

碩士學位論文

리테르개멍게, *Halocynthia hilgendorfi*
*ritteri*의 생식주기와 초기발생



水産生物學科

崔榮眞

2003年 12月

리테르개멍게, *Halocynthia hilgendorfi*
*ritteri*의 생식주기와 초기발생

指導教授 李 榮 敦

崔 榮 眞

이 論文을 理學碩士 學位論文으로 提出함

2003年 12月

崔榮眞의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 노 섬 (인)

委 員 최광식 (인)

委 員 이영돈 (인)

濟州大學校 大學院

2003年 12月

Reproductive Cycle and Early Development of
the Ascidian *Halocynthia hilgendorfi ritteri*

Young-Jin Choi

(Supervised by professor Young-Don Lee)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement
for the degree of Master of Science



DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

December 2003

목 차

Abstract	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	5
III. 결과	7
1. 리테르개명계의 형태와 생식소의 구조	7
2. 난형성과정	9
3. 정자형성과정	10
4. 난모세포 크기의 월별 및 주별 변화	13
5. 생식주기	16
6. 수정란의 발생과정	20
7. 유생의 변태	25
IV. 고찰	29
V. 요약	33
VI. 참고문헌	34
감사의 글	38

Abstract

Gametogenesis, reproductive cycle and monthly oocyte diameter composition of the ascidian, *Halocynthia hilgendorfi ritteri* were investigated by histological examination on monthly samples in the coastal waters of Yongdam, northwest of Jeju Island from November 2001 to January 2003. Early development and metamorphosis of *H. hilgendorfi ritteri* was observed from artificially fertilized and naturally spawning in November 2002.

H. hilgendorfi ritteri is a synchronous hermaphrodite; their gonads are located in the mantle. The reproductive cycle could be grouped into the following successive stages: in ovary, growing stage (February to June), vitellogenesis stage (April to September), mature stage (July to December), spent stage (November to February), and recovery stage (December to April), and in testes, growing stage (October), mature stage (October to December), spent stage (November to February), and resting stage (January to September). The major spawning possibly occurred between November and January when the water temperature was on the decreased. Throughout histological observation of the gonad, this species suggested multiple spawned during the spawning period.

H. hilgendorfi ritteri was solitary ascidian and produced spherulic eggs with egg size ranging from $334.0 \pm 14.1 \mu\text{m}$. On the outer surface of the vitelline coat are attached many follicle cells. At $21.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ of water temperature, first cleavage took place in about 1.5 hours after fertilization, and gastrulation followed in about 12.5 hours. The formation of tailbud embryos were observed 13.3 hours after fertilization and free swimming larvae were observed 20.5 hours after fertilization. The size of newly hatched tadpole larvae were 1.30–1.45 mm, the larvae swam for 2 hours to 14 hours. At 4 hours after hatching, the palpi were lost and tail absorption began with an abrupt rupture of the anterior end of

the notochord. At 17-18 hours after hatching, tail completely absorption and remained trunk. The coniform adhesive papilla began protrusion at 30 hours after hatching. The oral and atrial siphon formed at 6-7 days after settlement. At 17-18 days after settlement, the larvae metamorphosed developed into protoascidian of which the external morphology was similar to their adult.



I. 서 론

리테르개명게, *Halocynthia hilgendorfi ritteri*는 척삭동물문 해초강 측성해초목 명게과에 속하는 종으로, 우리나라와 일본, 미국 캘리포니아 등지에 분포한다. 서식장소는 조하대의 암반지대나 바위 밑이며 주로 단체(單體)로 기질에 고착생활을 한다 (한국동식물도감, 1977). 리테르개명게는 명게류에서 대형종으로, 보통 해조류나 히드라 등으로 덮여 있어 눈으로 식별하기가 어렵고, 형체가 주변 암반의 색과 거의 흡사하여 돌출된 암반의 일부로 보이기 때문에, 스쿠버다이버나 해녀들은 이 종을 “돌명게”라고 부르고 있다.

명게류는 전 세계적으로 분포하는 해양 고착성 동물로 세계적으로 약 1,500종 이상이 알려져 있으며, 우리나라에서는 약 53종이 분류되고 있고, 식용으로 이용되는 종은 우렁쟁이, *Halocynthia roretzi*, 미더덕, *Styela clava*, 리테르개명게, *H. hilgendorfi ritteri* 등이 있다. 명게류는 주로 암초나 조개껍데기와 같은 부착기질이 있는 곳에 부착하여 생활하지만, 진흙이나 모래 지역에서도 발견된다. 명게류는 생태학적 분포 양상이 다양하고, 이들의 형태적 또는 생물학적 유형도 다양한 특징을 보이며, 이들의 번식전략 또한 종 특이적이다. 따라서 명게류의 번식생태에 대한 조사는 이들의 생태학적 역할을 이해하는데 기초적인 요소이다.

명게류의 번식생물학적 연구는 지중해 북서부에 서식하는 *Microcosmus sabatieri*와 *H. papillosa*의 생식주기 비교 (Becerro and Turon, 1992), 대만 북부 연안에 서식하는 *Polycarpa cryptocarpa kroboja*의 생식주기 (Chen and Dai, 1998), 우리나라에 서식하는 흰명게, *Styela plicata*, 미더덕, *S. clava*, 우렁명게, *Ciona intestinalis*의 생식주기와 생식세포 형성과정에 대한 조직학적 관찰 (Lee, 1976, 1977; Yang and Lee, 1978) 등이 있으며, 군체 명게류인 *Symplegma reptans* 번식과 신경 복합체의 상관관계 (Sugimoto and Watanabe, 1980), 태생 명게류인 *Botrylloides violaceus*의 난형성과정과 난모세포 외피의 분화 (Manni et al., 1995) 등이 있다.

명게류는 단일개체로 되어 있는 단체(單體)명게와 여러 마리가 모여서 하나의 군체(群體)를 형성하는 군체명게 2종류가 있고, 단체명게인 경우 일반적으로 유성생식을 하는 반면에, 군체명게인 경우 양성생식과 무성생식을 한다. 특히, 유성생식을 하는 명게류의 생식소는 자웅동체이고, 산란된 알의 크기 또한 매우 다양하다 (Kessel, 1983; Cloney, 1990).

명게류는 가장 원시적인 동물로 분류되었으나 올챙이형 유생 (ascidian tadpole larva, appendicularia)이 발견된 이후 척색을 가진 고등동물로 밝혀졌으며, 초기 난할 과정에서 세포질의 이동관계 및 각 할구의 세포계보가 (cell lineage) 작성되었다 (Conklin, 1905). 이후, 명게류의 배발생동안의 세포계보는 계통 추적 물질인 horseradish peroxidase (HRP)의 세포 주입에 의해 세부적인 연구가 이루어 졌고 (Nishida, 1987), 변태 후 유생 조직의 발달에 있어 중배엽의 기원도 밝혀졌다 (Hirano and Nishida, 1997).

대부분의 명게류는 자유 유영단계인 올챙이형 유생에서 변태를 한 후 고착하여 성체의 형태로 발달하는데, 변태는 올챙이형 유생의 꼬리가 빠르게 흡수되면서 시작되고, 수정 후 약 1개월이 지난 개체는 대부분 성체와 유사하게 기관을 형성한다 (Cloney, 1961; Numakunai et al., 1964). 명게류에 대한 배발생 및 유생의 발달에 관한 연구는 우렁챙이 부착유생의 기작 (Hirai, 1965), 미더덕과 유령명게의 초기발생 및 부화 유생의 발달 (Na and Lee, 1977)등 많은 연구가 이루어 졌다.

이 연구는 제주도 연안에 서식하는 리테르개명게를 대상으로 종묘생산에 관한 번식생물학적인 특징을 탐색하기 위해 배우자형성과정, 생식소 발달 단계, 난모 세포 크기의 월별 및 주별 변화 등에 따른 생식주기를 조직학적인 방법으로 조사하였고, 아울러 산란시기에 수정란의 발생과 유생의 변태과정 등 초기성장과정을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

이 연구에서 사용한 리테르개명개는 제주도 용담 연안 수심 3~9 m에서 2001년 11월부터 2002년 9월까지 월별 15~20 개체씩 총 220개체를 채집하였고, 2002년 10월 5일부터 2003년 1월 17일까지 월주기를 기준으로 주별 5~6 개체씩 총 70개체를 채집하였다. 채집한 실험재료는 vernier caliper를 이용하여 체장과 체고는 0.1 mm까지 측정하였고, 전중량과 육중량은 전자저울을 이용하여 0.01 g까지 측정하였다.

생식소의 배우자형성과정 변화를 관찰하기 위해, 리테르개명개의 피낭을 제거한 후, 생식소 부위를 절취하여 Bouin's solution에 24시간 고정하였다. 생식소 조직은 파라핀 절편법에 의하여 두께 5~6 μm 의 절편을 만든 후, Hansen's haematoxylin과 0.5% eosin으로 비교 염색하였다. 난모세포 크기의 월별 및 주별 변화는 디지털 카메라를 이용하여 난소의 절편을 촬영한 후, 난소절편의 조직표본에 핵이 정상적으로 나타나는 난모세포만을 선택하여, Image scope 2.3 (Image Line, Inc.)으로 월 평균 약 1,000개의 난경을 측정하였다.

생식소의 발달단계는 Lee (1976)의 방법에 따라 난소의 경우 성장기, 난황기, 성숙기, 방출기 및 회복기 그리고 정소의 경우 성장기, 성숙기, 방출기 및 휴지기로 나누었다.

리테르개명개의 초기발생 및 유생의 변태과정을 관찰하기 위해, 산란리듬 조사와 함께 채집된 시료를 사용하여 인공수정 및 자연산란을 유도하였다. 인공수정은 2002년 11월에 채집된 시료에서 알과 정자를 추출하여 petri dish에서 수정을 시켜 관찰하였다. 자연산란은 2002년 11월 28일에 채집된 개체를 지하해수로 채운 원형 투명아크릴 수조 (30 L)에 리테르개명개 5개체를 넣고 산소를 공급하며 수온 $21.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 산란을 유도하였다. 자연방란, 방정 후 수정된 알은 비이커 및 petri dish에서 사육하며 관찰하였다. 수정란과 유생은 지수식 방법으로 사육하면서, 1일 2회 사육수를 교환해 주었다. 부착 전까지는 사육수의 1/2~2/3 정도를 교환하다가, 부착 이후에는 거의 전량을 교환하여 주었다. 사육 조건은 명암

12:12, 수온 21.0 ± 0.5 °C, 염분 31.5~32.4‰, DO는 5.3~7.3 mg/L, pH는 8.4~8.5의 범위였다. 먹이는 입수공과 출수공이 확인된 이후부터 매일 1~2회씩 *Isochrysis galbana*를 공급하였다.

채집장소의 월별수온은 조사지 인근인 제주시 외도동 국립수산과학원 자원조성연구소에서 매일 오전 10시에 측정된 연안정지관측 자료를 인용하였다.



Ⅲ. 결 과

1. 리테르개명게의 형태와 생식소의 구조

리테르개명게는 명게류에서 비교적 대형 종으로 몸은 앞뒤가 긴 타원형이며, 배쪽이 암반이나 다른 부착기질에 부착해 있다. 입수공과 출수공은 몸의 앞쪽 끝에 있고, 출수공은 입수공의 약간 아래에 위치하고 있다. 외피는 가죽 모양이며 단단하고 보통 해조류나 히드라 등으로 덮어 있어 눈으로 식별하기가 어렵고 (Fig. 1-A), 외피를 제거한 리테르개명게는 연한 황갈색의 근막체에 싸여 있다 (Fig. 1-B).

리테르개명게는 자웅동체로서 성숙시기에 난소는 낭상구조로 짙은 적색을 띠고, 정소는 난소 표면을 싸고 수지상으로 발달하며 유백색을 띠고 있다 (Fig. 2-A). 생식소와 체벽부를 포함해 절단된 조직표본에서 보면 외측체벽은 근섬유를 포함한 섬유성결합조직이 발달해 있고 여기에 이어진 방형의 난소낭과 그 주변부에 자리 잡고 있는 여러 개의 정소소엽을 식별할 수 있었다 (Fig. 2-B).

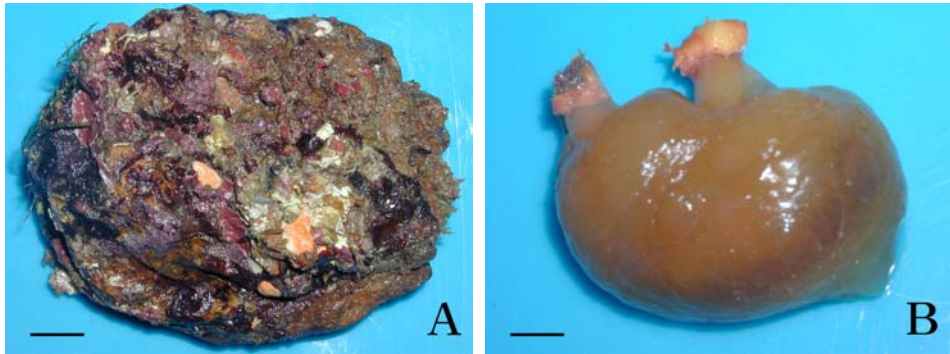


Fig. 1. Morphological feature of *H. hilgendorfi ritteri*. A; External shape, B; internal shape. Scale bar indicates 10 mm.

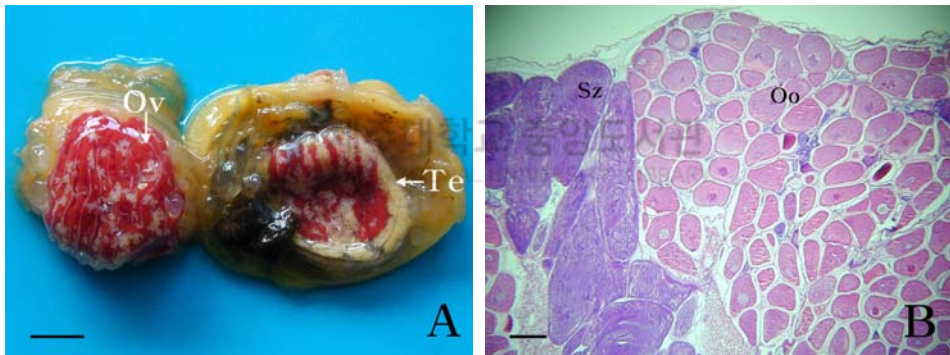


Fig. 2. Appearance of gonad (A) and cross section of gonad (B) of *H. hilgendorfi ritteri*. A; Scale bar indicates 10 mm, B; Scale bar indicates 200 μm , Oo; oocyte, Ov; ovary, Sz; spermatozoa, Te; testis.

2. 난형성과정

난소는 일반적으로 단층생식상피로서 그 외측은 얇은 기저막에 의해 싸여 있고, 이들 생식상피와 기저막은 외벽의 결합성섬유층과 기부에서 서로 연결되어 있다. 난소내강과 난소소관의 생식상피에는 난원세포들이 분열증식하고 있었다. 난원세포는 구형으로 크기가 10~20 μm 였으며, 세포질이 빈약하고 7~15 μm 의 핵이 세포의 대부분을 차지하고 있었다. 초기 난모세포는 세포질에 균일한 과립상 물질이 축적되어 난경 약 40 μm 로 증가하였고, 이때도 세포질에 비해 핵의 면적이 크고 핵내에 한개의 뚜렷한 인을 가지고 있었다 (Fig. 3-A). 초기 성장기 난모세포는 세포질에 유구들이 분포하고 난경 80~100 μm 로 성장하였다 (Fig. 3-B). 난모세포가 130~200 μm 로 성장하면서 세포질에는 난황과립이 축적되기 시작하고, 난세포질의 피층구역에 액포과립 (test cell)들이 나타났다 (Fig. 3-C). 난경 220~260 μm 의 크기한 성숙한 난모세포들은 세포질에 다수의 난황과립들이 균일하게 분포하고 세포질 가장자리의 액포 (test cell)들은 난막하방에 배열되었다. 그리고 이중난막 사이에 간층직물질이 가득 차서 난막과 외측막의 사이가 분리되고 난막외측과 외여포층 사이에 내여포층이 형성되며, 내여포는 입방원주상 피형세포가 단층배열하고 있었다 (Fig. 3-D). 방란을 마친 난소내에는 성숙란을 싸고 있던 내여포세포층은 성숙란과 함께 빠져나가고, 외여포세포층이 기저막과 함께 남아 방란 흔적이 관찰되었다. 그리고 일부 미방출된 성숙란들이 소엽상피 또는 내강에 잔존하여 퇴화 흡수되고 있었다 (Fig. 3-E). 난소내 미방출된 성숙란들이 퇴화 흡수됨에 따라 난소는 급격히 수축되었고, 난소소엽의 상피와 기부에는 난원세포와 어린난모세포들이 출현하고 있었다 (Fig. 3-F).

3. 정자형성과정

정소는 난소주변부에서 수지상소엽으로 발달해 각각 정소소엽을 형성하고 있었다. 정소소엽 역시 소성 결합조직이 기저막을 형성하고 그 내층의 생식상피에서 정원세포들이 분포하였다. 이후, 정소소엽들은 방을 형성하고 팽대되며, 생식상피층에서 중앙내강쪽으로 다수의 정모세포군과 정세포무리가 관찰되었다 (Fig. 4-A). 정소가 발달함에 따라 정소 소엽이 비후되고 소엽 내강에 변태를 마친 정자 무리들이 밀집되었다 (Fig. 4-B). 방정후의 정소소엽 내강에는 상당수의 미방출 정자가 잔존하고 있었다 (Fig. 4-C). 방정을 마친 정소는 미방출된 잔존정자가 완전히 퇴화 흡수되기 전에 새로운 정소소엽이 발달하였으며, 이들 소엽의 발달과 함께 신생 정원세포들이 출현하였다 (Fig. 4-D).



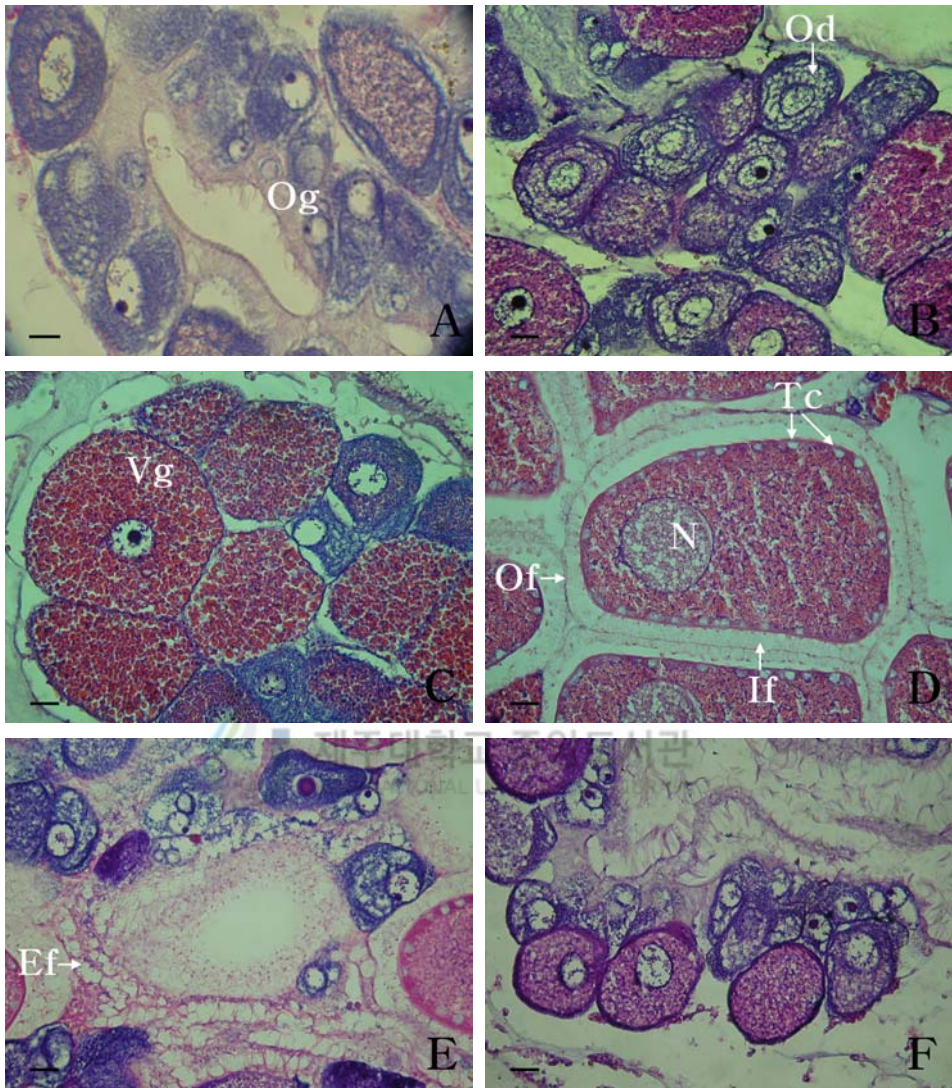


Fig. 3. Photomicrographs of ovarian development of *H. hilgendorfi ritteri*.

A; Early growing stage, B; Growing stage, C; Vitellogenesis stage, D; Mature stage, E; Spent stage, F; Recovery stage. Scale bar indicates 25 μm . Ef; empty follicle, If; inner follicle layer, N; nucleus, Od; oil droplet, Of; outer follicle layer, Oo; oogonia, Tc; test cell, Yg; yolk globule.

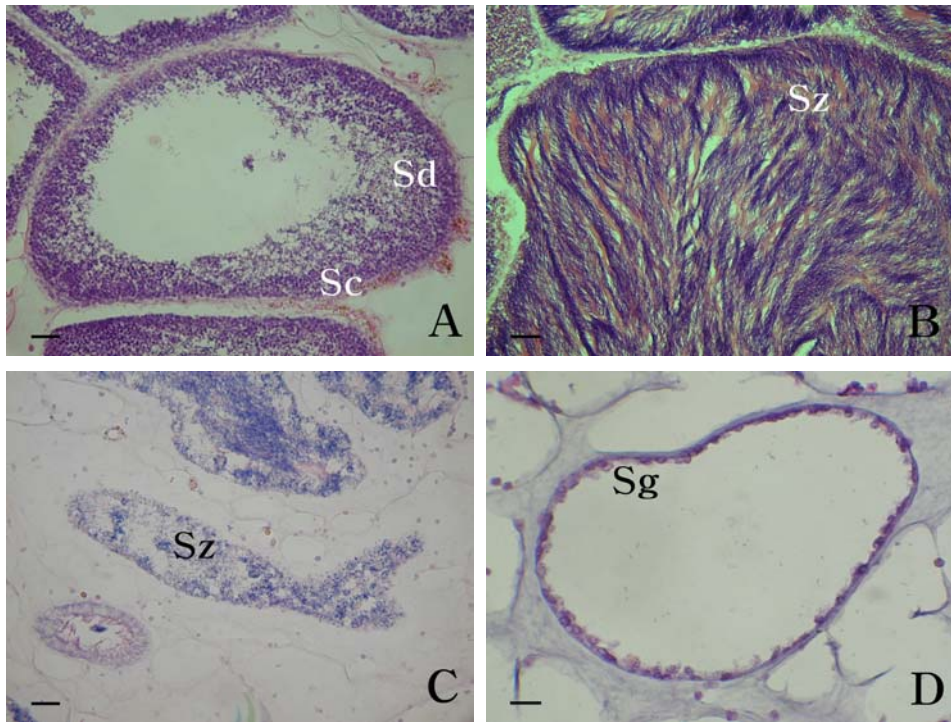


Fig. 4. Photomicrographs of testicular development of *H. hilgendorfi ritteri*. A; Growing stage, B; Mature stage, C; Spent stage, D; Resting stage. Scale bar indicates 25 μm . Sc; spermatocyte, Sd; spermatid, Sg; spermatogonia, Sz; spermatozoa.

4. 난모세포 크기의 월별 및 주별 변화

조사기간 중 난모세포 크기의 월별 변화는 Fig. 5와 같다. 2001년 11월에는 10~80 μm 의 어린난모세포들과 200~260 μm 의 성숙란들이 혼재하였고, 12월부터 일부 미방출된 성숙란들이 존재하지만, 대부분 성숙란들이 산란되어 난소에는 어린난모세포들이 대부분을 차지하고 있었다. 이듬해 3월부터 100 μm 이상의 난모세포가 출현하기 시작하여 5~7월은 세포질에 난황이 축적되는 130~200 μm 의 난모세포들이 출현빈도가 증가하였다. 이후, 8월부터 200 μm 이상의 성숙란들이 출현하기 시작하였고, 9~10월에는 220~260 μm 의 성숙란이 난소의 대부분을 차지하였다.

산란시기를 전후하여 산란횟수, 산란리듬을 탐색하기 위해 월주기 (신월, 상현, 보름, 하현)를 기준으로 채집한 조사기간 중 난모세포의 크기 변화는 Fig. 6과 같다. 조사기간 중 난소내에는 100 μm 이하의 어린난모세포와 200 μm 이상의 성숙란들이 혼재하였지만, 산란기로 추정되는 11월과 12월에 200 μm 이상의 성숙란 분포를 보면, 보름을 전후한 11월 13일(상현)과 11월 28일(하현) 그리고 12월 14일(상현)에 상대적으로 난소내에 성숙란이 차지하는 비율이 감소하였다.

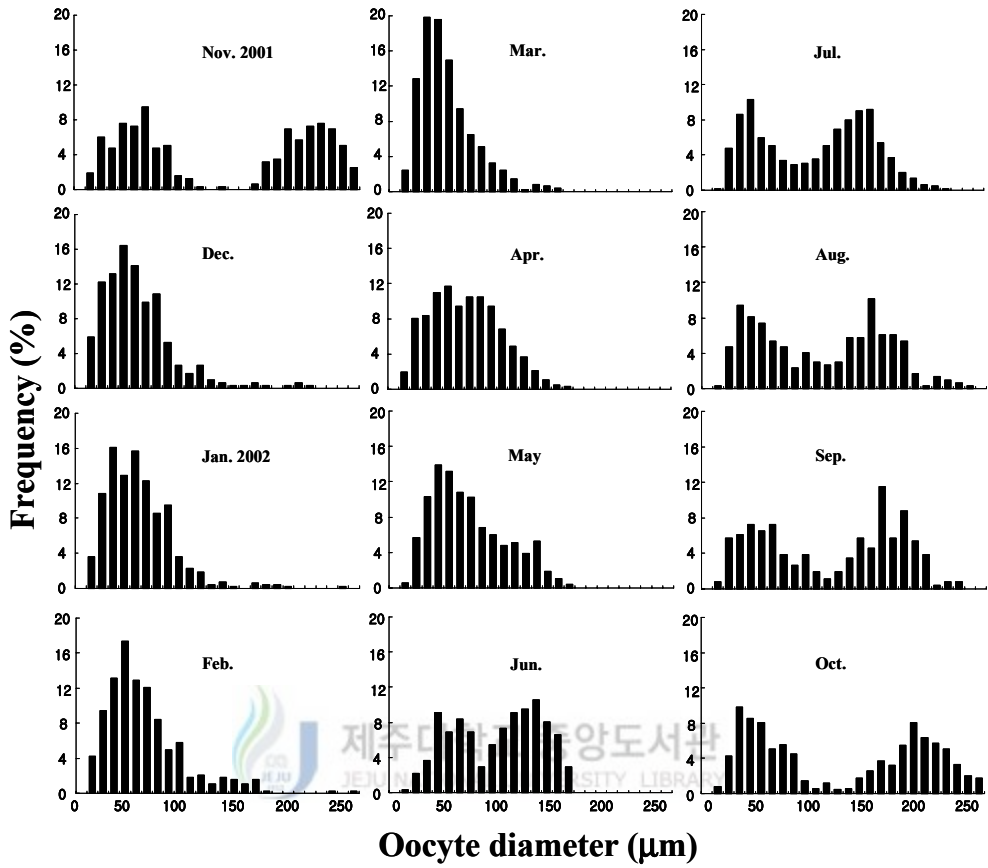


Fig. 5. Monthly changes of oocytes diameter in the ovary of *H. hilgendorfi ritteri* from November 2001 to October 2002.

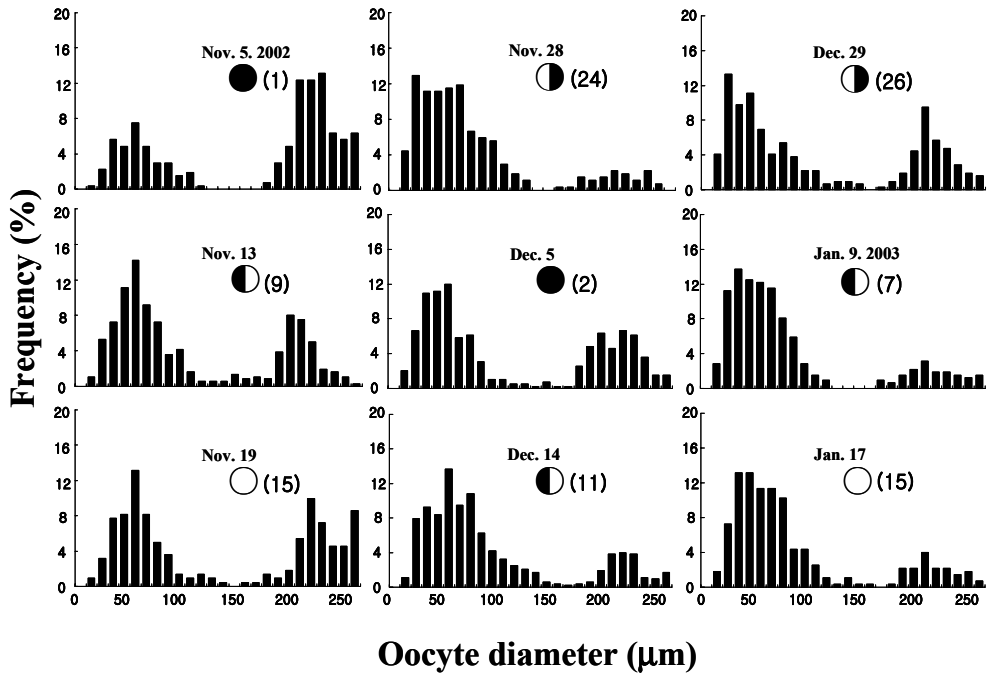


Fig. 6. Weekly changes of oocytes diameter in the ovary of *H. hilgendorfi ritteri* from November 2002 to January 2003.

5. 생식주기

생식소 발달 및 생식세포의 형성과정을 조직학적으로 조사한 결과와 난모세포 크기의 월별 변화를 종합하여 보면, 리테르개명계의 생식주기는 난소의 경우 성장기, 난황기, 성숙기, 방란기, 회복기 그리고 정소의 경우 성장기, 성숙기, 방출기, 휴지기의 연속적인 주기로 구분할 수 있었다 (Fig. 7).

1) 성장기

성장기에 접어든 개체들은 난소 중앙내강과 난소소관의 생식상피에서 난원세포의 활발한 분열증식과 더불어 초기 난모세포들이 난소 내강쪽으로 성장하였으며, 성장기 개체들은 2월부터 6월까지 관찰되었지만, 주로 3~5월에 출현하였다.

정소에서는 소엽상피를 따라 정원세포보다 정모세포의 수적인 증가가 일어났으며, 정세포와 소수의 정자 무리들이 나타났다. 이들 성장기의 개체들은 10월에 출현하였다.



2) 난황기

어린 난모세포들이 80~100 μm 로 성장하면 세포질은 충만해지면서 급격히 커지고 원시여포상피에 둘러싸여 있다. 이후 난모세포들이 130~200 μm 로 커지면 난세포질의 피층에 공포상의 액포과립 (test cell)들이 출현하였고, 이때부터 난세포질은 과립성 난황물질이 축적되면서 급격한 성장을 하였다. 난황기 단계의 개체들은 4월부터 9월까지 관찰되었지만, 주로 5~7월에 출현하였다.

3) 성숙기

생식소가 성숙해지면서 외관상 난소는 짙은 적색을, 정소는 유백색을 띠며 난소를 둘러싸고 있었다. 성숙기의 난소는 일부 성장중인 어린 난모세포들도 존재하였지만, 대부분의 소엽 내강은 성숙란들로 가득 채워졌다. 성숙란의 난경은 약 200~260 μm 였고, 세포질에 다수의 난황과립이 균일하게 분포하고 난막외층과 외

여포층 사이에 내여포층이 형성되며, 내여포는 입방원주상피형세포들로 단층배열을 하였다. 성숙기 단계의 개체들은 7월부터 12월까지 관찰되었지만, 주로 7~10월에 출현하였다.

정소는 정소소엽에 정모세포의 수는 현저히 감소되는 반면 변태하는 정세포와 변태를 마친 정자들로 가득 차 있었다. Haematoxylin에 강하게 염색되는 정자의 두부는 정소소엽의 벽쪽으로, eosin에 염색되는 꼬리부는 소엽의 내강을 향하였다. 성숙기 단계의 개체들은 10~12월에 출현하였다.

4) 방란 및 방출기

방란기의 난소는 외벽으로부터 차츰 내강을 향해 방란이 일어나고 있는데 방란을 마친 난소내에는 성숙란을 싸고 있던 내여포세포층은 난과 함께 빠져나가고, 외여포세포층이 기저막과 함께 남아 방란 흔적이 관찰되었다. 방란과 함께 난소소관상피를 따라 다시 어린 난모세포들이 발달하였고, 일부 미방출된 성숙란들이 소엽상피 또는 내강에 잔존하여 퇴화 흡수되고 있었다. 난소내 남은 외여포세포층은 위축 퇴화되었다. 방란기 단계의 개체들은 11월부터 2월까지 관찰되었지만, 주로 11~1월에 출현하였다.

정소에서도 방정이 일어나면 정자가 완전히 방출되는 것이 아니고 중앙에는 여전히 미방출된 정자가 남아 있고 기저막의 생식상피에는 정모세포 및 정세포가 서로 응축되면서 퇴화되었다. 방출기 단계의 개체들은 11월부터 2월까지 관찰되었지만, 주로 11~1월에 출현하였다.

5) 회복 및 휴지기

회복기의 난소는 난소 내강상피를 따라 10~20 μm 크기의 난원세포 무리들과 난경 40~60 μm 크기의 어린 난모세포들이 다시 성장을 시작하였고 외벽으로부터 발달해온 이중섬유성결합조직이 내강으로 분기하였다. 방란된 구역에서는 미방출된 성숙란들이 대부분 퇴화, 흡수되었고 난소는 망상조직 형태를 보이면서 새로운 회복기에 접어들었다. 회복기 단계의 개체는 12월부터 4월까지 관찰되었지만, 주로 1~2월에 출현하였다.

휴지기의 정소는 중앙대강의 미방출된 잔존 정자들이 거의 퇴화 흡수됨과 동시에 외생식상피를 따라 정원세포들이 나타났다. 휴지기 단계의 개체는 1~9월에 나타났다.



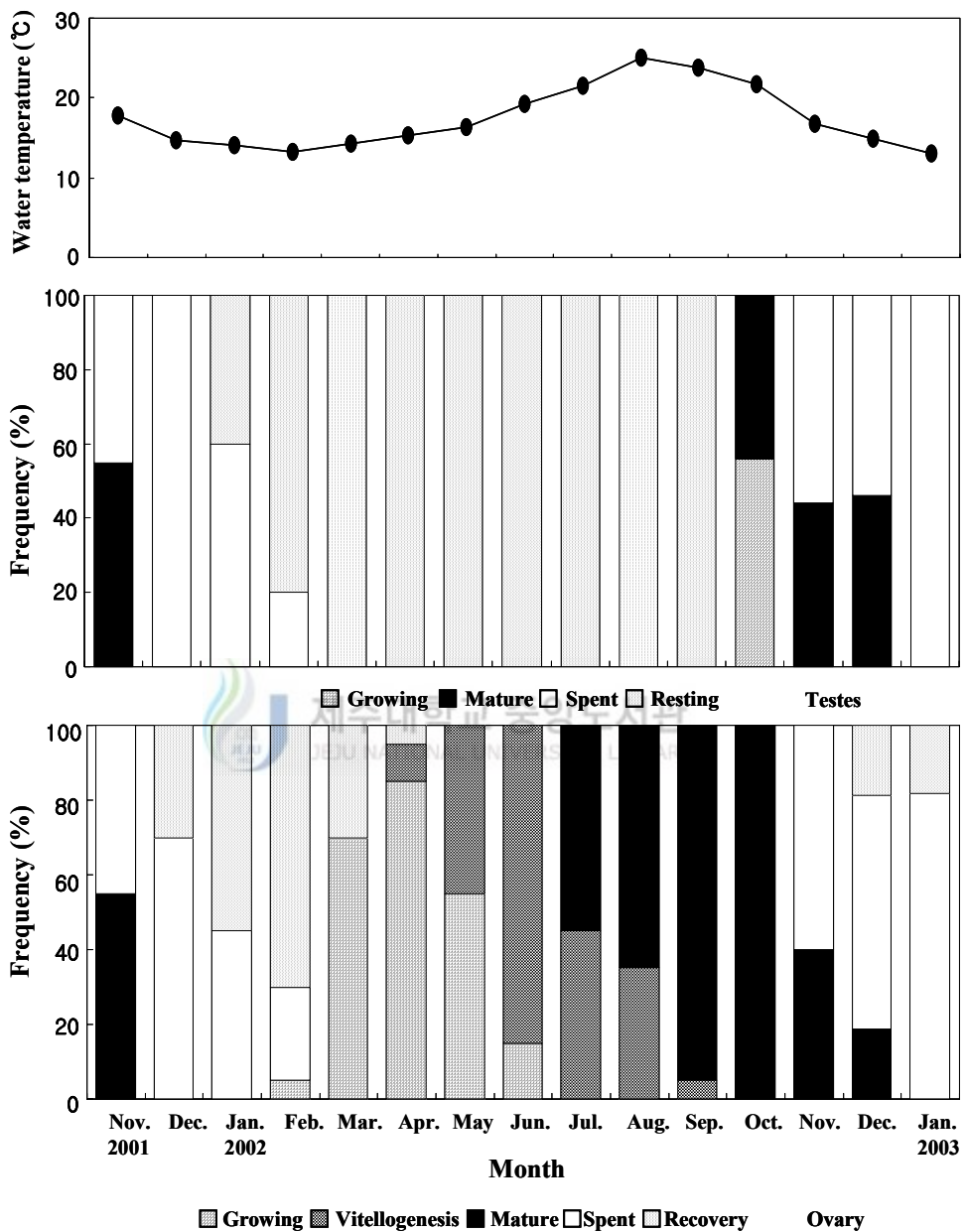


Fig. 7. Monthly changes in water temperature and frequency of testes and ovary developmental phase of *H. hilgendorfi ritteri* from November 2001 to January 2003.

6. 수정란의 발생과정

제주도 용담연안에서 2002년 11월에 채집된 리테르개명계의 생식소를 절개하여 알과 정자를 채취한 후, 수온 $18.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 인공수정을 시켰다. 그러나 동일한 개체의 알과 정자로는 수정이 되지 않았으며 다른 개체의 알과 정자로만 수정이 일어나는 즉 타가수정만이 정상 난발생을 하였다.

자연산란은 2002년 11월 28일에 채집된 개체를 실내 사육수조에서 사육 중 12월 3일, 수온 $21.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 일어났으며, 수정된 리테르개명계의 난할과정은 Table 1과 Fig. 8, 9에 나타내었다.

Table 1. Time series of development of the fertilized egg at $21.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$

Developmental stage	Elapsed time (hour)	Remark
Unfertilized egg	-	Fig. 8-A
Fertilized egg	0	Fig. 8-B
2 cell	1.5	Fig. 8-C
4 cell	2.1	Fig. 8-D
8 cell	2.6	Fig. 8-E
16 cell	3.1	Fig. 8-F
32 cell	3.6	Fig. 8-G
64 cell	4.8	Fig. 8-H
Morula stage	10.0	Fig. 8-I

Elapsed time indicated time after fertilization.

Table 1. Continued

Developmental stage	Elapsed time (hour)	Remark
Early gastrula stage	11.5	Fig. 9-A
Late gastrula stage	12.1	Fig. 9-B
Tail bud stage	13.3	Fig. 9-C
Cephalization and enlargement of tail	13.8	Fig. 9-D
Complete formation of eye	16.3	Fig. 9-E
Tadpole larva in prior to hatching	18.8	Fig. 9-F
Tadpole larva just after hatching	19.3	Fig. 9-G
Free swimming larva	20.5	Fig. 9-H

Elapsed time indicated time after fertilization.

미수정란의 크기는 평균 $294.0 \pm 15.5 \mu\text{m}$ 로 난막 외부에는 $20.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$ 크기의 여포세포가 단층으로 난을 감싸고 있어 여포세포층까지의 포함한 크기는 $334.0 \pm 14.1 \mu\text{m}$ 이었다 (Fig. 8-A). 수정란은 분리침성난으로 부화될 때까지 여포세포로 감싸여 있었다 (Fig. 8-B). 수정 후 80분~110분이 경과하면 수정란의 난할은 동-식물극축으로 하는 난축방향에 수직으로 일어났다. 할구는 거의 같은 크기의 2세포기로 되며 할구 주변에 회색난황물질들이 분포하여 있었다 (Fig. 8-C). 이후 약 40분 후에는 1차 난할면과 같은 방향의 직각으로 제2차 난할이 수직으로 일어나 4세포기로 되었으며 (Fig. 8-D), 약 30분경과 후에 동. 식물극의 난축에 직교하여 제3차 난할이 일어나 수정란은 8세포기가 되었다 (Fig. 8-E). 제 4차 난할도 약 30분 후에 수직으로 일어나 16세포기가 되었고 (Fig. 8-F), 이어 난할이 계속되어 32세포기 (Fig. 8-G)와 64세포기 (Fig. 8-H)를 거쳐 수정 후 약 10시간이 경과하면 상실기 단계로 되었다 (Fig. 8-I). 상실기 단계에 이어 약 1시간 30분이 경과하면, 식물극 부분이 다소 평평해지기 시작하면서 함입이 일어나 원구 위치가 뚜렷하였고, 원구의 반대편에서도 함입이 일어나면서 가운데가 점차 잘룩한 낭배기 단계를 보였다 (Fig. 9-A, B). 수정 후 약 14시간 이후에는 배의 후방에 꼬리의 형성과 함께 두부와 꼬리의 분화가 뚜렷하였고, 신경관과 척색 그리고 외배엽, 내배엽, 간충직 등이 구분되었다 (Fig. 9-C). 꼬리가 더욱 신장됨에 따라 난막 안에서 굽어지고, 동체부(胴體部)의 형태가 뚜렷해졌다 (Fig. 9-D). 이후 꼬리는 더욱 신장되어 몸체를 한바퀴 돌게 되고, 유생의 안점도 뚜렷이 관찰되었다. 그리고 이때부터 서서히 근육운동을 하기 시작하였으며, 외부 여포는 차츰 퇴화 현상을 보였다 (Fig. 9-E). 수정 후 약 20시간 후에는 조금씩 움직임이 격렬해 지면서 난막과 여포막이 파괴가 일어났다. 이후 외부 여포막이 벗겨지기 시작하면서 몸체 중간부분부터 서서히 밖으로 빠져 나왔다 (Fig. 9-F). 부화 직후에는 꼬리가 타원형으로 휘어져 움직임이 활발하지 못하였으나 (Fig. 9-G), 수초 후, 꼬리가 펴지면서 정상적인 유생형태를 보이며 활발히 수영을 하는 올챙이형 유생으로 되었다. 올챙이형 유생의 크기는 전체길이가 1.30~1.45 mm 정도이며 척색의 체절은 40~42개였다 (Fig 9-H).

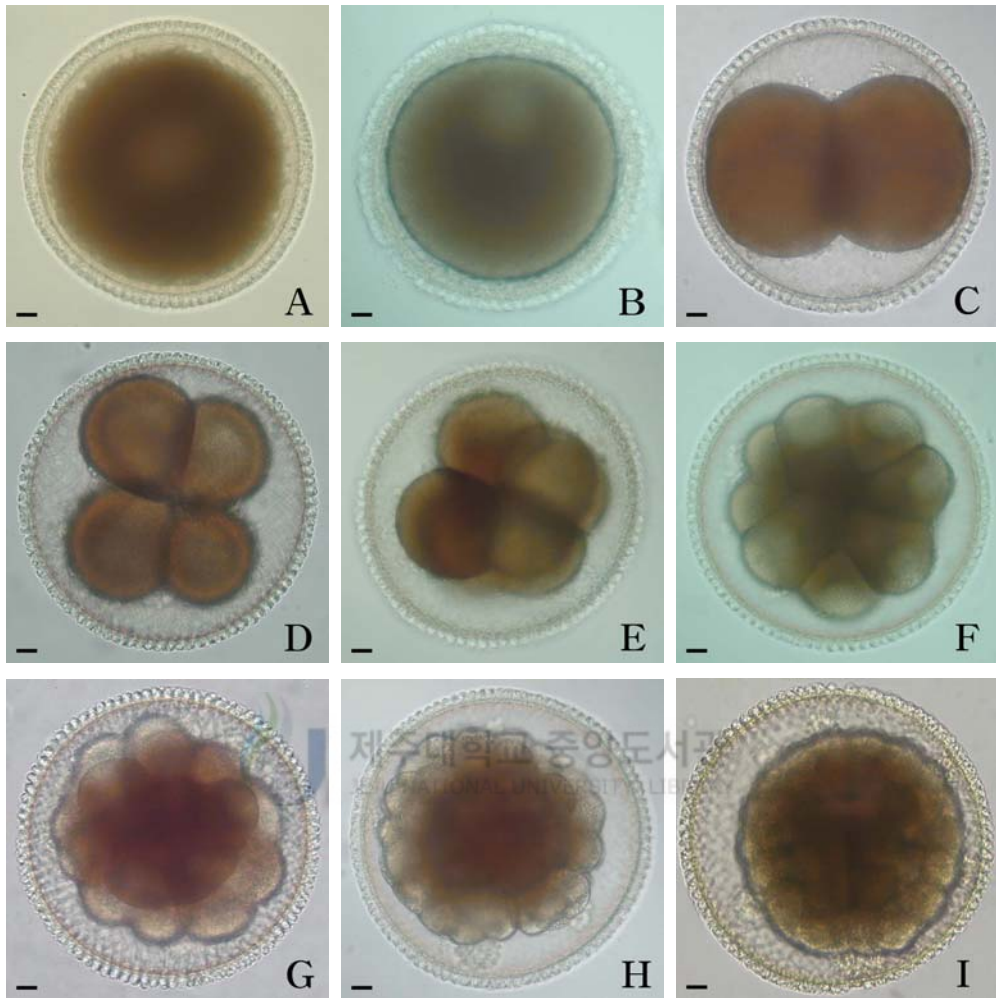


Fig. 8. Early development of *H. hilgendorfi ritteri*.

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 bar indicates 25 μ m.

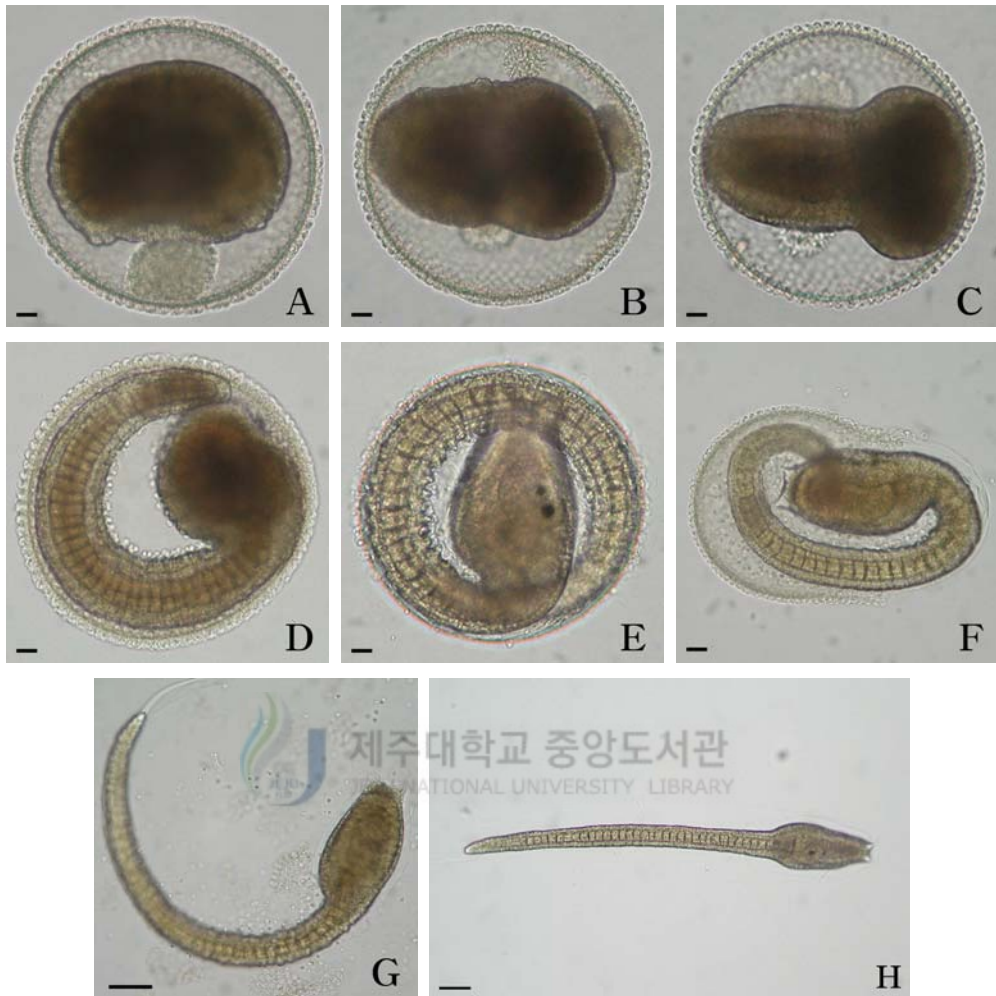


Fig. 9. Larval development of *H. hilgendorfi ritteri*.

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 bar indicates 25 μm , G and H; Scale bar indicates 100 μm .

7. 유생의 변태

부화 후 올챙이형 유생의 발달과 변태는 Table 2와 Fig. 10, 11에 나타내었다. 부화 후 약 4시간이 경과하면, 부착돌기가 소실되고 꼬리 기부에 있는 척색의 선단이 붕괴되기 시작하였다 (Fig. 10-A). 이어 부화 후 약 7.5시간이 경과하면, 꼬리를 구성하는 내부조직이 체부로 약 1/3 흡수되었다 (Fig. 10-B). 부화 후 17~18시간이 경과하면, 꼬리를 구성하는 내부조직이 완전히 흡수되어 투명한 외막흔적이 관찰되었고, 이어 동체(胴體)만 남았다 (Fig.10-C, D).

부화 후 30시간이 경과하면서 원뿔형의 부착근이 부착돌기가 있던 부근에서 돌출되기 시작하였다 (Fig. 10-E). 이후 부착근이 더 신장되었고 동체 주변에 가시형태의 돌기들이 새롭게 형성되었으며, 부착근은 사방으로 길게 뻗어 완전히 부착면에 고착하였다 (Fig. 10-F).

부화 후 6~7일이 경과하면, 동체 둘레에 가시돌기들이 더욱 생성되고, 입수공과 출수공이 형성되면서 새열도 관찰되었다 (Fig. 11-A). 부화 후 13~14일이 경과하면, 동체는 점점 타원형으로 신장되고 6~7개의 새열이 관찰되었다 (Fig. 11-B). 부화 후 17~18일경에는 성체와 동일한 형태를 가진 어린 개체로 발달하였다 (Fig. 11-C).

Table 2. Time series of metamorphosis of the hatching larva at $21.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$

Metamorphosis stage	Elapsed time (hour)	Remark
Beginning tail absorption	4.0	Fig. 10-A
Continuing tail absorption	7.5	Fig. 10-B
Cytolysis in the remained tail	17.5	Fig. 10-C
Complete tail absorption	18.0	Fig. 10-D
Appearance of adhesive papilla	30.0	Fig. 10-E
Enlargement of adhesive papilla	36.5	Fig. 10-F
Distinct oral and atrial siphon	156.0	Fig. 11-A
Protoascidian, 13 days after settlement	330.0	Fig. 11-B
Protoascidian, 17 days after settlement	426.0	Fig. 11-C

Elapsed time indicated time after hatching.



Fig. 10. Metamorphosis of the hatching larva of *H. 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 bar indicates 100 μm . Ap; adhesive papilla.

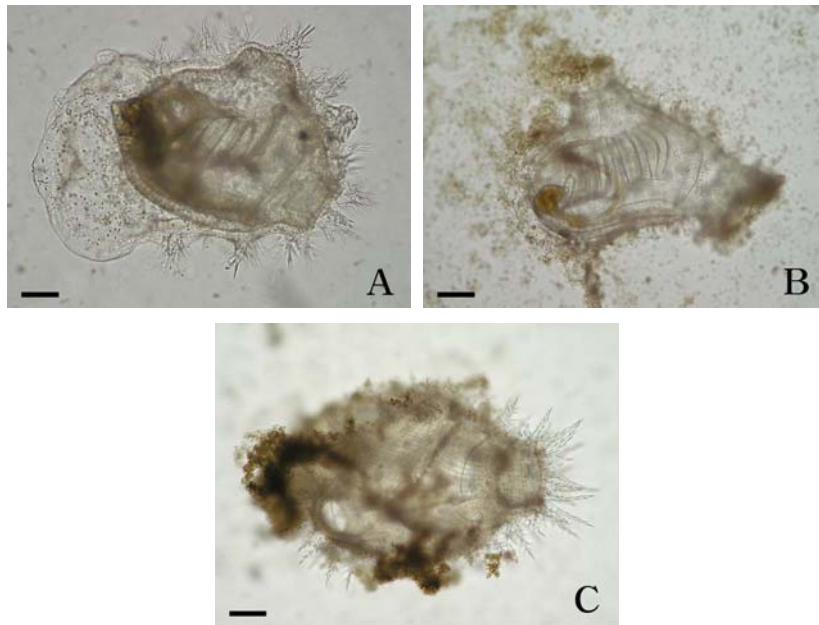


Fig. 11. Metamorphosis of the hatching larva of *H. hilgendorfi ritteri*.
A; Distinct oral and atrial siphon, B; Protoascidian, 13 days after settlement, C; Protoascidian, 17 days after settlement. Scale bar indicates 200 μm .

IV. 고 찰

명계류는 전 세계의 연안에 넓게 분포하는 고착성 저서 생물로서, 생식방법에 따라 유성생식만을 하는 단체(單體) 명계류와 무성생식을 함께 하는 군체(群體) 명계류로 나뉜다. 우렁쟁이, *H. roretzi*, 흰명계, *S. plicata*, 미더덕, *S. clava*, *P. cryptocarpa kroboja*는 단체 명계로 난생형에 속하고 (Na and Lee, 1977; Chen and Dai, 1998), *Aplidium multiplicatum* (Nakauchi and Kawamura, 1974), *Metandrocarpa taylori* (Watanabe and Newberry, 1976)는 군체 명계로 출아법으로 번식한다. 이 연구의 시료인 리테르개명계는 서식지에서의 생태와 산란 행위를 관찰한 결과, 무리를 형성하지 않고 개체별로 떨어져 암반에 고착하여 생활하는 단체 명계였고, 산란시기에는 각개체가 방란, 방정을 하여 수중에서 수정하는 난생형이었다.

명계류의 배우자형성과정에 있어 난모세포의 성장과 여포세포의 역할에 대하여 많은 연구가 이루어져 있다. 특히, 난을 감싸는 외피는 test cell 그리고 내여포세포와 외여포세포로 구성되며, 여포세포는 생식상피에서 기원 분화되고, test cell은 원시 여포세포에서 분화된다 (Berrill, 1950, 1975). Kessel and Kempe (1962)는 내여포세포가 난황전구물질을 합성 저장하고, test cell은 이러한 과립들을 난모세포로 이송하는 역할을 한다고 하였다. 또한 test cell의 기능에 관해서 Knaben (1936)은 일종의 분비세포로, Kessel and Beams (1965)은 색소과립을 생산하는 세포로, 그리고 Mancuso (1965)는 난황형성에 관여하는 것으로 보았다. 이 연구에서 test cell들은 난황형성기에 출현하였다가 약 220~260 μm 로 성숙한 난에서 난막의 피질층에 배열되는 것으로 보아 주로 난황축적을 포함한 난의 성숙에 관여 하는 것으로 사료된다.

일반적으로 수온은 해산 무척추동물의 산란시기를 조절하는 주된 요인이다. 해산 무척추동물은 지리적 위치에 따라 산란시기가 다르며 (Millar, 1971, Berrill, 1975), 생식 전략에 따라 산란시기가 하계산란종 (늦봄~초가을), 동계산란종 (늦

가을~초봄) 그리고 연중산란종으로 나뉘고, 산란시기에 산란 횟수도 종 특이적이다 (Chung et al., 1998; Fretter, 1984). 따라서 명게류의 지리적 위치와 산란시기의 관계에 대하여 많은 연구가 이루어졌다 (Dybern, 1965, Becerro and Turon, 1992). 카브리해의 Galeta에 서식하는 *Didemnum* sp.는 연중 산란을 하며 (Millar, 1974), 지중해 북서부에 서식하는 *M. sabatieri*와 *H. papillosa*는 수온이 하강하는 9월부터 11월까지 산란이 일어나고 (Becerro and Turon, 1992), 대만 북부 연안에 서식하는 *P. cryptocarpa kroboja*의 산란은 수온이 높은 시기인 4월부터 11월 사이에 일어난다 (Chen and Dai, 1998). 우리나라에 서식하는 흰명게는 4월과 6월 사이에, 미더덕은 5월에서 9월에 산란이 일어나며 (Lee, 1976, 1977), 유령명게는 8월부터 11월까지, 우렁쟁이는 11월과 12월 사이에 산란이 일어난다 (Yang and Lee, 1978; Park et al., 1991).

이 연구에서 리테르개명게의 난소는 수온이 상승하는 5~6월부터 난모세포에 난황이 축적되어 수온이 21~25°C인 7~10월에 대부분이 성숙한 개체가 나타났으며, 정소는 10월에 성숙한 개체가 출현하였다. 이후, 수온이 16~17°C인 11월부터 일부 개체가 산란을 시작하여 이듬해 2월까지 산란이 일어났지만, 대부분의 개체들은 수온이 13~14°C인 11~1월에 주 산란이 일어나는 것으로 보아, 리테르개명게의 생식소 발달과 산란은 수온과 아주 밀접한 관계가 있다고 생각된다. 그리고 산란시기를 전후하여 산란횟수, 산란리듬을 탐색하기 위해 월주기 (신월, 상현, 보름, 하현)를 기준으로 채집하여 조사한 결과, 리테르개명게는 신월과 보름, 보름과 신월사이에 산란이 일어나는 것으로 추정된다. 그러나 실질적인 월주기와 산란리듬을 규명하기 위해서는 수조내 사육조건에서 산란리듬을 탐색할 필요가 있다고 사료된다.

단체 명게류는 대부분 체외 수정을 통해 유성생식을 하며, 산란된 알의 크기는 100~500 μm 로 크기가 다양하고, 알을 감싸는 여포세포의 형태 또한 종 특이적이다 (Kessel, 1983; Cloney, 1990). 유령명게의 수정란은 크기가 약 310 μm 이며, 돌기상의 여포를 갖고 있는 반면에 우렁쟁이와 미더덕은 단층의 여포세포가 수정란을 감싸고 있고, 수정란의 크기는 각각 430 μm , 180 μm 이다 (Na and Lee, 1977; Reverberi, 1961). 이 연구에서도 리테르개명게의 자연산란을 유도한 결과, 출수

공을 통해 정자와 알이 산란되어 체외에서 수정이 이루어졌으며, 산란된 알의 크기는 약 330 μm 였고, 단층의 여포세포가 난을 감싸고 있었다.

리테르개명계는 수온 21.0 \pm 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 에서 수정 후 낭배기까지 소요시간은 약 12.5시간이었고, 부화까지는 약 20.5시간이 소요된 반면에, 우렁챙이는 (Park et al., 1991) 수정 후 부화까지의 소요시간은 수온 18.0~20.5 $^{\circ}\text{C}$ 에서 23.5시간, 12.5~13.5 $^{\circ}\text{C}$ 일때 40.3시간, 6.5~8.0 $^{\circ}\text{C}$ 일때 72.0시간이 소요되었다. 또한, 미더덕은 수온 16.0 $^{\circ}\text{C}$ 에서 수정 후 약 14.0시간에 부화되었으며, 유령명계는 수온 18, 21 $^{\circ}\text{C}$ 에서 수정 후 부화까지는 약 12.0시간이 소요되었다 (Na and Lee, 1977). 이와 같이 명계류의 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.

명계류의 부화 유생은 올챙이형 유생으로 부착기질에 부착하여 고착생활에 들어가기 전까지 유영기간을 갖고 이 기간에 차츰 꼬리가 흡수되기 시작한다. 이후 빠른 속도로 꼬리의 퇴화 흡수가 일어나면서 두부만 남아 거의 원형 상태를 이루고 주위의 기질이나 저면에 부착기로 부착한다. 올챙이형 유생의 크기는 약 0.6 mm (*Molgula manhattensis*)에서 약 11.0 mm (*Eudistoma digitatum*)이며, 유영시간 또한 몇 시간에서 수 일로 종 특이적이다 (Richard, 1982). 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), 우렁챙이의 경우 1.5~1.7 mm, 유영기간은 약 1일이다 (Park et al., 1991). 리테르개명계의 올챙이형 부화유생 크기는 1.30~1.45 mm이었고, 유영기간은 2~14시간, 유영이 활발한 개체만 선별 사육한 것은 최장 약 3일 정도까지 유영기간을 보여 다소 차이가 있었다.

Cloney (1982, 1990)는 명계류의 변태과정을 부착근의 출현, 꼬리의 흡수, 유생 몸통의 외부표피 소실, 혈액 혹은 색소 세포의 이주 등 10가지 유형으로 구분하였다. 또한 부착근은 종 특이적인 차이를 보여 8가지 유형으로 구분하였는데, 우렁챙이, 유령명계, *S. plicata*는 원뿔형의 부착근을 갖는 유형이고, *Distaplia occidentalis*는 컵모양의 부착근을 갖는 유형이다. 변태과정에 있어 가장 주된 변

화는 올챙이형 유생의 꼬리 흡수로 5가지 유형; Distaplia 유형, Ecteinacidia 유형, Botryllus 유형, Boltenia 유형 그리고 Molgula 유형으로 구분하였다. 멧게과와 미더덕과의 멧게류는 Boltenia 유형에 속하며, 꼬리의 흡수는 척색의 끝 부분에서 파열되면서 시작되고, 척색 세포들이 몸통으로 흘러 들어간다 (Cloney, 1961, 1969; Numakunai et al., 1964). 이 연구에서 리테르개멍게의 변태과정을 조사한 결과, 리테르개멍게의 부착근은 원뿔형이며, 꼬리의 흡수는 Boltenia 유형에 속하는 종으로 사료된다.

입수공과 출수공이 형성되는 시기에 대하여는 미더덕 (Na and Lee, 1977)은 부화 후 약 7일에 입수공과 출수공이 형성되었으며, 우렁챙이 (Pyen et al., 1977)는 부화 후 24일에 형성되었다. 리테르개멍게는 부화 후 6~7일에 입수공과 출수공이 형성되어 미더덕과 유사한 경향을 보였지만, 우렁챙이와는 현저한 차이를 보였다. 또한, 부착 후 성체와 동일한 형태의 어린개체로 발달하기까지의 경과시간은 미더덕(Na and Lee, 1977)이 약 10일후, 리테르개멍게는 약 17~18일정도가 소요되었다.

이상의 결과를 종합해보면, 리테르개멍게의 산란은 수온이 하강하는 11~1월에 대부분 산란이 일어나는 동계산란종이며, 산란시기내 다회산란을 하는 종으로 사료된다. 그리고 외부환경 인자인 수온의 변화가 이들의 생식소발달, 생식주기 및 산란에 매우 밀접한 관계가 있으므로, 앞으로 성숙에 미치는 외부환경요인에 대한 많은 연구가 이루어져야 될 것으로 생각된다. 또한, 앞으로 산업화 적용을 위해 인공채묘, 먹이생물, 유생의 성장과 생존률 등을 조사하여 종묘생산 및 양식 산업화 가능성에 대하여 탐색할 필요가 있다고 사료된다.

V. 요약

이 연구는 2001년 11월부터 2003년 1월까지 제주도 북서부 위치한 용담 연안에서 매월 채집한 리테르개명게, *Halocynthia hilgendorfi ritteri*의 생식세포형성과정, 생식주기 및 월별 난모세포 크기 변화를 조직학적인 방법으로 조사하였다. 그리고 2003년 11월에 인공 수정 및 자연 산란된 수정란의 초기 발생과 유생의 변태 과정을 조사하였다.

리테르개명게는 동시성 자웅동체로서 생식소는 체벽부에 붙어 있다. 생식주기는 난소의 경우 성장기 (2~6월), 난황기 (4~9월), 성숙기 (7~12), 방란기 (11~2월) 및 회복기 (12~4월)의 5단계로 구분할 수 있었고, 수컷의 경우 성장기 (10월), 성숙기 (10~12월), 방출기 (11~2월) 및 휴지기 (1~9월)의 4단계로 구분할 수 있었다. 주 산란시기는 수온이 하강하는 11월과 1월 사이에 일어나며, 생식소를 조직학적으로 관찰한 결과 리테르개명게는 산란시기에 다회산란을 하는 종으로 사료된다.

리테르개명게는 단체 명계류로 알의 크기가 $334 \pm 14.1 \mu\text{m}$ 인 구형의 알을 산란하며, 난막의 바깥층은 많은 여포 세포가 둘러싸고 있다. $21.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 수온에서, 수정 후 약 1.5시간이 경과하면 제 1 난황이 일어났으며, 수정 후 약 12.5 시간이 경과하면 낭배기 단계가 되었다. 수정 후 약 13.3 시간이 경과하여 꼬리가 형성되었고, 자유 유영의 유생은 수정 후 20.5 시간이 경과된 후에 관찰되었다. 갓 부화한 올챙이형 유생의 크기는 1.30~1.45 mm였고, 2~14시간동안 유영을 하였다. 부화 후 약 4 시간이 경과하면, 부착돌기가 소실되고 꼬리 기부에 있는 척색의 선단이 붕괴되기 시작하였다. 부화 후 17~18시간이 경과하면, 꼬리를 구성하는 내부조직이 완전히 흡수되어 동체(胴體)만 남았다. 부화 후 30시간이 경과하면서 원뿔형의 부착근이 부착돌기가 있던 부근에서 돌출되기 시작하였다. 부화 후 6~7일이 경과하면, 입수공과 출수공이 형성되었고, 부화 후 17~18일이 경과하면, 성체와 동일한 형태를 가진 어린 개체로 발달하였다.

VI. 참고문헌

- Becerro, M. A. and X. Turon. 1992. Reproductive cycle of the ascidinas *Microcosmus sabatieri* and *Halocynthia papillosa* in the Northwestern Mediterranean. *Marine Ecology*, 13(4), 363~373.
- Berrill, N. J. 1950. *The Tunicata*. Ray. Soc., London.
- Berrill, N. J. 1975. Chodata: Tunicata. In: A. C. Giese and J. S. Pearse (eds.), *Reproduction of Marine Invertebrate*, Vol. II. Academic Press, New York, P. 241~282.
- Chen, Y. T. and C. F. Dai. 1998. Sexual reproduction of the ascidian *Polycarpa cryptocarpa kroboja* from the northern coast of Taiwan. *Acta Oceanographica Taiwanica*, 37(2), 201~210.
- Chung, E. Y, Park, G. M. and B. S. Kim. 1998. Ultrastructure of sperm cell development and sexual maturation of the shortnecked clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae), on the west coast of Korea. *The Yellow Sea*, 4: 17-29. [in korea]
- Cloney, R. A. 1961. Observations on the mechanism of tail resorption in ascidians. *Amer. Zool.*, 1, 67~87.
- Cloney, R. A. 1969. Cytoplasmic filaments and morphogenesis: the role of the notochord in ascidina metamorphosis. *Z. Zellforsch.*, 132, 167~192.
- Cloney, R. A. 1982. Ascidian larvae and the events of metamorphosis. *Am. Zool.*, 22, 817~826.
- Cloney, R. A., 1990. Urochordata-Ascidiacea, pp. 391~451. In "Reproductive Biology of Invertebrate"(ed. Adiyodi, K.G and Adiyodi, R.G). Oxford and IBH, New Delhi.
- Conklin, E. G. 1905. The organization and cell lineage of the ascidian egg. *J. Acad. Nat. Sci. (Philadelphia)*, 13, 1~119.

- Dybern, B. I. 1965. The life cycle of *Ciona intestinalis* (L.) F. typical in relation to the environmental temperature. *Oikos*, 16, 109~131.
- Freeter, V. 1984. Prosobranchs. In: *The Mollusca, Reproduction* (ed. by Tompa, A.S, Verdonk, N.H. and Van den Biggelaar, J.A.M.). pp. 1-45. Academic Press, New York.
- Hirai, E. 1965. On the changes of the adhesive papillae of the larva of an ascidian, *Halocynthia roretzi*. *Bull. Mar. Biol. St. of Asamushi*, 13, 1~11.
- Hirano, T. and H. Nishida. 1997. Developmental fates of larval tissues after metamorphosis in ascidian *Halocynthia roretzi*. I. Origin of mesodermal tissues of the juvenile. *Dev. Biol.*, 192, 199~210.
- Kessel, R. G. 1983. Urochordata-Ascidiacea. pp. 655~734. In "Reproductive Biology of Invertebrates, Vol. 1, Oogenesis, Opposition and Oosorption"(ed. Adiyodi K.G. and Adiyodi, R.G.) Wiley, Chichester and New York.
- Kessel, R. G. and H. W. Beams. 1965. An unusual configuration of the Golgi complex in pigment-producing "test" cells of the ovary of the tunicate, *Styela*. *J. Cell Biol.*, 25, 55~68.
- Kessel, R. G. and N. E. Kemp. 1962. An electron microscope study of the oocytes, test cells, and follicular envelopes of the tunicate *Molgula manhattensis*. *J. Ultrastruct. Res.*, 6, 57~76.
- Knaben, N. 1936. Ueber Entwicklung and Funktion der Testazellen bei *Corella parallelogramma*. *Mull. Bergens Mus. Arbok.*, 1, 1~33.
- Lee, T. Y. 1976. Gametogenesis and reproductive cycle of urochorda. I. Ascidian, *Styela plicata* (Lesueur). *Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish. Univ. Busan.*, 9, 7~16. [in korea]
- Lee, T. Y. 1977. Gametogenesis and reproductive cycle of urochoda 2. Ascidian, *Styela clava* (Herdman). *Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish. Univ.*

- Busan., 10, 5~14. [in korea]
- Mancuso, V. 1965. An electron microscope study of the test cells and follicle cells of *Ciona intestinalis* during oogenesis. Acta Embryol. Morphol. Exp., 8, 239~266.
- Manni, L., Zaniolo, G. and P. Burighel. 1995. Oogenesis and oocyte envelope differentiation in the viviparous ascidian *Botrylloides violaceus*. Invert. Reprod. Develop., 27(3), 167~180.
- Millar, R. H. 1971. The biology of ascidians. Adv. Mar. Biol., 9, 1~100.
- Millar, R. H. 1974. A note on the breeding season of three ascidians on coral reefs at Galeta in the Caribbean Sea. Mar. Biol., 28, 127~129.
- 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. Nat. Fish. Univ. Busan., 10, 41~56. [in korea]
- Nakauchi, M. and K. Kawamura. 1974. Behavior of buds during common cloacal system formation in the ascidian, *Aplidium multiplicatum*. Rep. Usa Mar. Biol. Stat., 21, 19~27.
- Nishidia, H. 1987. Cell lineage analysis in ascidian embryos by intracellular injection of a tracer enzyme. III. Up to the tissue restricted stage. Dev. Biol., 121, 526~541.
- Numakunai, T., Ishikawa, M. 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., Rho, Y. G., Lee, J. H. and J. M. Lee. 1991. Studies on spawning and seed collection of sea squirt, *Halocynthia roretzi* (Drasche). Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency, 45, 165~173. [in korea]
- Pyen, C. K., Rho, Y. G. and Y. J. Chang. 1977. Studies on the early

- development and seed collection of the sea squirt, *Halocynthia roretzi*.
Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 18, 113~122. [in korea]
- Richard, A. G. 1982. Ascidian larvae and events of metamorphosis. Amer.
Zool., 22, 817~826.
- Reverberi, G. 1961. The embryology of ascidians. Adv. Morphogen., 1, 55~
101.
- Sugimoto, K. and H. Watanabe. 1980. Studies on reproduction in the
compound ascidian, *Symplegma reptans*: Relationship between neural
complex and reproduction. Biol. Bull., 159, 219~230.
- Watanabe, H. and A. T. Newberry. 1976. Budding by oozoids in the
polystyelid ascidian *Metandrocarpa taylori* Huntsman. J. Morphol., 148,
161~76.
- Yang, T. W. and T. Y. Lee. 1978. Gametogenesis and reproductive cycle of
an ascidian, *Ciona intestinalis* (Linne). Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish.
Univ. Busan., 11, 19~28. [in korea]
- 한국동식물도감, 1977, 동물편 (해면, 히드라, 해초류), 문교부, pp. 369~371.

감사의 글

부족함이 많은 저를 이 논문이 완성될 수 있도록 지도해주신 이영돈 교수님께 먼저 감사를 드립니다.

항상 자상한 관심을 보이시며 바쁘신 중에도 부족한 논문을 꼼꼼하게 다듬어 주시고 심사를 해주신 노 섬 교수님과 최광식 교수님께 감사를 드립니다. 그리고 늘 관심과 조언으로 격려를 아끼지 않으신 이정재 교수님, 정상철 교수님, 이기완 교수님께 감사를 드립니다.

이 논문이 완성되기까지 많은 배려와 도움을 주신 제주지방해양수산청 이장우, 이홍식 청장님과 수산관리과 김대환, 정태준 과장님 그리고 진창남, 송운경, 정성필, 장근수, 이법권 계장님과 오상필, 고경호, 김종수, 이정호 후배와 오순진 님께 감사를 드립니다. 그리고 무사히 논문 작성을 마칠 수 있도록 배려를 해주신 목포지방해양수산청 진도수산기술관리소 임여호 소장님과 직원 여러분께도 감사드립니다.

바쁜 가운데서도 자료를 정리하는데 많은 도움을 준 발생학실협실의 이치훈 후배 그리고 나오수, 송영보, 박창범 후배들에게도 감사를 드립니다.

늘 용기와 따듯한 격려를 해준 친구 진호, 영식, 장수, 승훈, 태용, 승량, 성원, 진완에게도 고마움을 전합니다. 또한 저를 위해 기도와 격려를 해주신 모든 분들께 진심으로 감사를 드립니다.

언제나 한결같은 사랑과 믿음으로 저를 있게 해주신 어머님께 감사드리고, 항상 깊은 관심과 사랑으로 학업 정진을 독려해주신 장인·장모님께도 감사를 드립니다. 그리고 갑희 누나, 형님 가족들 모두에게 감사를 드립니다.

나의 든든한 후원자로 편치 않는 몸이나 늘 웃음과 변함없는 애정으로 뒷바라지를 하며 격려를 아끼지 않았던 아내와 지혜, 세훈이와 이 기쁨을 함께 나누고 싶습니다.

끝으로 항상 사랑으로 다독거리며 저를 대해주셨으나 작년에 돌아가신 아버님 영전에 이 논문을 바칩니다.