세포기로 되며 할구 주변에 회색난황물질들이 분포하고 있다 (Fig. 1C). 수정후 약 2.1시간이 경과하면 제2차 난황이 수직으로 일어나 4세포기로 되었으며 (Fig. 1D), 수정후 약 2.6시간이 경과 후에 동·식물극의 난축에 직교하여 제3차 난황이 일어나 수정란은 8세포기가 되었다 (Fig. 1E). 수정후 약 3.1시간이 경과하면 제4차 난황이 수직으로 일어나 16세포기가 되었고 (Fig. 1F), 이어 난황이 계속되어 32세포기 (Fig. 1G)와 64세포기 (Fig. 1H)를 거쳐 수정 후 약 10.0시간이 경과하면 상실기 단계로 되었다 (Fig. 1I). 수정후 약 11.5-12.1시간이 경과하면, 식물극 부분이 다소 평평해지기 시작하면서 함입이 일어나 원구 위치가 뚜렷하였고, 원구의 반대편에서도 함입이 일어나면서 가운데가 점차 잘룩한 낭배기 단계를 보였

Table 1. Chronology for the embryonic development of *Halocynthia hilgendorfi ritteri* at 21.0±0.5℃ and 31.9±0.6 PSU in the laboratory

Developmental stage	Time after fertilization (hour)	Figures
Unfertilized egg	-	Fig. 1A
Fertilized egg	0	Fig. 1B
2 cell	1.5	Fig. 1C
4 cell	2.1	Fig. 1D
8 cell	2.6	Fig. 1E
16 cell	3.1	Fig. 1F
32 cell	3.6	Fig. 1G
64 cell	4.8	Fig. 1H
Morula	10.0	Fig. 1I
Early gastrula	11.5	Fig. 2A
Late gastrula	12.1	Fig. 2B
Tail bud	13.3	Fig. 2C
Cephalization and enlargement of tail	13.8	Fig. 2D
Complete formation of eye	16.3	Fig. 2E
Tadpole larva in prior to hatching	18.8	Fig. 2F
Tadpole larva just after hatching	19.3	Fig. 2G
Free swimming larva	20.5	Fig. 2H

다 (Fig. 2A, B). 수정 후 약 13.3시간 이후에는 배의 후방에 꼬리의 형성과 함께 두부와 꼬리의 분화가 뚜렷해진다 (Fig. 2C). 꼬리가 더욱 신장됨에 따라 난막 안에서 굽어지고, 동체부 (胴體部)의 형태가 뚜렷해진다 (Fig. 2D). 이후 꼬리는 더욱 신장되어 몸체를 한바퀴 돌게 되며, 유생의 안점도 뚜렷이 관찰된다. 그리고 이때부터 서서히 근육운동을 하기 시작하며, 외부 여포는 차츰 퇴화 현상을 보인다 (Fig. 2E). 수정 후 약 20.0시간 후에는 조금씩 움직임이 격렬해지면서 난막과 여포막의 파괴가 일어난다. 이후 외부 여포막이 벗겨지기 시작하면서 몸체 중간부분부터 서서히 밖으로 빠져 나온다 (Fig. 2F). 부화 직후에는 꼬리가 타원형으로 휘어져 있으며 움직임이 활발하지 못하나 (Fig. 2G), 몇 분 후 꼬리가 퍼지면서 활발히 유영을 하는 올챙이형 유생으로 된다 (Fig. 2H).

유생의 변태

부화 후 올챙이형 유생의 발달단계별 소요시간은 Table 2와 같고, 분화 형태는 Fig. 3, 4와 같다. 부화 후 약 4.0시간이 경과하면, 부착돌기가 소실되고 꼬리 기부에 있는 척색의 선단이 붕괴되기 시작한다 (Fig. 3A). 이어 부화 후 약 7.5시간이 경과하면, 꼬리를 구성하는 내부조직의 약 1/3 정도가 체부로 흡수된다 (Fig. 3B). 부화 후 17.5-18.0시간이 경과하면, 꼬리를 구성하는 내부조직이 완전히 흡수되어 투명한 외막흔적이 관찰되고, 이어 동체만 남는다 (Fig. 3C, D). 부화 후 30.0시간이 경과하면서 원뿔형의 부착근 (adhesive papilla)이 부착돌기가 있던 부근에서 돌출되기 시작한다 (Fig. 3E). 이후 부착근이 더 신장되고 동체 주변에 가시형태의 돌기들이 새롭게 형성되며, 부착근은 사방으로 길게 뻗어 완전히 부착면에 고착한다 (Fig. 3F). 부화 후 6-7일이 경과하면, 동체 둘레에 가시형태의 돌기가 수적인 증가를 하고, 입수공과 출수공이 형성되면서 새열도 관찰된다 (Fig. 4A). 부화 후 13-14일이 경과하면, 동체는 점점 타원형으로 신장되고 6-7개의 새열이 관찰된다 (Fig. 4B). 부화 후 18일경에는 성체와 동일한 형태를 가진 어린 개체로 발달한다 (Fig. 4C).

Table 2. Chronology for the embryonic development of *Halocynthia hilgendorfi ritteri* at 21.0±0.5℃ and 31.9±0.6 PSU in the laboratory

Metamorphosis stage	Time after hatching (hour)	Figures
Beginning tail absorption	4.0	Fig. 3A
Continuing tail absorption	7.5	Fig. 3B
Cytolysis in the remained tail	17.5	Fig. 3C
Complete tail absorption	18.0	Fig. 3D
Appearance of adhesive papilla	30.0	Fig. 3E
Enlargement of adhesive papilla	36.5	Fig. 3F
Distinct oral and atrial siphon	156.0	Fig. 4A
Protoascidian at 13 days after settlement	330.0	Fig. 4B
Protoascidian at 17 days after settlement	426.0	Fig. 4C

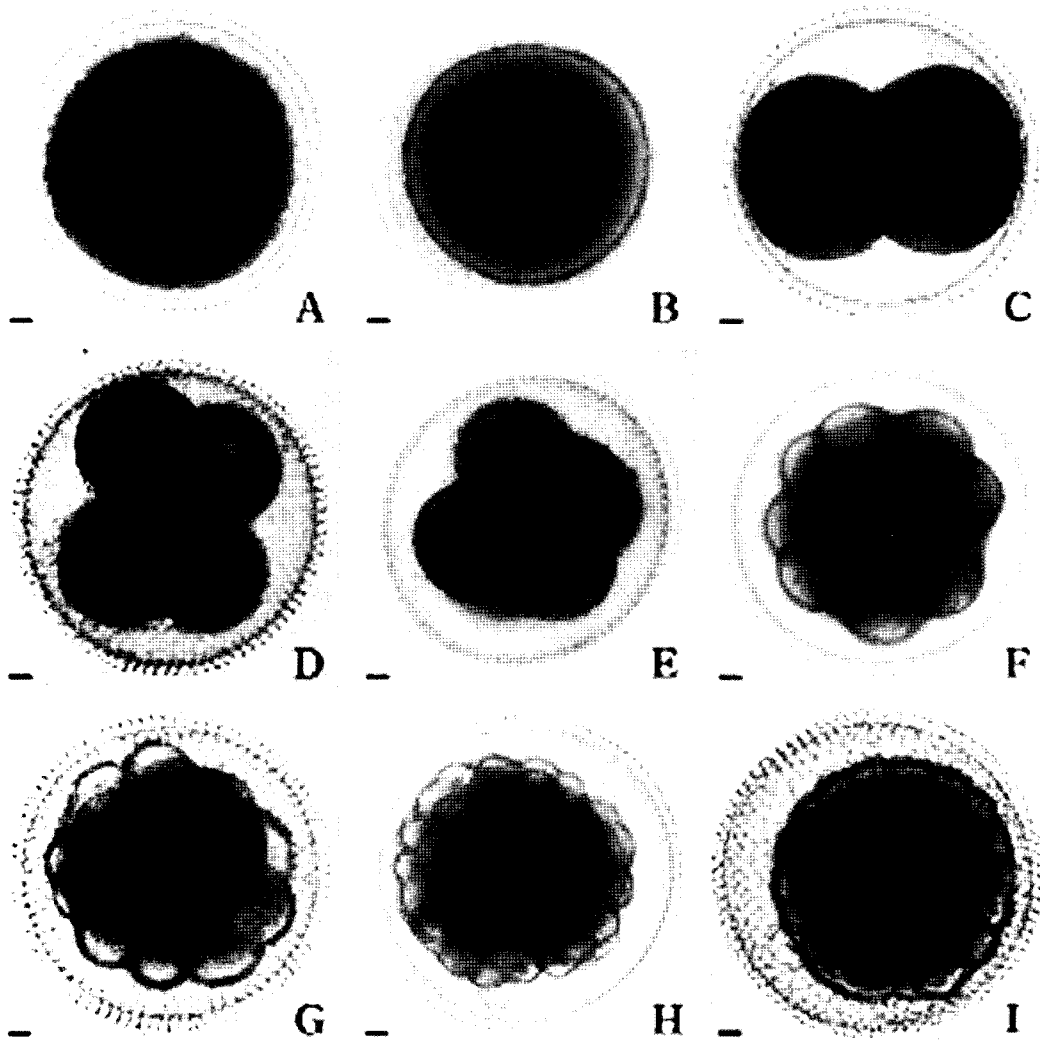


Fig. 1. Early developmental stage of *Halocynthia hilgendorfi ritteri*.

A, Unfertilized egg; B, Fertilized egg; C, 2 celled stage; D, 4 celled stage; E, 8 celled stage; F, 16 celled stage; G, 32 celled stage; H, 64 celled stage; I, Morula stage. Scale bars indicate 25 μm .

고 찰

리테르개명개는 무리를 형성하지 않고 개체별로 떨어져 암반에 고착하여 생활하는 단체 명개로 출수공을 통해 정자와 알이 산란되어 체외에서 수정이 이루어졌으며, 산란된 알은 약 330 μm 로, 단층의 여포세포가 난을 감싸고 있었다. 단체명개인 우렁쟁이와 미더덕 (*Styela clava*)의 경우, 수정란은 각각 약 430 μm , 180 μm 이며 단층의 여포세포가 수정란을 감싸고 있는 반면에, 유령명개 (*Ciona intestinalis*)의 경우, 수정란은 약 310 μm 이며 돌기상의 여포세포가 수정란을 감싸고 있다 (Na and Lee, 1977; Reverberi, 1971). 이와 같이, 단체 명개류는 대부분 체외 수정을 통해 유성생식을 하는 난생형으로, 수정란의 크기는 100-500 μm 이고, 알을 감싸는 여포세포의 형태가 종 특이적인 차이를 보인다 (Kessel, 1983; Cloney, 1990).

리테르개명개는 수온 21.0 \pm 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 에서 수정 후 낭배기까지 소요시간은 약 12.5시간이었고, 부화까지는 약 20.5시간이 소요된 반면에, 우렁쟁이는 (Park et al., 1991) 수정 후 부화까지의 소요시간은 수온 18.0-20.5 $^{\circ}\text{C}$ 에서 23.5시간, 12.5-13.5 $^{\circ}\text{C}$ 일 때 40.3시간, 6.5-8.0 $^{\circ}\text{C}$ 일 때 72.0시간이 소요되었다. 또한, 미더덕은 수온 16.0 $^{\circ}\text{C}$ 에서 수정 후 약 14.0시간에 부화되었으며, 유령명개는 수온 18, 21 $^{\circ}\text{C}$ 에서 수정 후 부화까지는 약 12.0시간이 소요되었다 (Na and Lee, 1977). 이와 같이 명개류의 발생속도는 종과 수온에 따라 많은 차이가 있으므로 절대적인 비교는 할 수 없으나, 수온이 낮을수록 부화에 소요되는 시간이 긴 것으로 보아 부화 시간은 수온과 밀접한 관련이 있다고 생각된다.

리테르개명개의 올챙이형 유생 크기는 1.30-1.45 mm로,

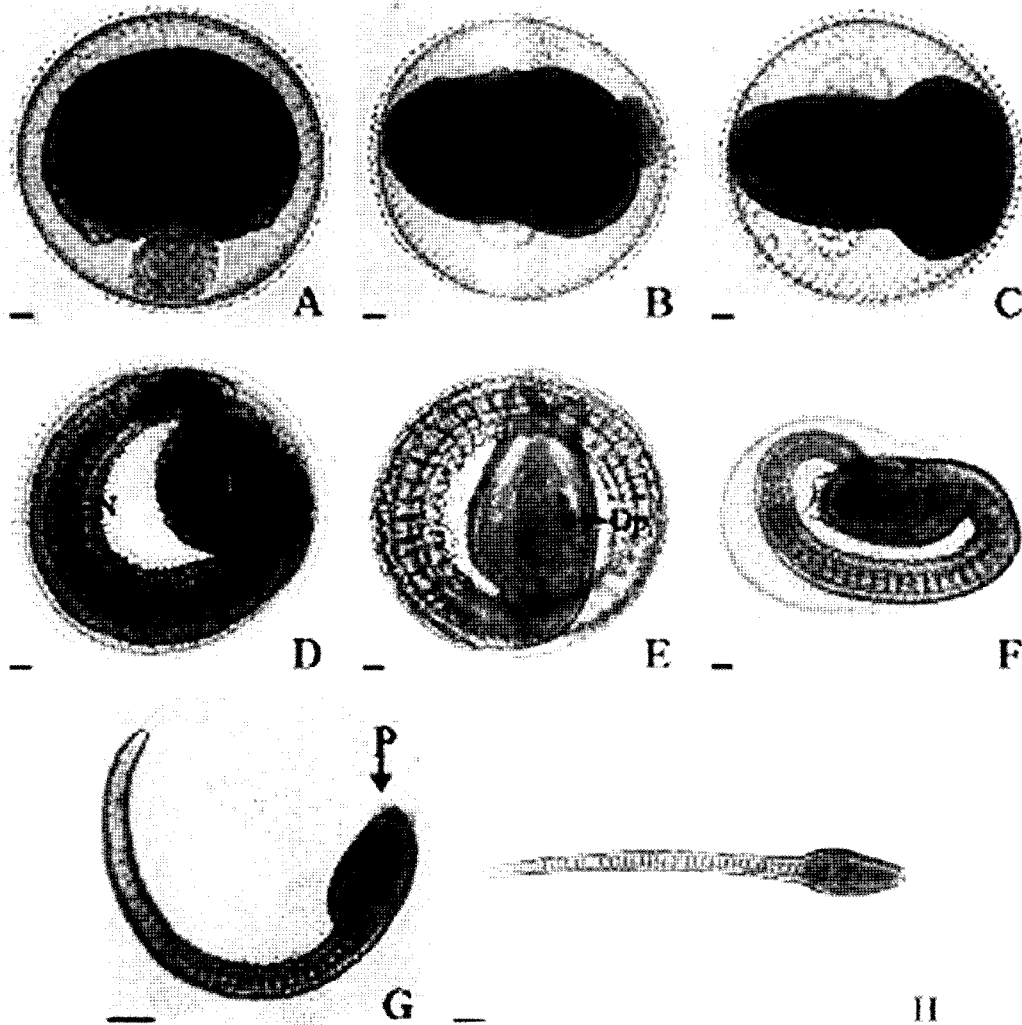


Fig. 2. Larval developmental stage of *Halocynthia hilgendorfi ritteri*.

A, Early gastrula stage; B, Late gastrula stage; C, Tail bud stage; D, Cephalization and enlargement of tail; E, Complete formation of eye; F, Tadpole larva prior to hatching; G, Tadpole larva just after hatching; H, Free swimming larvae; A to F, Scale bars indicate 25 μ m; G and H, Scale bars indicate 100 μ m. N, notochord; Op, ocellus pigment; P, palp; T, trunk.

2-14시간 유영기간을 갖고 이후 기질에 부착하여 꼬리가 흡수되었다. 미더덕의 경우 부화 유생의 크기는 1.0-1.3 mm, 유영기간은 약 10시간이고, 유령명계의 경우 부화 유생의 크기는 1.15-1.12 mm, 유영기간은 약 7시간이며 (Na and Lee, 1977), 우렁쟁이의 경우 1.5-1.7 mm, 유영기간은 약 24시간으로 (Park et al., 1991), 부화유생의 크기와 유영기간은 중간에 차이가 있다. 특히, 대부분의 명계류 유생은 빛의 세기에 따라 유영기간에 영향을 받기 때문에 (Crisp and Ghobashy, 1971), 앞으로 유영기간에 영향을 주는 외부환경 요인에 대한 조사가 필요하다고 생각된다.

리테르개명계의 부착근은 원뿔형으로, 꼬리의 흡수는 기부 에 있는 척색의 선단이 붕괴되면서 일어났다. 명계류의 부착

근의 형태를 비교해보면, 우렁쟁이, 유령명계, 흰명계, *Styela plicata*의 부착근은 원뿔형인 반면에, *Distaplia occidentalis*는 컵모양으로 (Cloney, 1982), 부착근의 형태 또한 종 특이적인 차이를 보였다. 또한, 변태과정에 있어 가장 주된 변화인 올챙이형 유생의 꼬리 흡수도 종간의 차이가 있어, *Distaplia* 유형, *Ecteinacidia* 유형, *Botryllus* 유형, *Boltenia* 유형 그리고 *Molgula* 유형으로 구분하며 (Cloney, 1982), 유령명계 (Lash et al., 1973)는 *Ecteinacidia* 유형 그리고 명계와 미더덕 (Numakunai et al., 1964)은 *Bolteina* 유형에 속한다. 리테르개명계 유생의 꼬리 흡수를 비교해본 결과, 리테르개명계는 *Bolteina* 유형에 속하는 종이라 생각된다.

입수공과 출수공이 형성되는 시기에 대하여는 미더덕 (Na

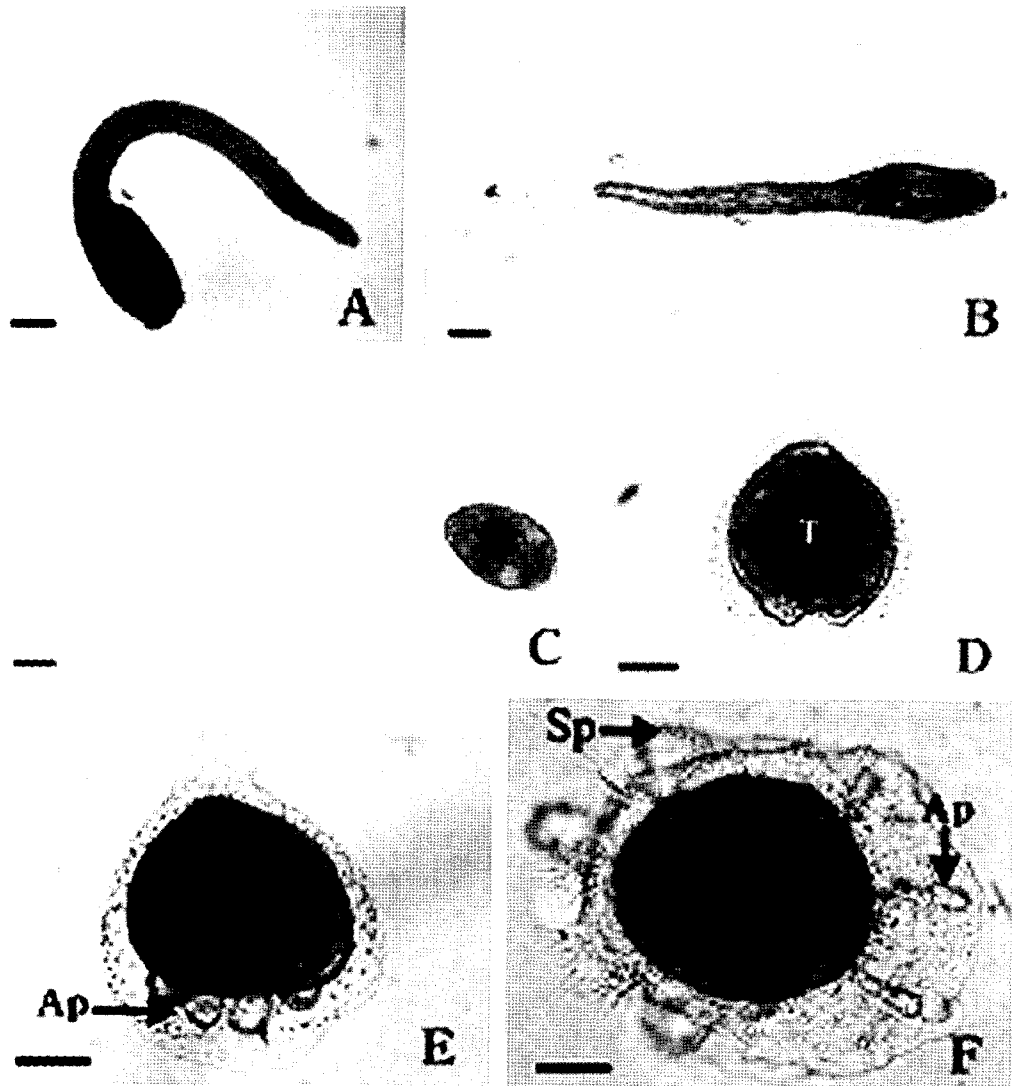


Fig. 3. Metamorphosis of the hatching larva of *Halocynthia hilgendorfi ritteri*.

A, Early tail absorption; B, Continuation of tail absorption; C, Cytolysis in the remained tail; D, Complete tail absorption; E, Appearance of adhesive papilla; F, Enlargement of adhesive papilla. Scale bars indicate 100 μ m. Ap, adhesive papilla; Sp, spinous process; T, trunk.

and Lee, 1977)은 부화 후 약 7일에 입수공과 출수공이 형성되었으며, 우렁쟁이 (Pyen et al., 1977)는 부화 후 24일에 형성되었다. 리테르개명개는 부화 후 6-7일에 입수공과 출수공이 형성되어 미더덕과 유사한 경향을 보였지만, 우렁쟁이와는 현저한 차이를 보였다. 또한, 부착 후 성체와 동일한 형태의 어린개체로 발달하기까지의 경과시간은 미더덕 (Na and Lee, 1977)이 약 10일후, 리테르개명개는 약 18일정도가 소요되었다.

이상의 결과를 종합해보면, 리테르개명개는 유성생식을 하는 단체 난생형 명개류에 속하며, 리테르개명개의 부착근은 원뿔형이고, 올챙이형 유생 꼬리의 흡수는 *Boltenia* 유형에 속하는 종이다. 또한, 앞으로 산업화 적용을 위해 인공채묘,

먹이생물, 유생의 성장과 생존률 등을 조사하여 종묘생산 및 양식산업화 가능성에 대하여 탐색할 필요가 있다고 사료된다.

사 사

이 논문은 2003년도 제주대학교 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었습니다.

참 고 문 헌

- Choi, Y.J. 2003. Reproductive cycle and early development of the ascidian *Halocynthia hilgendorfi ritteri*. MS. Thesis, Cheju Natl. Univ., Jeju, pp. 16-19. (in Korean)

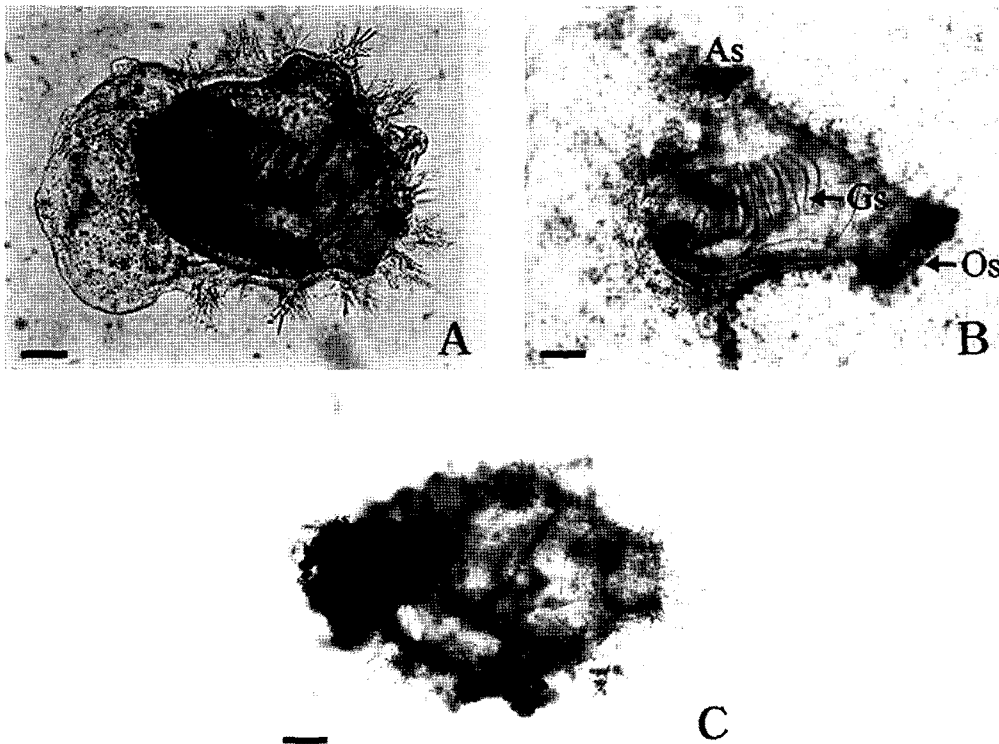


Fig. 4. Metamorphosis of the hatching larva of *H. hilgendorfi ritteri*. A, Distinct oral and atrial siphon; B, Protoascidian at 13 days after settlement; C, Protoascidian at 17 days after settlement. Scale bars indicate 200 μ m. As, atrial siphon; Gs, gill slit; Os, oral siphon.

- Cloney, R.A. 1961. Observations on the mechanism of tail resorption in ascidians. *Am. Zool.*, 1, 67-87.
- Cloney, R.A. 1982. Ascidian larvae and the events of metamorphosis. *Am. Zool.*, 22, 817-826.
- Cloney, R.A. 1990. Urochordata-Ascidiacea. In: *Reproductive Biology of Invertebrate*. Adiyodi, K.G. and R.G. Adiyodi, eds. Oxford and IBH, New Delhi, pp. 391-451.
- Conklin, E.G. 1905. The organization and cell lineage of the ascidian egg. *J. Acad. Nat. Sci. (Philadelphia)*, 13, 1-119.
- Crisp, D.J. and A.F.A.A. Ghobashy. 1971. Responses of the larva of *Diplosoma listerianum* to light and gravity. In: *Proceedings of the 4th European marine biology symposium*. Crisp, D.J., ed. Cambridge University Press, London, U.K., pp. 443-465.
- Kessel, R.G. 1983. Urochordata-Ascidiacea. In: *Reproductive Biology of Invertebrates*, Vol. 1. Adiyodi K.G. and R.G. Adiyodi, eds. Wiley, New York, pp. 655-734.
- Kowalevsky, A. 1866. *Entwicklungsgeschichte der einfachen Asciden*. *Mem l'Acad St Petersburg*. Ser 7, 10, 1-19.
- Lash, J.W., R.A. Cloney and R.M. Minor. 1973. The effects of cytochalasin B upon tail resorption and metamorphosis in ten species of ascidians. *Biol. Bull.*, 146, 360-372.
- Na, G.H. and T.Y. Lee. 1977. Early development and larval distribution of ascidians, *Styela clava* Herdman and *Ciona intestinalis* (Linne). *Publ. Inst. Mar. Sci. Natl. Fish. Univ. Busan*, 10, 41-56. (in Korean)
- Numakunai, T., M. Ishikawa and E. Hirai. 1964. Changes of structure stainable with modified Gomori's aldehyde-fuchsin method in the tadpole larvae of the ascidian, *Halocynthia roretzi* (V. Drasche), relating to tail resorption. *Bull. Mar. Biol. Stat. Asamushi, Tohoku Univ.*, 12, 161-172.
- Park, Y.J., Y.G. Rho, J.H. Lee and J.M. Lee. 1991. Studies on spawning and seed collection of sea squirt, *Halocynthia roretzi* (V. Drasche). *Bull. Natl. Fish. Res. Dev. Inst. Korea*, 45, 165-173. (in Korean)
- Pyen, C.K., Y.G. Rho and Y.J. Chang. 1977. Studies on the early development and seed collection of the sea squirt, *Halocynthia roretzi*. *Bull. Natl. Fish. Res. Dev. Inst. Korea*, 18, 113-122. (in Korean)
- Richard, A.G. 1982. Ascidian larvae and events of meta-

- morphosis. *Am. Zool.*, 22, 817-826.
- Reverberi, G. 1971. *Experimental Embryology of Marine and Fresh-Water Invertebrates*. North Holland, Amsterdam, pp. 507-550.
- Satoh, N. 1999. Cell fate determination in the ascidian embryo. In: *Cell Lineage and Fate Determination*. Moody, S.A., ed. Academic Press, New York, pp. 59-74.
- Wada, S., Y. Katsuyama and H. Saiga. 1999. Antero-posterior patterning of the epidermis by inductive influences from the vegetal hemisphere cells in the ascidian embryo. *Development*, 126, 4955-4963.

2004년 1월 3일 접수
2004년 4월 3일 수리