

석 사 학 위 논 문

Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*의
산란과 부화유생 사육에 관한 연구



제주대학교 대학원

수 산 생 물 학 과

윤 영 석

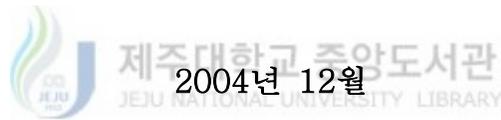
2004년 12월

Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*의
산란과 부화유생사육에 관한 연구

지도교수 노 섭

윤 영 석

이 논문을 이학석사학위 논문으로 제출함



윤영석의 이학석사학위 논문을 인준함

심사위원장 이 영 돈 (인)

위 원 이 경 준 (인)

위 원 노 섭 (인)

제주대학교 대학원

2004년 12월

Studies on Spawning and Larval Culture of
Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*

Young-Seock Yoon

(Supervised by professor Sum Rho)

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



JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

December 2004

목 차

Abstract	i
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
III. 결 과	
1. 어미의 산란행동	11
1) 짝짓기과정	11
2) 산란행동	11
3) 산 란	13
2. 난 발생과 부화	15
3. 자치어발달	19
4. 자치어사육	22
1) 수조색깔별 자어의 생존율 및 성장	22
2) 자어 성장에 따른 알테미아 포식량	24
3) 치어의 염분내성	27
IV. 고 찰	32
V. 요 약	39
VI. 참고문헌	41
감사의 글	

ABSTRACT

Clownfish is an important fish in marine aquarium and cherished dearly by aquarium fish-mania, and its demand is increasing dramatically. In this study, research was done in aquarium tanks for the broodstock management, spawning, hatching, breeding and larval culture of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus* which was for 2 months after hatching brought at Burapha university Thailand in January 2001. And On May 23rd in 2004, five fishes(saddleback clownfish (S)3: 8.5 cm, S4: 7.9 cm, S5: 7.5 cm, S6: 5.6 cm, S7: 5.2 cm) from Indonesia was rearing for forming pair and spawning.

The first spawning occurred at 21 months after hatching in August 2002 for S1 (11.9 cm Total Length (TL)) and S2 (7.54 cm TL). There after it was occurred seven times till October. However the eggs were not fertilized. S2 which acted as male in November 2003 died. However, it was immature female with a result that gonad was checked. For the new pair spawning occurred 32 days after S1 and S3 were put in the same tank.

Fertilized eggs were separate adhesive oval shape and the color was scarlet color. the size of eggs were 2.46 ± 0.13 mm (n=30) long axis and 0.96 ± 0.02 mm (n=30) minor axis. The percentage of fertilized eggs were 96.7%. Hatching occurred in 7 days after spawning in 1~2 hours after lights out. The Hatching rate were 85.5%.

The newly-hatched larvae was 4.58 ± 0.21 mm TL with open mouth and anus, having an oval yolk. 1 day after hatching, the larvae with completely absorption yolk began to eat rotifer and was 4.90 ± 0.35 mm TL. Five days after hatching, they were 5.88 ± 0.31 mm TL with complete fins. At this time, their survival rate dropped below 50.0%. Eight days after hatching, both their head and back began reshaping into a band at the start point of metamorphosis. Metamorphosis was completed at average total length were 15.00 ± 2.12 mm in 23 days after hatching. On 45 days after hatching,

juveniles were 22.76 ± 3.22 mm TL with survival rate of 28.4%. On 90 days after hatching, the juveniles were 34.28 ± 4.35 mm TL with survival rate of 28.2%.

In terms of survival rate and growth based on tank color, white tanks had the highest survival rate at 55.0%, followed by transparency, black and blue tanks at 50.0%, 40.0% and 25.0% respectively ($P < 0.005$). The transparency tank had the best growth at 6.24 ± 0.31 mm, followed by black tank, blue and white tanks ($P < 0.005$).

A larvae of 5.0 ± 0.2 mm TL had maximum intake of 63.5 *Artemia* nauplii, while larvae of 6.0 ± 0.2 mm, 8.0 ± 0.4 mm and 10.0 ± 0.4 mm TL had intake of approximately 124.1, 280.8, 556.2 *Artemia* nauplii, respectively. Relationship between total length of fish (5~10 mm; X) and amount of maximum *Artemia* intake (Y) was $Y = 95.91X - 52.54$.

In salinity tolerance of juveniles, experimental A with a weekly reduction 5 ‰ died at 22 ‰. And in experimental B with salinity reduction of 2 ‰ every 3 days died at 16 ‰.

I. 서 론

Clownfish는 농어목 (Perciformes) 자리돔과 (Pomacentridae)에 속하는 어류로 말미잘과 공생하며 폴리네시아에서 아프리카 동부 해안까지 아열대와 열대 지역의 산호초 해역에 서식하고 있다. Clownfish는 자연 생태계에서 하나의 공생말미잘 (host anemone)에 성 (sex)적으로 성숙한 암·수 한 쌍과 성적으로 미숙한 2~3마리의 개체들이 그룹을 이루면서 생활한다 (Allen and Fautin, 1992; Wilkerson, 1998). Clownfish는 해양수족관에서 중요한 어류 중 하나이고, 관상어 애호가들에게도 많은 사랑을 받고 있으며 산업적 수요가 점점 증가하고 있다 (Gordon et al., 1998). Clownfish에는 세계적으로 *Amphiprion*속 30종과 *Premnas*속 1종이 있으며 (Allen and Fautin, 1992), 우리나라에서는 *Amphiprion*속에 흰동가리, *A. clakii* 한 종만이 제주근해에 서식한다 (유 등, 1995).

Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*는 북위 30° 에서 남위 25° 사이인 일본 남부, 중국, 베트남, 태국, 인도네시아, 필리핀, 호주 동북부까지 분포하며, 연안 산호초지역 수심 2~30 m까지 서식한다. 이들의 체색은 검은색 혹은 어두운 갈색으로, 머리에 하얀색 band와 몸통 중앙에 안장 (saddleback)모양의 하얀색 band가 있으며, 일부 개체에서는 복부까지 완전한 하얀색 band를 가지고 있기도 한다 (Allen and Fautin, 1992). 이 종과 공생하는 말미잘은 *sebae* sea anemone, *Heteractis crispata*와 haddon's sea anemone, *Stichtodactyla hadooni* 등이 알려져 있다 (Wilkerson, 1998; Allen and Fautin, 1992; Stratton, 2000). 이 종은 일부일처제 (monogamy)이며, 연중산란하고 알은 침성 점착란으로 공생말미잘 근처의 단단한 기질에 산란한다. 그리고 암컷과 수컷은 산란된 알이 부화할 때까지 보호하며 (Moyer and Steene, 1979) 이런 행동은 우리나라에 서식하는 자리돔 (이 와 이, 1987)이나 연무자리돔 (김 등, 2001)과 같은 자리돔과 어류에서 나타나는 산란 생태이다.

Clownfish의 초기생활사 및 산란습성에 대한 연구는 일본의 경우에 3종의 clownfish를 채집하여 실내 사육에 의한 초기생활사 (今井·四宮, 1971)를 밝힌

것을 비롯하여, *A. xanthurus* (Moyer and Sawyers, 1973)와 *A. clarkii* (Moyer and Bell, 1976)의 자연에서 산란 생태와 생활사에 대한 연구가 이루어졌다. 그리고 지금까지 saddleback clownfish의 연구는 자연에서 산란습성 (Moyer, 1976; Moyer and Steene, 1979), 난 발생 (Sawatpeera et al. 2001), 부화와 자어 성장 (Muthuwan et al. 2001)에 관한 연구 등이 이루어져 있으나, 수조에서의 안정적인 어미사육, 인공번식과 자치어 사육에 관한 연구는 미비한 실정이다.

이 논문에서는 saddleback clownfish의 안정적인 종묘생산기술 개발을 위한 어미 사육, 짝짓기 과정, 산란행동 및 수정란 발생, 자치어 형태발달, 종묘단계까지의 성장과 생존율을 조사하였다. 그리고 자치어 사육에서 수조색깔에 따른 성장률과 생존율, 자어의 성장에 따른 *Artemia* 포식량, 치어의 염분내성에 따른 생존율 등에 대한 연구를 수행하였다.



II. 재료 및 방법

1. 친 어 사 육

이 실험에 이용된 saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*는 1차적으로 2001년 1월에 태국의 Burapha 대학에서 분양받은 부화 2개월 된 치어 2마리 (Total Length (TL) saddleback clownfish (S)1: 1.5 cm, S2: 1.4 cm)로 사육을 시작하였다. S1과 S2가 7차 산란을 한 후 2003년 11월에 S2 (11.4 cm TL)가 폐사되어 S1 (13 cm TL)만을 사육하다가 짝짓기 과정과 산란을 유도하기 위해 2차적으로 2004년 5월 인도네시아산 5마리 (S3: 8.5 cm TL, S4: 7.9 cm TL, S5: 7.5 cm TL, S6: 5.6 cm TL, S7: 5.2 cm TL)를 수입하였다. S3~S7은 3일간 매일 엘바주 150 ppm으로 1시간씩 약육한 후 S1이 있는 수조에 함께 수용하였다.

치어시기에는 순환여과시스템을 갖춘 20 L 소형유리수조에 사육을 시작하여 성장함에 따라 70 L 아크릴 원형수조로 옮겨주었고, 어미크기 (S1: 11.4 cm TL, S2: 8.8 cm TL)로 성장하였을 때는 500 L 유리수조로 옮겨 사육하였다 (Fig. 1). 수조 하단에는 모래·자갈 여과조와 자외선 유수 살균기, 스키머 (Marco ASF-100)를 설치하였으며, 물 순환을 36~38회/일로 조절하였다. 사육수조는 수온 $25.5 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$, pH 7.3~8.2, DO 7.6~8.0 mg/L, 염분 $32.5 \pm 1.5\%$ 이었고, 광원으로 형광등 (Arcadia-Marine White Lamp, 36W) 1개를 수면에 설치하여 광주기 (L:D)는 14:10으로 조절하였다 (Bridget and Mark, 2001). 사육수조 내에 산란기질과 은신처로 화분 (상단 지름 10 cm, 하단지름 8 cm, 높이 25 cm)과 돌 (지름 15~25 cm), PVC shelter (200 × 250 mm)를 놓아 주었다.

치어시기의 먹이는 인공배합사료 (천일제일사료)로 성장함에 따라 그 크기를 조절하였으며 하루 3~4회 공급 하였다. 그리고 산란이후부터 인공배합사료를 하루 2~3회 공급하였고 생사료를 매일 점심에 충분히 먹을 때까지 공급하였다. 산란과 알을 관리하는 행동은 비디오카메라 (SONY DCR-TRV900)와 디지털카메라 (Nikon Coolpix 4300)로 촬영하면서 관찰하였다.

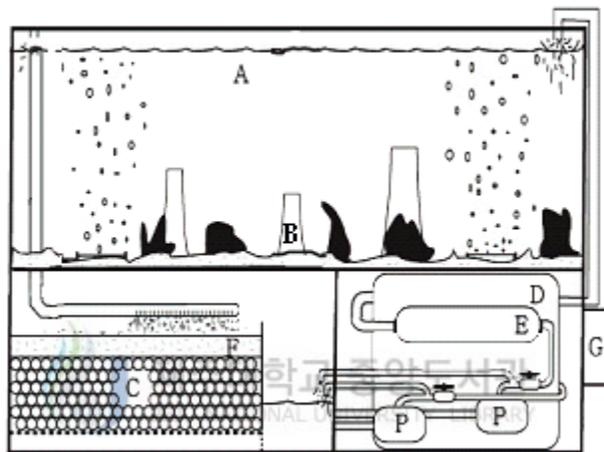


Fig. 1. Closed recirculation system for broodstock culture.

A: rearing tank, B: flowerpot, C: sand-gravel filter layer, D: refrigerator, E: UV lamp, F: sponge filter, G: control box, P: pump.

2. 난발생과 부화

난발생을 관찰하기 위해 산란 직후 어미들을 먹이로 알에서 멀리 떨어진 쪽으로 유인하여 에어호스 (지름 0.5 mm)로 30여개의 알을 산란기질에서 떼어 내어 siphon하였다. 꺼내어진 알은 500 mL 유리비이커에 수용하여 약하게 포기 (aeration)를 시켜주었고, 4~6시간마다 어미수조의 사육수를 30 μm 필터거즈로 여과시킨 후 물교환을 하였다. 수온은 어미수조와 동일한 수온인 $26\pm 0.5^\circ\text{C}$ 를 유지시켜 주었다. 난발생 과정은 해부현미경 (Nikon SM2-U), 광학현미경 (Olympus BHS W/AU)으로 관찰 및 촬영을 하였다.

산란기질에 부착된 알은 산란 4일째까지는 어미들에 의해 관리 되다가 4일째 밤에 산란기질과 함께 어미수조에서 꺼내어 포르말린 250 ppm으로 1분 동안 알을 소독한 후 (Hoff, 1996), 자체 제작한 부화수조로 옮겨 부화시켰다. 부화수조는 Fig. 2와 같이 100 L 사각유리수조를 사용하였으며 부화수조 위에는 30 L 저장수조를 설치하였다. 부화수조의 물을 펌프 (Philgreen 20W)를 이용하여 저장수조로 올려주었다. 펌프의 흡입구에는 200 μm 필터 거즈로 스크린 망을 만들어 부화되어 나온 자어가 빨려 들어가는 것을 방지 하였고 다시 저장수조에는 5 μm 거름망으로 찌꺼기를 걸러주었다. 필터거즈와 거름망은 매일 1회씩 세척해 주었다. 저장수조에는 자동수위조절장치를 설치하여 물 수위가 일정하게 유지되도록 하였다. 저장수조의 물은 직경 5 mm 비닐호스 17개를 이용하여 분당 2 L로 알 덩어리에 고르게 살포되도록 하였으며, 여분의 물은 알에 영향이 없는 쪽으로 흘려주었다. 부화되어 나온 자어는 수조의 한쪽 부분에 빛을 비추어 자어를 모은 후 siphon하여 자어수조로 옮겨 주었다. 부화수조는 어미수조와 동일한 수온 $26\pm 0.5^\circ\text{C}$, 염분 32‰로 맞추어 주었으며, 광주기 (L:D)는 14:10으로 조절하였다 (Bridget and Mark, 2001).

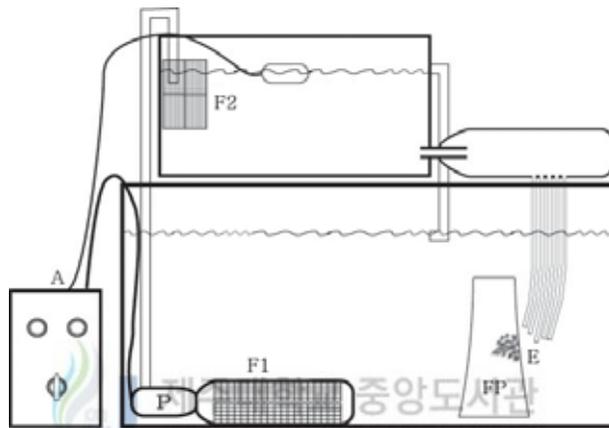


Fig. 2. Hatching tank.

A: auto control box, E: eggs, F1: 200 μ m filter, F2: 5 μ m filter, FP: flowerpot, P: pump.

3. 자치어발달 및 사육

부화자어를 사각유리수조 (430 × 300 × 300 mm) 3개로 나누어 수용하였으며, 수온 26.5±0.5℃, 염분 32.5‰ 로 어미수조와 동일하게 맞추어 주었고, 광주기 (L:D) 16:8로 조절하였다. Rotifer, *Brachionus rotundiformis*는 농축 *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. 그리고 *Nannochloropsis* sp.를 3:3:4로 혼합한 배양액으로 영양 강화하여 부화 18시간 후부터 mL 당 10개체 내외로 공급하였으며 2~3시간마다 부족량만큼을 보충하였다 (Fig. 3). 자어 사육수조에는 *Isochrysis galbana*를 5.0×10⁵ cell/ mL 로 조성하여 수질 안정과 먹이생물의 먹이로 이용할 수 있게 해 주었으며, *Isochrysis galbana*는 3~4시간마다 부족량만큼을 보충시켜 주었다. 매일 22시에 50% 환수와 함께 수조저면과 벽을 청소하였다. 부화 후 5일째부터 rotifer와 *Artemia* nauplii를 mL 당 3~5개체로 공급하다가 부화 후 7일부터는 영양 강화한 *Artemia*를 단독 공급하였다. *Artemia*의 영양 강화는 농축 *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. 그리고 *Nannochloropsis* sp.를 3:3:4로 혼합한 배양액으로 24시간이상 영양 강화하여 공급하였다. 부화 후 20일째부터는 입자크기가 200~400 μm인 해산종묘용 사료 (extruded pellet, おとひめ)와 영양 강화 *Artemia*를 함께 공급하면서 인공배합사료로의 먹이불임을 시도하였다. 부화 후 22일째부터는 인공사료로 먹이를 완전히 전환하였다. 인공사료를 공급한 후부터 수조 저면과 벽면을 청소하면서 매일 90%이상 물 교환 하였다.

부화 31일째부터 치어는 대형순환수조안에 소형수조를 설치하여 수용하였다 (Fig 4.) 소형수조에는 에어리프트 (air-lift)를 이용하여 새로운 물을 공급 주었으며 물 순환은 10~12회/일, 수온 25.0±1.0℃, 염분 32.0±1.5‰로 조절하였다. 성장함에 따라 인공사료의 입자 크기를 조절하였다.

자어의 발달과정 관찰은 해부현미경 (Nikon, SM-2-U)과 광학현미경 (Olympus, BHS W/AU)을 이용하였고, 크기측정을 위해 만능투영기 (Mitopoyo, PD-3000)와 디지털카메라(Nikon, coolpix 4300)로 촬영한 후 image scope 2.3 (Image Line, Inc.)으로 10 μm까지 측정하였다.

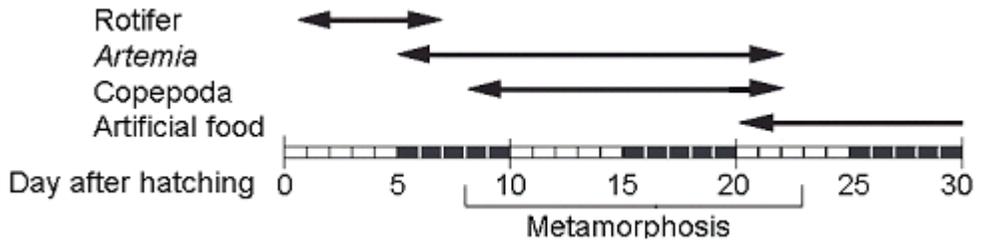


Fig. 3. Feeding regime of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

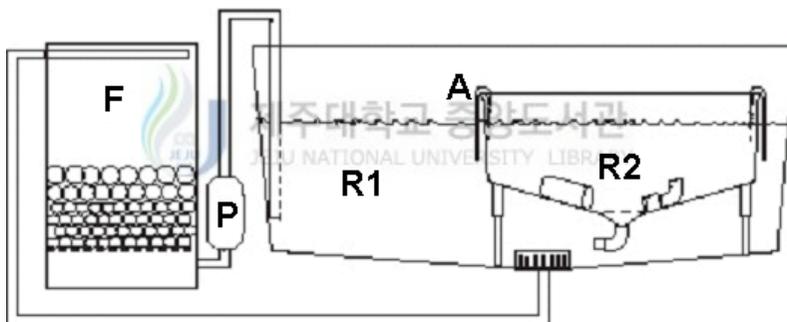


Fig. 4 Closed recirculation system for fingerling.

A: air-lift, F: bio-physical filter chamber, P: pump, R1: large rearing tank, R2: rearing tank of fingerling.

1) 수조 색깔별 자어의 생존율 및 성장

사육수조의 배경색에 따른 자어의 성장과 생존율을 조사하기 위해 6 L 아크릴 수조의 벽면을 검정색, 파란색, 흰색으로 제작한 수조와 주변의 빛을 그대로 수용하는 투명한 수조로 실험하였다. 실험수조에 각각 20마리씩 수용하여 3반복 실험을 하였고, 먹이는 10개체/ mL의 rotifer를 공급하였으며 2~3시간마다 부족한 양만큼을 보충하여 유지시켜 주었다. 사육 수온 $26\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 염분 32‰로 유지하였고, 광주기 (L:D)는 16:8로 조절하였다. 매일 22시에 잔존 먹이를 제거하고 수조의 벽면과 바닥을 청소하면서 80% 이상 물교환을 하였다. 생존미수와 성장은 매일 측정하였다. 실험 결과의 통계처리는 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test 로 평균간의 유의성을 SPSS 통계프로그램으로 검정하였다.

2) 자어 성장에 따른 *Artemia* 포식량

자어 성장에 따른 *Artemia* 포식량을 조사하기 위해 부화 후 5일째부터 2~3일 간격으로 전장이 각각 5.0 ± 0.2 mm, 6.0 ± 0.2 mm, 7.0 ± 0.4 mm, 8.0 ± 0.4 mm, 9.0 ± 0.3 mm 그리고 10.0 ± 0.4 mm인 자어를 선발하여 500 mL 비이커에 2마리씩 수용하여 3회 반복 실험을 하였다. 자어 전장이 5.0 ± 0.2 mm, 6.0 ± 0.2 mm일때 부화직후의 *Artemia* nauplii를 각각 100, 200, 300, 400 그리고 500개체를 공급하였으며, 자어 전장이 7.0 ± 0.4 mm일때에 200, 300, 400, 500, 600 그리고 700개체, 자어 전장 8.0 ± 0.4 mm, 9.0 ± 0.3 mm일때에는 각각 200, 400, 600, 800, 1000 그리고 1200개체, 자어 전장이 10.0 ± 0.4 mm일때 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 그리고 1400개체를 공급하였다. 실험은 06시부터 22시까지 16시간동안 남아 있는 *Artemia* nauplii를 계수하여 자어 1마리당 포식량을 조사하였다. 평균 최대 포식량과 포식량에 도달하기 위한 최소 공급 밀도의 계산 방법은 八塚 (1962)의 대만꽃게에서 사용하였던 방법에 준하여 실시하였다.

3) 치어의 염분 내성

치어의 염분 내성을 구하기 위하여 부화 60일된 치어들을 유리수조 (430 × 300 × 300 mm)에 수용하였다. A 실험구는 7일 간격으로 5‰씩 내려 주었고, B 실험구는 3일 간격으로 2‰씩 내리는 실험구로 하였다. 실험구마다 10마리씩 수용한 후 3회 반복 실험을 하였다. 매일 22시에 생존개체수를 조사하였으며 실험 기간 중 수온 $25.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, pH 7.8~8.3이었다. 물 교환은 매일 수조 저면을 청소 하면서 30%를 교환해 주었으며, 수조 교환은 염분이 변화 시점에 해주었다.



Ⅲ. 결 과

1. 친 어 사 육

1) 짝짓기 과정

S1은 S2에 비해 성장이 빨랐다. S1과 S2의 크기차이가 나기 시작하면서 S1이 S2를 공격하였고 먹이 섭취를 방해하였다. 휴식과 수면 시, PVC shelter의 안쪽에는 S1이, 바깥쪽에는 S2가 위치하였다. 첫 산란 이후, S1은 PVC shelter 위치를 자주 바꾸었고 산란일이 가까워지면서 S1은 S2를 산란기질 (PVC shelter 안, 화분)쪽으로 이끌었다. 2003년 11월 7차 산란 이후, 수컷 행동을 해 온 S2가 폐사하여 생식소를 확인한 결과, S2는 미숙한 단계의 암컷이었다.

암컷 (S1)만을 사육하다가 인도네시아산 5마리 (S3~S7)를 투명아크릴로 만든 격리 수조에 수용하였을 때, S1은 S3~S7을 관심 깊게 살피면서 수조 전체를 빠르게 유영하며 돌아다녔고, S3~S7은 격리 수조 한쪽 모서리로 피신하였다. 6시간 후 격리 수조에 수용하였던 S3~S7을 조심스럽게 수조로 합류시켰더니 S1은 S3~S7 중 전장이 제일 큰 S3 옆으로 재빨리 접근하였으나, S3은 계속 도망 다녔다. S1이 S3에게 계속적으로 접근을 시도하자 S3는 도망가는 행동을 중지하고 어울리기 시작하였다. 그리고 S3~S7과 S1의 크기차가 심해 서로 격렬하게 싸우거나 쫓아다니는 행동은 없었다. S1은 수조 중앙에 설치한 화분에 자신의 영역을 만들어 그곳의 주위에는 S3을 제외한 다른 개체들의 접근을 못하게 하였다. 일주일 후부터 S1과 S3은 더욱 친숙해져서 함께 행동하기 시작하였으나 S4~S7은 먹이를 먹기 위해 이동하는 것 이외에는 수조의 모서리 부근에서 주로 생활하였고 여전히 S1과는 거리를 두었다. 새로운 개체들을 수용한지 15일후부터 S1과 S3는 나란히 유영하면서 점차 함께 있는 시간을 늘려갔다. 20일후부터는 S1과 S3는 먹이를 먹거나, 휴식을 취할 때도 함께 행동하였으며, 야간에도 같은 장소에서 수면을 취하였다. S4~S7 개체도 모서리에서 벗어나와 생활하기 시작하였으나, S1과는 여전히 거리를 두었다. 새로운 개체들을 수용한지 32일째에 S1과 S3이 산란을 하였다.

2) 산란행동

어미들은 산란 2~3일전부터 산란기질을 입으로 청소하였으며, 산란기질의 밑에 있는 모래나 자갈을 꼬리지느러미로 치거나 입으로 물어 다른 곳으로 옮겼다. 산란 당일 암수 모두에서 하얀색의 2~3 mm 정도인 산란관이 생식공 밖으로 나왔다. 산란은 먼저 암컷이 청소한 산란기질 부분에 배를 가까이 대고, 산란관을 산란기질에 붙여 알을 부착시켰다 (Fig. 5A). 한번에 붙이는 알의 수는 11~23개이며 알을 붙여 나가는 방향은 불규칙적으로 여러 방향에서 알을 붙였다. 암컷이 알을 붙이는 행동을 2~4회 반복한 후에 수컷은 붙여진 알 위를 지나가면서 수정을 시켜 나갔다. 암컷은 수컷이 수정하는 동안 산란기질 주변을 살피면서 천천히 유영하거나 산란한 알 중 잘못 붙인 알을 골라 먹었다. 수컷은 암컷이 산란하는 동안 산란기질 주위를 살피거나, 잘못 붙여진 알을 골라 먹었다. 산란과 수정 시에는 암수의 지느러미 움직임이 짧고 느렸고 이런 지느러미의 움직임은 평상시의 유영할 때와는 전혀 다른 모습이었다.

산란된 알 덩어리의 형태는 전체적으로 타원형과 비슷하였다. 산란 후 알은 암컷과 수컷이 함께 관리하였으며, 암컷이 관리하는 시간보다 수컷이 관리하는 시간이 더 길었다. 이 때, 어미들은 가슴지느러미의 날갯짓으로 수류를 일으켜 알과 알 사이에 흐름을 주는 방식으로 물 교환과 산소 공급은 하였으며 입으로는 미수정난 혹은 발생과정에서 죽은 알들을 제거 하였다 (Fig. 5B).

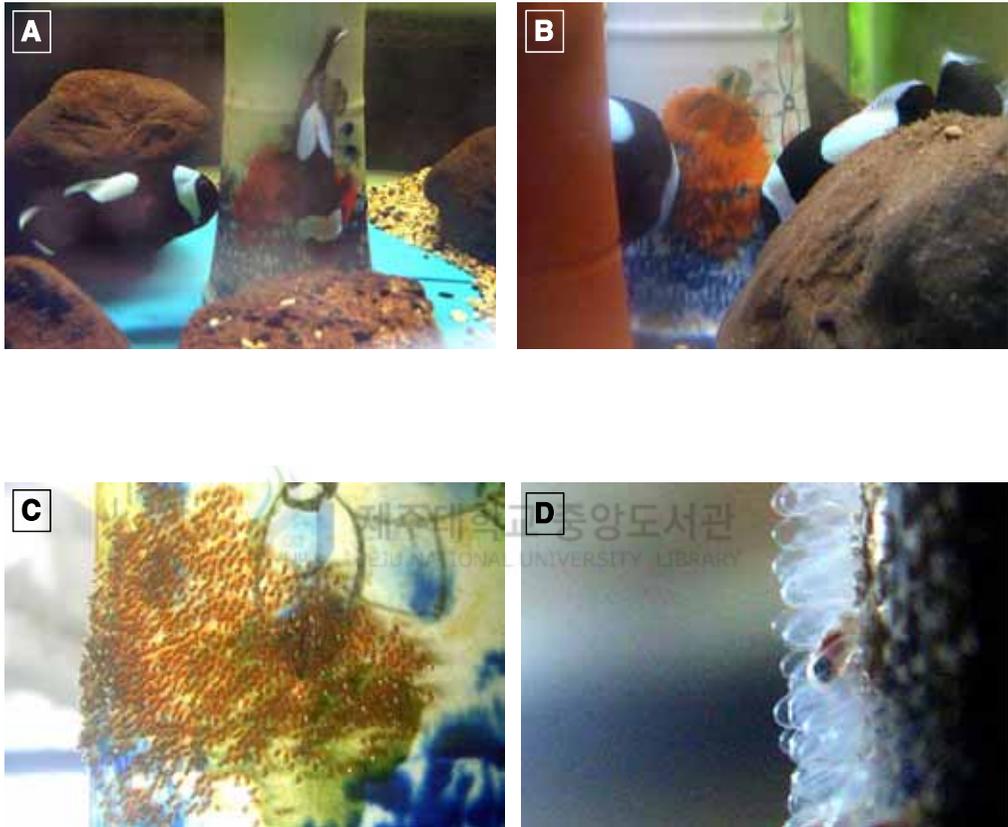


Fig. 5. A photograph of spawning and hatched out. A: photograph of spawning behavior, B: egg care, C: five days after spawning, D: egg membranes after hatching.

3) 산 란

1차 산란에서 7차 산란까지는 S1과 S2에 의해 산란이 일어났다. 1차 산란은 태국에서 이식한지 19개월 (부화 후 21개월)이 경과한 2002년 8월 11일 PVC shelter에 산란하였다 (Table 1). 이때의 산란량은 103개였으나 산란이 끝난 직후 암수가 산란한 모든 알을 먹어버렸다. 2차 산란은 2002년 11월 12일, 3차 산란은 2003년 1월 6일, 4차 산란은 3월 16일, 5차 산란은 4월 18일, 6차 산란은 6월 19일 그리고 7차 산란은 10월 17일에 일어났다. 2차 산란부터는 어미들이 알을 먹는 행동은 보이지 않았으나, 2차에서 7차 산란까지 모든 알은 수정이 되지 않은 상태였다. 미수정란은 산란 후 3일 이내에 산란기질에서 떨어지거나 어미가 제거 하였다. 산란횟수가 거듭될수록 알의 색깔은 연한 주홍색에서 짙은 선홍색으로 변화였고, 산란량은 1차 산란 시 103개에서 7차 산란 시 1257개로 증가하였다 (Table 1). 모든 알은 미수정 상태였음에도 불구하고 어미들은 보호, 관리하였다.

8차 산란은 S1과 S3를 함께 수용한지 32일째인 2004년 6월 24일에 일어났다. 산란은 S1과 S3가 함께 휴식과 수면을 취하던 장소(화분)에서 일어났다. 알은 수정된 상태였고, 산란량은 1008개였다.

Table 1. Dates of spawning of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*

	Date of spawning		Interval	Fertilization	Number of eggs
	Solar	Lunar			
1st	2002. 8. 11	7. 3	*21months	Unfertilization	103
2nd	2002.11. 12	10. 8	93 days	Unfertilization	741
3rd	2003. 1. 6	12. 4	55 days	Unfertilization	920
4th	2003. 3. 16	2. 14	69 days	Unfertilization	967
5th	2003. 4. 18	3. 17	23 days	Unfertilization	999
6th	2003. 6. 19	5. 20	61 days	Unfertilization	1084
7th	2003.10. 17	9. 22	90 days	Unfertilization	1257
**8th	2004. 6. 26	5. 7		Fertilization	1008

* The first spawning was occurred by S1 and S2 which were 21 months after birth.

** The 8th spawning was occurred by new broodstock (S1 and S3).

2. 난발생과 부화

Saddleback clownfish의 수정란은 짙은 선홍색을 띠는 땅콩모양의 침성부착란으로 장경은 2.46 ± 0.13 mm($n=30$), 단경은 0.96 ± 0.03 mm($n=30$)이며 수정율은 96.7%였다. 난황은 수많은 유구를 분포 하였고 수정란의 한쪽 끝에 있는 부착사로 화분에 붙어 있었다.

수온 $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 수정란의 난 발생과정은 Table 2, Fig 6과 같다. 수정 50분 후에 배반(blastodisc)을 형성하였고, 1시간 40분 후에 제 1 난황이 시작되어 2세포기에 이르렀다 (Fig. 6A). 수정 후 2시간 20분이 경과하여 4세포기, 3시간 후에는 8세포기 (Fig. 6B), 3시간 40분후에는 16세포기, 4시간 20분후에는 32세포기 (Fig. 6C)로 발달하였다.

난황이 계속 진행됨에 따라 할구의 크기가 점점 작아져 5시간 40분후에는 상실기 (Fig. 6D), 7시간 30분후에는 포배기 (Fig. 6E)에 이르고, 배반엽(blastoderm)이 넓어지면서 난황을 덮기 시작하였다. 수정 후 16시간 20분 경과했을 때 배반은 점차 난황을 덮어씌우면서 낭배기에 이른다 (Fig. 6F). 수정 후 23시간후에는 배체를 형성하였고 (Fig. 6G), 35시간 후에는 안포와 이포가 형성되며, 근절은 13~14개였다 (Fig. 6H). 수정 후 43시간 후에는 꼬리가 난황과 분리되면서 신장되기 시작하였으며, 근절은 24~25개로 늘어났다. 54시간 후에는 심장이 형성되면서 심장박동이 관찰되었고, 꼬리가 간헐적으로 움직이기 시작하였다 (Fig. 6I). 수정 후 99시간 후에는 가슴지느러미가 형성되었고, 눈은 은색으로 반짝이기 시작하였다 (Fig. 6J). 산란 후 103시간(소등 후 1시간)까지는 어미들에 의해 알이 관리 되었지만 그 후 알이 붙어있는 산란기질(화분)을 부화수조로 옮겼다. 수정 후 110시간 후에는 혈액의 움직임이 관찰되었고 근절 11~24마디 속에 황색소포가 나타났다. 수정 후 117시간에 첫 부화가 일어나기 시작하여 수정 후 123시간까지 6마리가 부화되었고, 수정 후 143시간까지 12마리가 부화되었다. 수정 후 143시간까지 부화한 자어들은 큰 난황을 갖고 있어 유영을 제대로 하지 못하고 바닥에 누워 있었다. 수정 후 152~155시간 (소등 후 1~3시간)에 대부분이 부화되었다. 총 부화자어는 862마리로 부화률은 85.5%이었다. 더 이상 부화는 일어나지 않았다.

Table 2. The egg development and hatching of saddleback clownfish, *Amphiprion. polymnus* (water temperature 26.0±0.5°C)

Developmental stage	Time after fertilization	Simbols In Fig. 5	Features of eggs and embryos
Fertilized egg	0 min		
2 cell stage	1 h 40 min	A	
4 cell stage	2 h 20 min		
8 cell stage	3 h 00 min	B	
16 cell stage	3 h 40 min		
32 cell stage	4 h 20 min	C	
64 cell stage	5 h 00 min		
Morula stage	5 h 40 min	D	
Blastula stage	7 h 30 min	E	
Gastrula stage	16 h 20 min	F	
Early embryo formation	23 h	G	
Lens and ear vesicle formation	35 h	H	13 myotomes stage.
Heart beat	54 h	I	Eyes pigment formation and 24 myotomes stage.
Pectoral fin formation	99 h	J	Eyes glittered.
Embryo just before hatching	150 h	K, L	

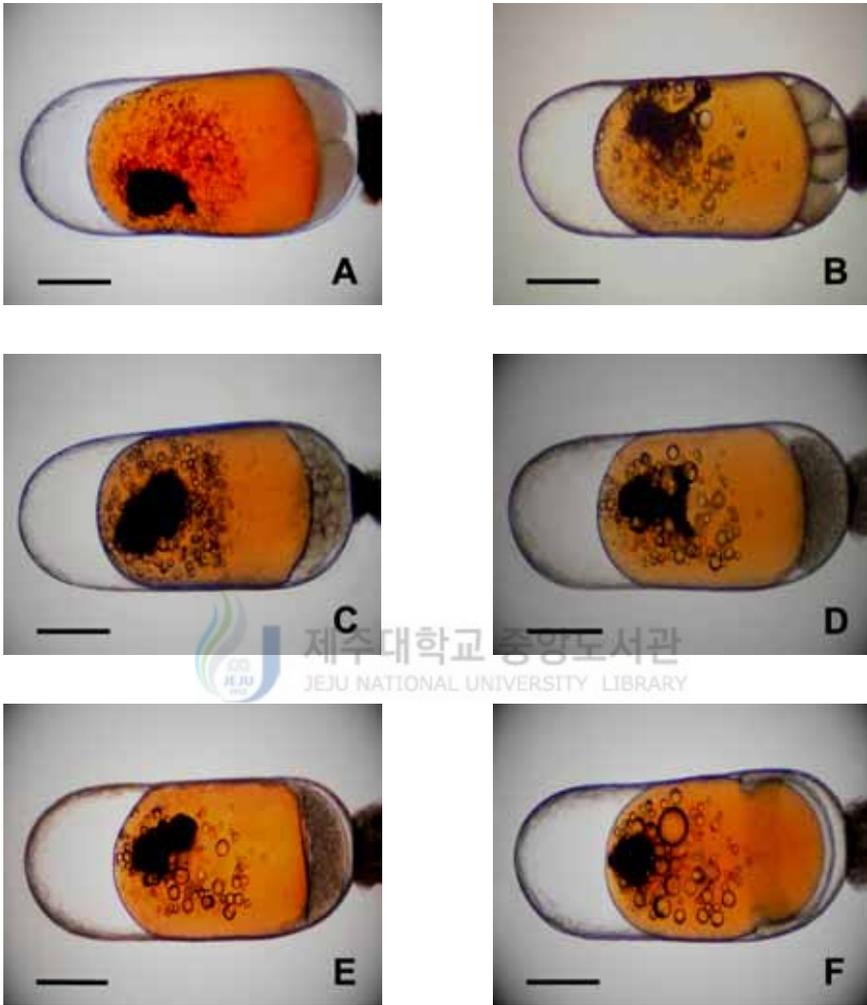


Fig. 6. Microscopic view of embryonic development of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

A: 2 cell stage, B: 8 cell stage, C: 32 cell stage, D: morula stage, E: blastula stage, F: gastrula stage, G: early embryo formation, H: lens and ear vesicle formation, I: heart beat, J: pectoral fin formation 99h, K and L: embryo just before hatching. scale bar=500 μm .

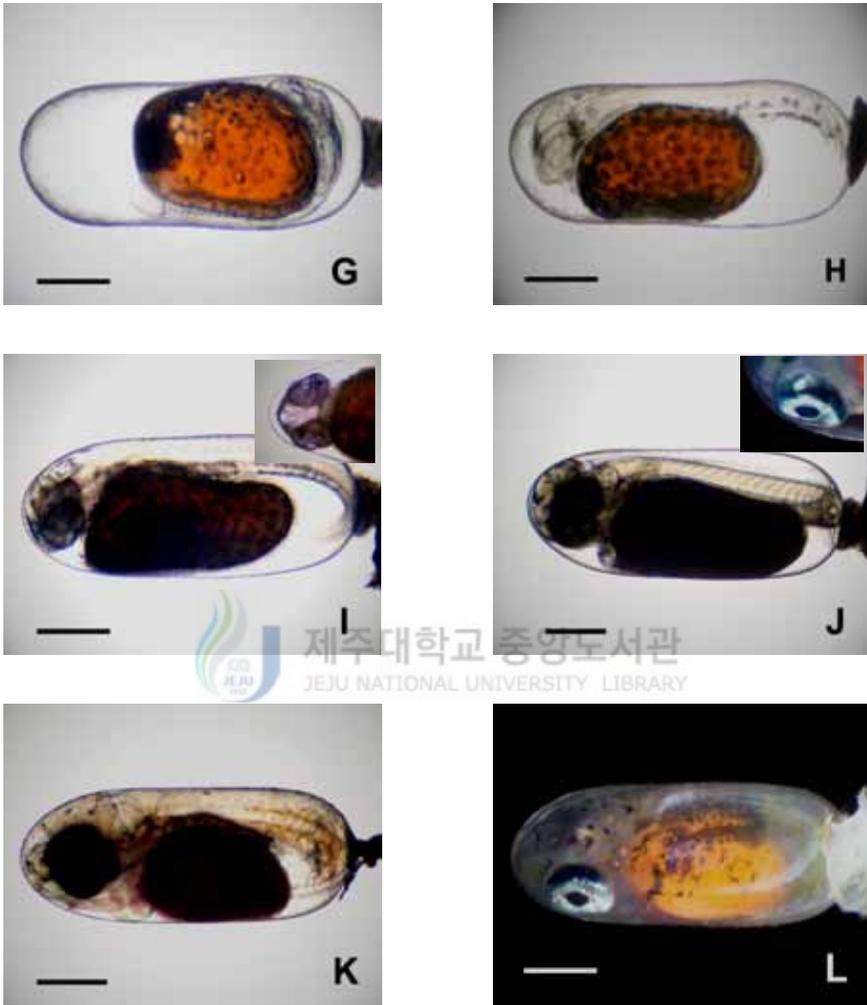


Fig. 6. Continued.

3. 자치어 발달

부화자어 (Fig. 7A)는 전장이 4.58 ± 0.21 mm ($n=30$)로, 입과 항문이 열린 상태로 검붉은색의 타원형의 난황을 갖고 있었다. 난황의 장경은 0.47 ± 0.06 mm ($n=30$) 단경은 0.28 ± 0.02 mm ($n=30$)였다. 흑색색소체는 머리부분과 항문 윗부분의 척추를 따라 분포하였고, 붉은색소포와 노란색소포는 척추를 따라 흑색색소체 옆에 하나씩 분포하였다. 근질수는 $7 \pm 1 \sim 17 \pm 1$ 개였다. 대부분의 부화자어는 수조의 중층과 상층에서 자유유영을 하였다.

부화 1일째 자어는 난황이 완전히 흡수된 상태로 rotifer를 활발히 섭식하기 시작하였으며, 흑색색소체는 크기가 커졌으며, 붉은색소포와 노란색소포의 수가 증가하였다. 꼬리 척추가 위로 올라가는 만곡이 시작되었다, 전장은 4.89 ± 0.35 mm ($n=30$)였다. 부화 3일째 (Fig. 7B)에 만곡이 완료되고, 지느러미를 제외한 머리와 몸통부분에 색소체가 나타났고, 전장은 5.72 ± 0.61 mm ($n=30$)였다. 부화 후 5일째 자어 (Fig. 7C)는 전장이 5.88 ± 0.31 mm ($n=30$)이고, 지느러미가 완성되어 등지느러미는 X, 18, 뒷지느러미는 II, 12로 발달하였다. 생존율이 50%이하로 떨어졌다.

부화 8일째 자어 (Fig. 7D)는 머리와 등에 동시에 band가 형성되는 변화가 시작되어 부화 11일째에는 95.0%이상의 개체에 머리와 등의 band가 나타났다. 그러나 등에 있는 band의 모양이 직선형이었다. 부화 후 13일째 (Fig. 7E)부터 꼬리에 하얀색 band가 나오기 시작하였고, 등의 band의 모양이 말의 안장의 모양으로 변해갔다. 부화 23일째에 전장이 5.0 ± 2.12 mm였고, 변화가 완료되어 머리, 등, 꼬리에 band가 선명해졌다.

부화 후 45일째 (Fig. 7F) 치어는 전장이 22.76 ± 3.22 mm ($n=30$)이고, 이때 생존율은 28.4%이었다. 부화 후 60일째 치어는 전장이 27.93 ± 3.88 mm ($n=30$)이고, 이때 생존율은 28.3%이었으며, 부화 후 90일째 치어는 전장이 34.28 ± 4.35 mm ($n=30$)이고, 이때 생존율은 28.2%이었다.

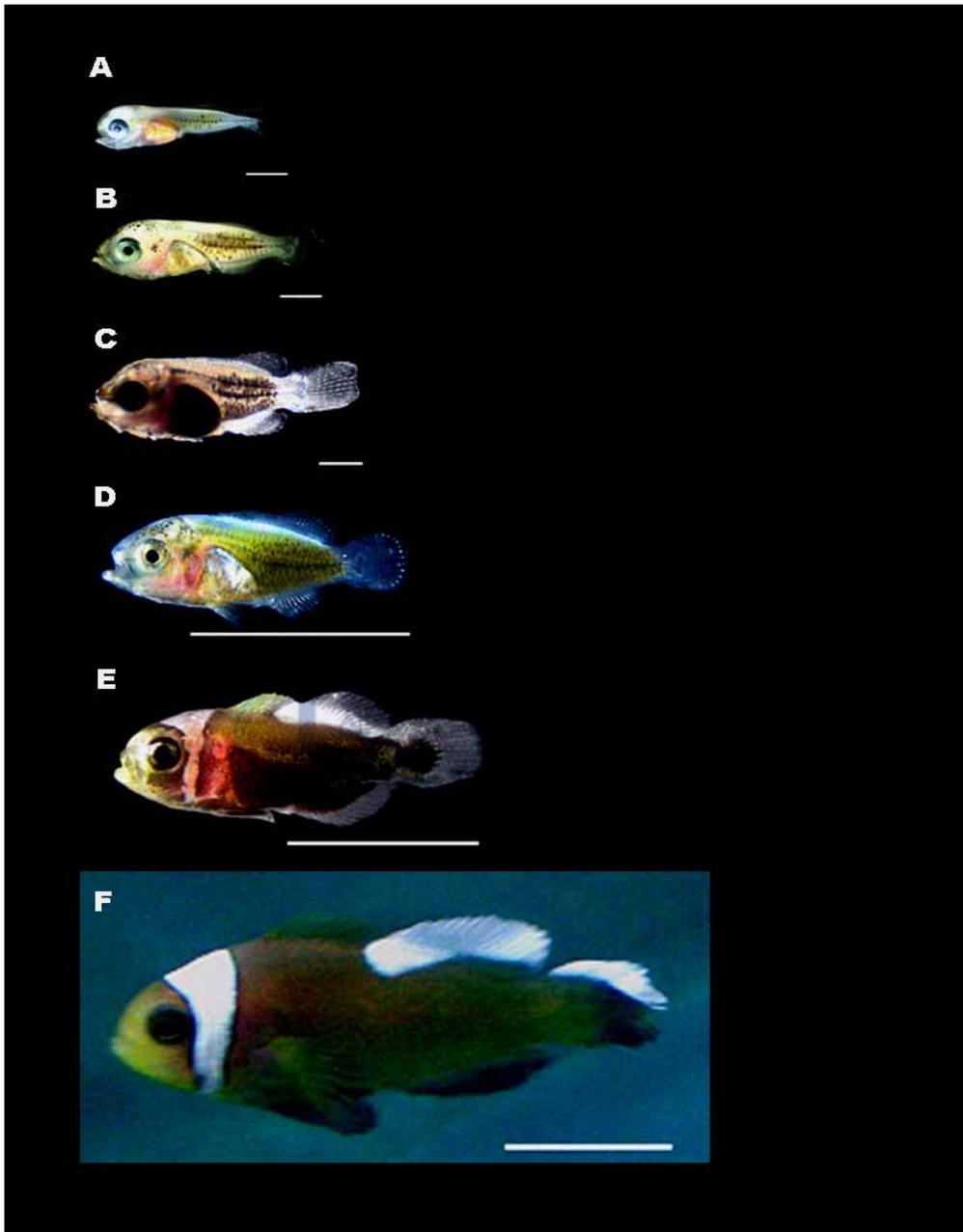


Fig. 7. Larval development of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

A: new hatching larva, B: 3 days after hatching, C: 5 days after hatching, Scale bar=1 mm D: 8 days after hatching, E: 13 days after hatching, F: 45 days after hatching. scale bar=5 mm.

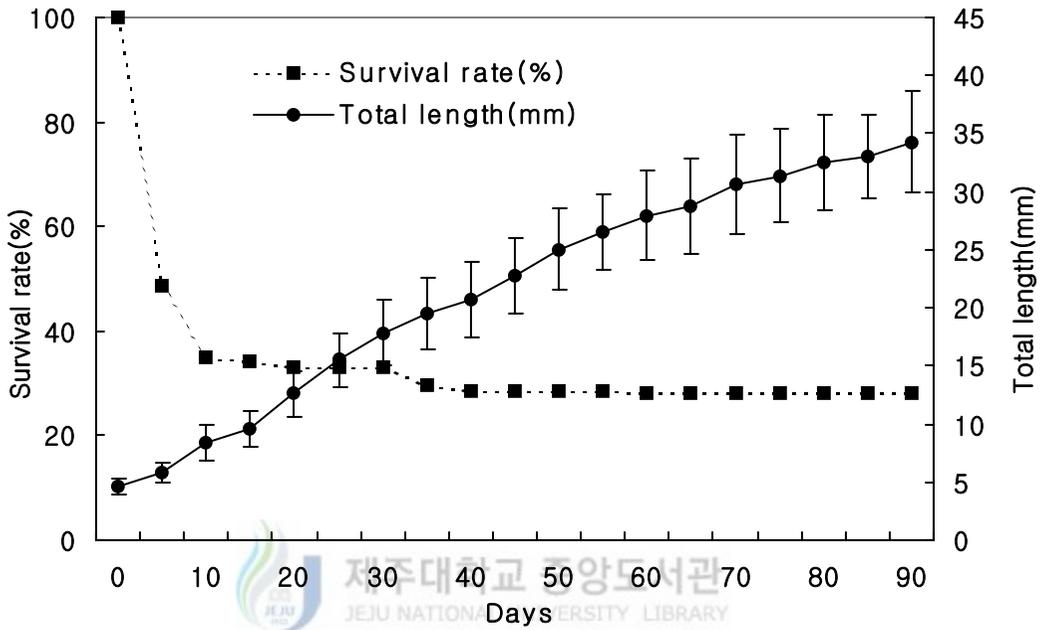


Fig. 8. Growth and survival rate from hatching to 90 days after hatching of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

4. 자치어 사육

1) 수조 색깔별 자어의 생존율 및 성장

사육수조 색깔에 따른 부화초기 자어의 성장과 생존율을 비교하기 위하여 4가지 색깔의 수조에서 rotifer를 섭식하는 기간인 부화 후 1일부터 5일까지 자어 사육 결과는 실험 1일 후에 파란색수조와 검정색수조에서 50.0, 75.0%로 초기 생존율이 낮았다. 생존율이 50.0% 이하로 감소한 시점은 파란색수조에서는 2일째, 검정색수조에서는 3일째이다. 실험 5일째에는 흰색수조, 투명수조의 생존율이 55.0, 50.0%로 높았으나 검정색수조, 파란색수조가 40.0, 25.0%로 그 수치는 낮았다 (Table 3, Fig. 9. $P<0.05$).

실험 초기 자어의 평균 전장은 4.89 ± 0.25 mm였고, 실험 2일에는 실험구별 성장의 차이를 보이지 않았다가 실험 3일째부터 그 차이가 나기 시작하였다. 이때 검정색 수조의 자어 평균 전장은 5.34 ± 0.29 mm였고 하얀색 수조에서는 4.95 ± 0.25 mm였다. 그러나 실험 5일째에는 투명한 수조의 자어 평균 전장이 6.24 ± 0.31 mm로 높았고, 다음으로 검정색수조 5.99 ± 0.49 mm, 흰색수조 5.88 ± 0.17 mm, 파란색수조 5.59 ± 0.24 mm 순이었다 ($P<0.05$).

Table 3. Growth and survival rate by tank color of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*

Experimental group	Initial	Final	Survival rate (%)
	Total length(mm)	Total length(mm)	
Black tank	4.89 ± 0.22^a	5.99 ± 0.49^{bc}	40 ^a
Transparency tank	4.89 ± 0.23^a	6.24 ± 0.31^c	50 ^b
Blue tank	4.90 ± 0.25^a	5.59 ± 0.24^a	25 ^a
White tank	4.88 ± 0.25^a	5.89 ± 0.17^{ab}	55 ^b

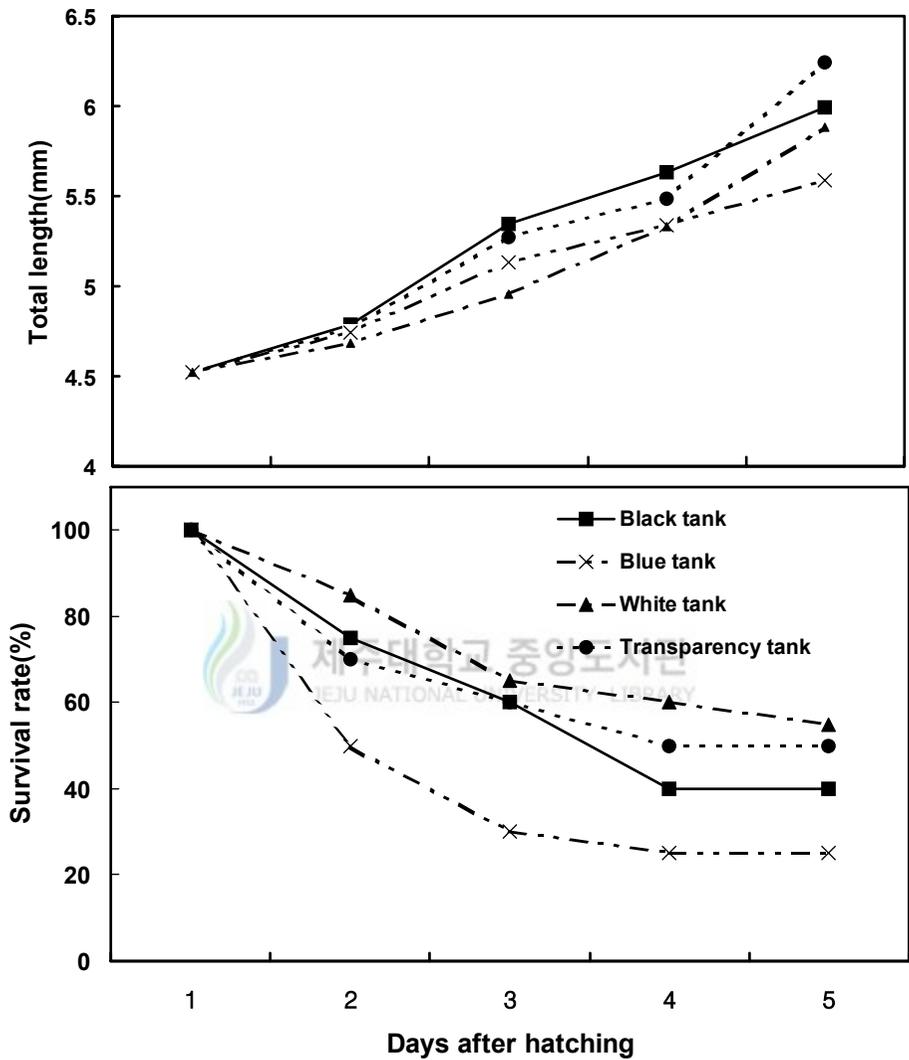


Fig. 9. Growth and survival rate by tank color of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

2) 자어의 크기에 따른 *Artemia nauplii* 포식량

*Artemia*를 공급하는 시기인 부화 후 5일째부터 부화 후 20일까지 자어 크기에 따른 *Artemia nauplii*의 포식량을 조사한 결과는 Fig. 10, Fig. 11과 같다.

부화 후 5일째 전장 5.0 ± 0.2 mm 자어는 먹이밀도 50개체/0.5 L에서는 49개체를 포식하여 *Artemia* 공급량(X)과 포식량(Y)과의 관계가 $Y = X$ 선에 가깝게 접근 하였으나, 100개체/0.5 L 이상에서는 포식량은 60~71개체로 더 이상 증가하지 않았다. $Y = X$ 의 관계식과 *Artemia*의 밀도 100개체/0.5 L 이상에서 얻어진 최대 포식량 $Y = 63.5 \pm 4.01$ 개체와 교차점에서 수직으로 포식량에 도달하기 위한 적정 먹이 밀도는 64개체/0.5 L가 된다. 전장 6.0 ± 0.2 mm 자어(부화 후 7일째)는 먹이밀도 100개체/0.5 L 이하에서 *Artemia* 공급량(X)과 포식량(Y)과의 관계가 $Y = 0.94 X + 2$ ($r = 0.9898$)의 회귀직선식으로 표현되었고 이 관계식과 *Artemia*의 밀도 150개체/0.5 L 이상에서 얻어진 최대 포식량 $Y = 124.11 \pm 14.69$ 개체와 만나는 점에서 수직으로 포식량에 도달하기 위한 적정 먹이 밀도는 130개체/0.5 L가 된다.

같은 방법으로 구하면 전장 7.0 ± 0.4 mm (부화 후 9일째)의 경우 최대 포식량은 $Y = 259.2 \pm 12.94$ 개체이며 이때의 적정밀도는 257개체/0.5 L가 된다. 전장 8.0 ± 0.4 mm (부화 후 11일째)의 경우 최대 포식량은 $Y = 280.78 \pm 12.44$ 개체이며 이때의 적정밀도는 307개체/0.5 L가 된다. 전장 9.0 ± 0.3 mm (부화 후 14일째)의 경우 최대 포식량은 $Y = 414.83 \pm 24.57$ 개체이며 이때의 적정밀도는 438개체/0.5 L가 되고, 전장 10.0 ± 0.4 mm (부화 후 17일째)의 경우 최대 포식량은 $Y = 556.16 \pm 20.22$ 개체이며 이때의 적정밀도는 558개체/0.5 L가 된다.

자어 전장 (X)에 따른 *Artemia* 부화 직후 유생의 평균 최대 포식량 (Y)은 $Y = 95.91 X - 52.54$ 의 직선회귀식으로 나타낼 수 있다 (Fig. 11).

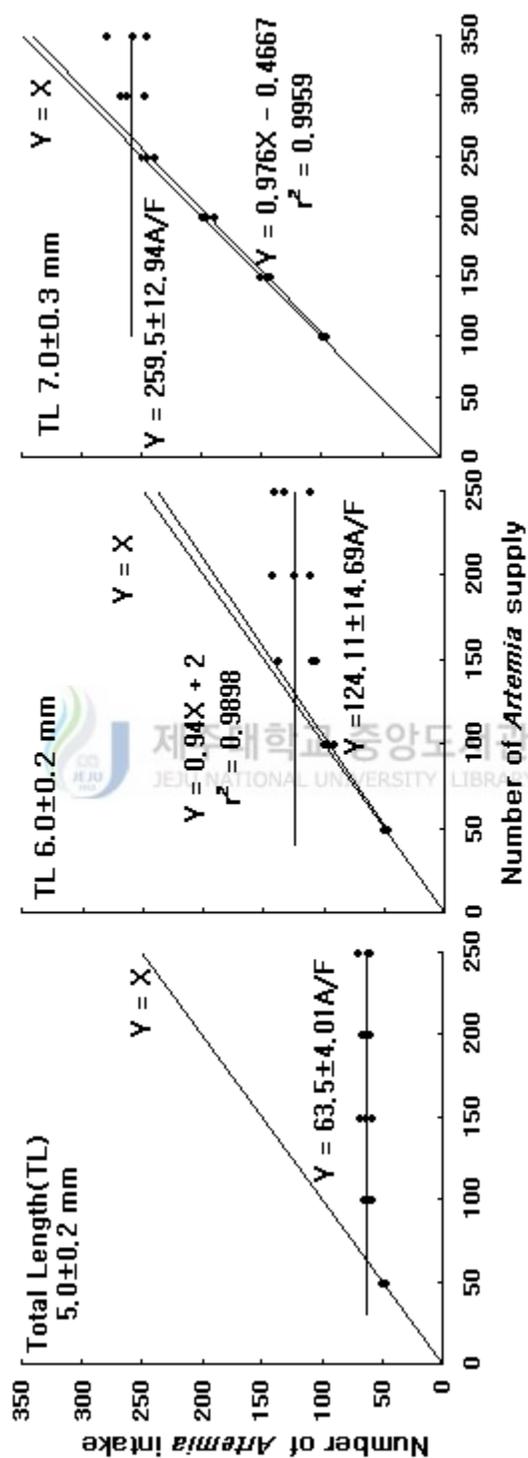


Fig. 10. Relationship between the number of Artemia supply and number of Artemia nauplii intake of the larvae of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

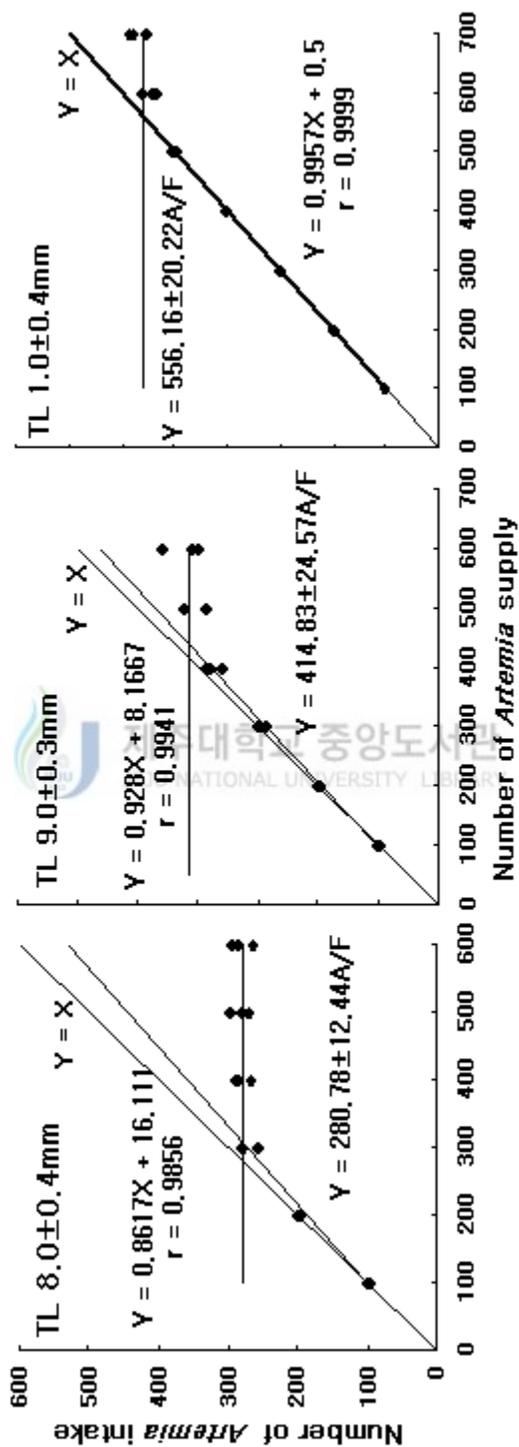


Fig. 10. Continued.

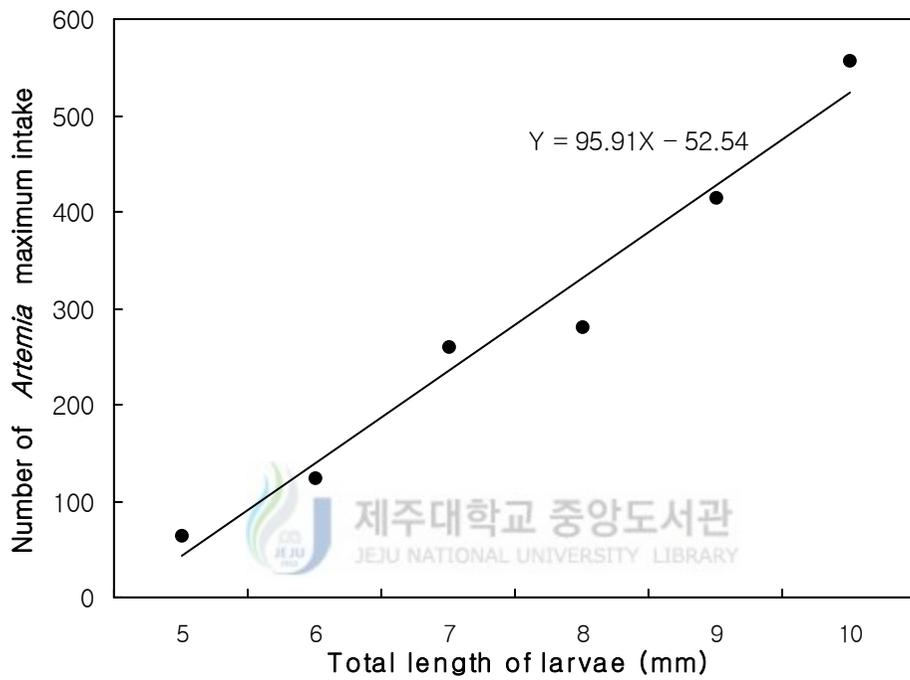


Fig. 11. Relationship between the number of maximum *Artemia* intake and total length of larvae of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

3) 치어의 염분 내성

치어들의 염분 변화에 따른 생존율을 조사한 결과는 Fig. 12과 같다. 실험 초기 32‰ 염분을 일주일마다 5‰씩 내린 A 실험구에서는 실험 12일째 27‰에서 첫 폐사개체가 나타났고 27‰까지 90.0% 생존율을 보였으나 실험 22일째 22‰에서 모든 개체가 폐사되었다. 염분을 3일마다 2‰씩 내린 B 실험구에서는 실험 20일째 A실험구보다는 5‰ 더 낮은 20‰에서 개체의 폐사가 나타났고, 20‰까지는 생존율이 80.0%이며, 18‰(실험 25일째) 생존율이 30.0%였다. 그리고 16‰(실험 27일째) 모든 개체가 폐사되었다.

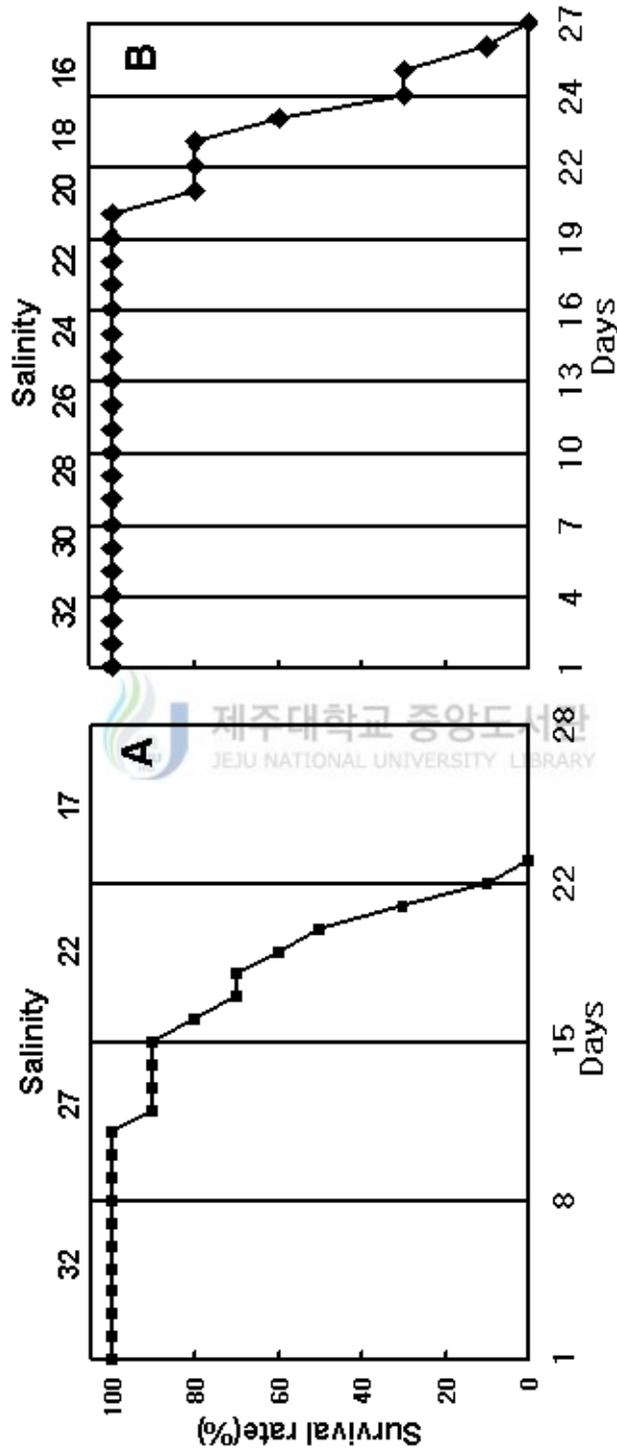


Fig. 12. Survival rate of juveniles of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus* at reduction 5‰ per 7 days (A) and reduction 2‰ per 3 days (B).

IV. 고 찰

Saddleback clownfish 어미들의 산란과 알을 보호하는 행동은 다른 clownfish나 자리돔과 어류들의 알 보호하는 형태와 유사하다. 자리돔과 어류는 산란 전에 산란기질에 붙은 이끼, 부착규조류 등과 같은 이물질을 제거하고, 주위에 있는 산호조각과 작은 돌맹이 등을 입을 이용하거나 꼬리지느러미로 쳐서 다른 곳으로 옮긴다 (Hoff, 1996; Stratton, 2000; Tullock, 1998; Wilkerson, 1998). 이는 산란할 때 움직일 수 있는 공간을 확보하기 위한 행동으로 보고되고 있다 (Hemdal, 2003.) 알 관리는 암컷보다 수컷이 관리하는 시간이 길며, 포식자로부터 알을 지킨다. 어미들의 알 관리는 가슴지느러미의 날개짓으로 알을 흔들리게 하여 알과 알 사이에 새로운 물과 산소를 공급한다. 그리고 입으로 난 발생 중에 죽는 알과 곰팡이나 세균에 감염된 알을 제거하여 더 이상 확산되는 것을 막는다 (Moe, 1992; Wilkerson, 1998; 김 등, 2001).

열대지역에 서식하는 *Dascyllus aruanus* (Nozomi et al, 2000), *Epinephelus polyphkadion* (Rasem et al. 1997), *E. merra* (Lee et al., 2002) 등의 산란주기와 달 주기 (lunar cycle)에 강한 상관관계를 보고하였다. 또한 열대지역에 서식하는 clownfish에서도 달 주기와 산란주기 사이에 강한 상관관계를 보고하였다. (Allen, 1975; Ross, 1978; Richardson et al, 1997). 그러나 clownfish 중에서도 아열대지역에 서식하는 개체나 수조와 같은 인위적인 공간에서 사육할 때에는 달 주기와 산란주기 사이에 관계가 없음을 보고하였다 (Alava and Gomes, 1989). 이 연구에서도 saddleback clownfish의 산란주기와 달 주기 사이에 주기성을 찾아볼 수 없어 Alava and Gomes (1989)의 결과와 일치되었다.

Clownfish의 산란주기는 서식지역에 따라 달라지는데 열대지역에 서식하는 종은 연중 산란이 일어나며 (Ross, 1978), 아열대지역에 서식하는 종은 수온이 상승되는 시기에 산란을 많이 일어난다 (Moyer and Bell, 1976). 수조에서 사육하는 clownfish는 연중으로 산란하나 봄과 여름에 산란이 많이 일어난다 (Alava and Gomes, 1989; Hoff, 1996). 이 연구에서도 saddleback clownfish를 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 사육하였을 때 계절에 상관없이 일어났다 (Table 1).

이 연구에서 Saddleback clownfish의 수정란은 타원형으로 장경이 2.23~2.61 mm로鈴木·高松(1989)가 보고한 2.20~2.40 mm라고 한 것과 비슷한 크기였지만, 동일 속(genus)의 *A. frenatus* 2.6~2.9 mm보다는 작았지만, *A. ocellaris* 2.20~2.40 mm, *A. sandaracinos* 1.95~2.15 mm, *A. perideraion* 2.0~2.1 mm(鈴木·高松, 1989), 그리고 *Premnas biaculeatus* 1.95~2.01 mm(Rho et al, 2004a)에 비하면 더 커서 clownfishes 중에서 비교적 큰 수정란에 속하였다(Table 5). 침성접착란을 가진 해산어류의 수정란의 장경과 비교하면 연무자리돔 0.73~0.88 mm(김 등, 2001), 두줄망둑 1.40~1.58 mm(김과 한, 1990), 날개망둑 1.41~1.58 mm(진 등, 2003), 모치망둑 0.93~0.96 mm(한과 김, 1991), 쥐노래미 2.00~2.15 mm(김 등, 1993) 보다는 크지만, 딱지 2.28~2.36 mm(김 등, 1987)와는 비슷하고, 미끈날망둑 3.40~4.04 mm(김과 한, 1989) 보다는 작았다.

Clownfish의 산란 직후 알 색깔은 종에 따라 다르다. *A. ocellaris*는 노란색, *A. clarkii*는 주황색 또는 노란색, *A. frenatus*는 붉은색, *A. perideraion*은 핑크색 그리고 *Premnas biaculeatus*는 밝은 붉은색이다(Stratton, 2000; Wilkerson, 1998). Wilkerson(1998)은 어미들의 영양상태가 안 좋을수록 알의 색은 연하고, 탁하나 영양상태가 좋을수록 알의 색은 맑고 진한 색이라고 보고 하였다. 이 연구에서 saddleback clownfish는 1차 산란까지 인공배합사료만을 공급하였을 때 알 색깔이 연한 주황색이었으나 인공배합사료와 생사료를 교대로 공급해 준 결과 3차 산란부터는 알 색깔이 짙은 선홍색으로 바뀌어 동일종에서도 영양상태에 따라 알 색이 다르게 나타남을 알 수 있었다.

또한 clownfish의 알은 발생이 진행될수록 색깔이 변하는 것으로 보고 되고 있다(Hoff, 1996; Tullock, 1998; Wilkerson, 1998). 이 연구에서도 산란 직후 짙은 선홍색이었으나 산란 후 1일이 지나면서 알의 색이 더욱 진해졌다. 산란 후 3일째 알은 전체적으로 검붉은색으로 변하였고 알의 끝에 눈이 생기는 것을 육안으로도 확인할 수 있었다. 산란 후 5일째부터 눈이 은백색으로 반짝이기 시작하여 부화 직전에는 대부분이 은백색으로 반짝였다. 알 색은 산란 직후 종에 따라 조금씩 다르지만 발생이 진행되면서 색의 변화 패턴은 유사한 양상을 보였다(Hoff, 1996; Wilkerson, 1998). 이와 같은 알 색의 변화로 발생단계와 부

Table 5. Characteristic of eggs and new hatching larvae of clownfish

Species	Incubation time	Eggs		New hatching larvae		Reference
		Long axis(μm)	Minor axis(μm)	Long axis(μm)	Total length(μm)	
<i>Amblypura ocellaris</i>	7~8days	2.2~2.4	0.85~0.98	4.4~4.7		鈴木? 高松, 1989
<i>A. clarkii</i>				3.3~5.2		Mover and Bell 1976
<i>A. frenatus</i>	10~12days	2.6~2.9	0.9~1.0	4.2~4.5		鈴木? 高松, 1989
<i>A. polyommus</i>	7~8days	2.2~2.6	0.9~1.0	4.3~4.7		This study
<i>A. sandaracio</i>	28.0 $^{\circ}\text{C}$ -7days 24.8 $^{\circ}\text{C}$ -11days	1.9~2.1	0.8~0.9	3.7~3.9		鈴木? 高松 1989
<i>A. periderisio</i>	23.6~28.9 $^{\circ}\text{C}$ 6~7days	2.0~2.1	0.82	3.2		鈴木? 高松 1989
<i>A. melanopus</i>	28.0 $^{\circ}\text{C}$ -9days			4.2 (standard length)		Bridget and mark 2001
<i>Premnas biaculeatus</i>	26.0 $^{\circ}\text{C}$ -6days	1.9~2.0	0.83~0.91	3.1~3.5		Rho et al 2004a

화시기를 쉽게 예측할 수 있었다.

Clownfish의 부화기간은 수온과 종에 따라 다르지만 대략 6일에서 12일 사이로 보고 되고 있다 (Table 5). *Premnas biaculeatus*는 수온 26°C에서 6일 (Rho et al, 2004a), *A. melanopus*는 9일 (Bridget and Mark, 2001), *A. clarkii*는 6일, *A. frenatus*은 25~28°C에서 10~12일, *A. ocellaris*는 25~26°C에서 7~8일, *A. sandaracinos*는 28.4°C에서 7일, 24.8°C에서 11일(鈴木・高松, 1989), *A. percula* 25.5°C에서 8일 (Tulloch, 1998)에 부화 한다. 이 연구에서 saddleback clownfish는 26°C에서 7일째에 부화 하였다. 부화되는 시간은 일반적으로 어두워진 후 1~3시간 사이에 일어난다. 그러나 부화 중간에 점등을 하면 부화가 중단되며 부화하지 못한 개체들은 다음날 밤에 부화한다고 보고하고 있다 (Hoff, 1996 Skomal, 2004; Tullock, 1998; Wilkerson, 1998).

이 연구에서 saddleback clownfish의 부화 직후 자어 전장은 4.31~4.78 mm로 鈴木・高松 (1989)의 부화 직후 자어 전장이 4.18~4.22 mm라고 한 것에 비하여 컸다. 그리고 *A. frenatus* 4.2~4.5 mm, *A. ocellaris* 4.4~4.7 mm와는 비슷하였고, *A. sandaracinos* 3.7~3.9 mm, *A. perideraion* 3.2 mm보다 전장이 컸다 (Table 5).

이 연구에서의 saddleback clownfish 부화 자어는 부화 후 10일째에 8.39±1.55 mm, 부화 후 20일째에 12.59±1.96 mm, 부화 후 90일째에 34.23±4.35 mm로 비교적 빠른 성장을 보였다. 鈴木・高松 (1989)은 부화 후 10~13일째에 8.33~9.67 mm, 부화 후 15~20일째에 16.7~23.7 mm, 부화 후 100~120일째 23.3~30.7 mm로 성장한다고 하였다. Rho et al (2004b)은 *Premnas biaculeatus*의 부화 자어 전장은 3.10~3.44 mm로 이 종보다 작았고, 부화 후 10일에는 5.64~6.89 mm, 부화 후 45일에는 13.64~19.37 mm로 성장하였다. 이런 성장 차이는 종, 사육환경 그리고 사육 조건에 따른 차이에 의한 것으로 생각된다.

Muthuwan et al (2001)는 saddleback clownfish 자어 사육 연구에서 생존율이 7일째에 50.0%이하로 내려갔고, 30일 후 11.6%를 보고하였다. 이 연구에서의 부화 후 5일 이내에 자어들이 먹이를 먹지 못하였거나, 환경적응 등 여러 가지 요인들에 의해 생존율이 50.0% 이하로 감소하였고, 부화 후 8일째 첫

Artemia 공급시 자어들의 *Artemia* 과식에 의한 폐사가 일어나 생존율이 43.9%에서 35.8%로 떨어졌다. 부화 후 30일째에는 사육수조를 옮기면서 적응하지 못한 개체가 폐사하는 개체들이 나와 생존율이 35.9%에서 29.5%로 떨어졌다. 그 이후에는 대량폐사가 일어나지 않았고, 안정된 사육이 유지되었다.

Clownfish의 변태시기에는 1~3개의 band가 머리, 등, 꼬리에 생긴다. 이 시기에 표층에서 부유생활을 하던 자어들이 공생말미잘을 찾아 저면으로 내려가 집단인 한 구성원으로 자리를 잡는다 (Hoff, 1992; Moe, 1992; Tullock, 1998; Wilkerson, 1998). 이 연구에서 saddleback clownfish의 변태 시기는 부화 후 8일부터 23일까지 일어났다. 부화 후 8일에서 11일 사이에 머리와 등에 하얀색 band가 생겨나면서 수조의 저면으로 내려가 생활하였다. 수조 저면에서도 에어스톤과 같은 물체의 근처에 자어들이 모이는데 수조의 구조물 중에서도 밝은 색보다는 어두운색의 물체에 모이는 경향이 강하게 나타났다. 부화 후 11일에서 23일 사이 머리에 생기는 band가 모양을 갖추고 등에 생기는 band는 직선적인 모양에서 말 안장모양으로 변하며 꼬리지느러미에도 하얀색 band가 나타났다. 이때부터 저면에서 유행하던 자어들은 수조의 중층으로 올라와 자유롭게 유행하기 시작하였다.

Clownfish는 일반적으로 부화 후 1일부터 200 μm 전후의 rotifer를 섭식하지만, 이 시기의 자어는 시력과 운동력이 완전히 발달하지 못한 상태로 주위의 색에 의해 먹이 인식과 포식력이 좌우된다 (Martin-Robichaud et al., 1998). Downing (1999)은 haddock, *Melanogrammus aeglefinus* 자어사육에서는 흰색 수조가 검은색 수조보다 생존율이 높았다고 보고하였다. Tamazouzt et al. (1996)은 european perch, *Perca fluviatilis* 자어의 생존율과 성장률은 흰색, 녹색, 검은색 순으로 우수하다고 보고하였다. 이 연구에서도 생존율은 투명한 수조와 흰색 수조가 검은색 수조와 파란색수조보다 높았고, 성장은 투명한 수조가 파란색수조보다 좋았다. 초기 자어가 rotifer를 인식 및 섭식하기 위해서는 어두운 수조보다는 밝은 수조가 더 유리한 것으로 사료된다.

*Artemia*는 고도불포화지방산 (ω 3-HUFA) 함유량이 rotifer, *Tigriopus* 등에 비하여 현저하게 낮기 때문에 해산어류 종묘생산에는 영양 강화한 *Artemia*를 공급한다. 24시간동안 영양 강화한 *Artemia*는 일반적으로 12시간만에 25.0%의

에너지가 손실되므로 영양 강화 후 빠른 시간 내에 포식되어야 한다 (노, 1991). 인공종묘생산 과정에서 체계적인 먹이 공급은 자어의 건강과 경제적인 면에서 중요하다. 자어의 성장에 따른 *Artemia* 포식량에 대한 연구에서 흰점독가시치, *Siganus canaliculatus*는 부화 후 12일째 자어(TL 7.0±0.6 mm) 1마리가 평균 43.5개체를 포식하였고, 부화 후 15일째 자어(TL 9.9±1.14 mm) 1마리가 438개체를 포식하였다 (황, 1999). 넙치, *Paecilichthys olivaceus* 자어의 경우 전장 10mm 일때 *Artemia* 평균 포식량은 135개체를 섭식하였고 (노와 변, 1986), 감성돔, *Mylio macrocephalus*의 10 mm 자어인 경우 428개체를 포식하였고 (이와 노, 1986), 자주복, *Takifugu rubripes*의 6 mm, 8 mm 그리고 10 mm 자어는 각각 428, 960, 그리고 1434 *Artemia*를 포식하였다 (노와 정, 1993). 이 연구에서 saddleback clownfish는 6.0±0.2 mm, 8.0±0.4 mm와 10.0±0.4 mm에서 각각 124.11, 280.78 그리고 556.16개체를 포식하여 넙치, 흰점독가시치, 감성돔보다는 많았지만, 자주복보다는 적었다. 이와 같이 어종 간에 포식량 차이는 종마다 포식능력 뿐만 아니라 사육조건, 사육수온, 자어의 구경 등에 따라 차이가 생긴 것으로 사료된다.

염분은 해양생태계에서 해양생물의 생리적 변화에 영향을 미치는 환경요인 중의 하나이다. 어류에 있어 염분은 대사활동, 삼투조절 및 생체리듬 등에 영향을 주기 때문에 회유성 어류 및 기수지역에 서식하는 광염성 어류에 있어서 중요한 요인으로 작용한다 (강 등, 2004). 넙치, *Paralichthys olivaceus* 20~21 mm치어는 27‰에서 14‰로 갑자기 염분을 떨어뜨리면 24시간 이내에 대부분이 폐사되나 4일 간격으로 7‰씩 염분을 내리면 14‰까지 생존한다 (노, 1987). 감성돔, *Mylio macrocephalus* 14.1~14.5 mm 치어는 27‰에서 3일간 순치시켜 20‰로 낮추어도 폐사되지 않았으나, 일반해수 (33‰)에서 급격히 20‰로 내렸을 때 50%가 폐사되었다 (이와 정 1986). 이 연구에서는 일주일 5‰씩 내린 A 실험구에서는 22‰에서 모든 개체가 폐사되었으나 3일에 2‰씩 내린 B 실험구에서는 16‰에 폐사되었다 (Table 4). 따라서 이 종은 25‰ 내외에서 안정적인 사육이 가능할 것이라 사료된다. Hoff (1996)에 의하면 IOH (Instant Ocean Hatcheries)에서는 clownfish 사육수의 비중은 1.018 (27‰내외)로 낮추어 사육하지만 산란과 성장에는 아무런 영향이 없다고 하였다. 이런 저염분 사육에 있

어서 얻을 수 있는 장점은 인공 해수염을 적게 사용할 수 있으므로 관리 유지 비용이 적게 들며, 해산 세균이나 기생충의 피해를 줄일 수 있다. 그러나 저염 분에서의 장기간 사육과 급격한 염분 저하에 따른 생리적 장애와 생존여부에 대해서는 앞으로 더 상세한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.



요 약

Clownfish는 세계적으로 해양수족관과 관상어 애호가들의 사랑을 받는 주요 종으로 점차 그 수요가 점점 증가하고 있다. 태국 Burapha 대학에서 이식해 온 부화 후 2개월 된 saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus* 2마리(S1, S2)와 2004년 5월에 인도네시아로부터 이식한 5마리(S3~S7)를 사용하여 인공종묘 생산 기술 개발을 목적으로 어미의 관리, 성숙, 산란, 부화, 자치어의 사육 방법에 대한 연구를 수행하였다.

S1과 S2의 첫 산란은 부화 후 21개월째인 2002년 8월 11일이었고, 이 때 S1의 전장은 11.4 cm, S2는 8.8 cm였다. 이후 2003년 10월까지 7회의 산란이 일어났으나, 모두 수정이 되지 않았다. 2003년 11월에 수컷 행동을 해온 S2가 폐사하여 생식소를 확인한 결과 미숙한 단계의 암컷이었다. 2004년 5월에 인도네시아산 5마리(전장 5.2~8.5 cm)를 S1이 있는 수조에 수용한 결과 S1과 S3가 짝을 지었고, 수용 32일째에 산란이 일어났다. 알은 타원형으로 알색은 선홍색이었고 침성점착란이었다. 수정난은 장경 2.46 ± 0.13 mm, 단경 0.96 ± 0.02 mm이었고, 수정율은 96.7%였다. 부화는 산란 7일째 소등 후 1~2시간 사이에 대부분이 일어났으며 부화율은 85.5%였다.

부화자어의 전장은 4.58 ± 0.21 mm로, 입과 항문이 열린 상태였다. 부화 후 1일째 자어는 난황이 완전히 흡수된 상태로 rotifer를 먹기 시작하였으며, 전장은 4.90 ± 0.35 mm였다. 부화 후 5일째 자어는 전장이 5.88 ± 0.31 mm 이고, 생존율이 50.0% 이하로 떨어졌다. 부화 후 8일째 자어는 변태를 시작하여 부화 후 23일째에 평균 전장이 15.00 ± 2.12 mm에서 변태가 완료되었다. 부화 후 45일째 치어는 전장이 22.76 ± 3.22 mm이고, 부화 후 90일째 치어는 전장이 34.28 ± 4.35 mm 이고, 이때 생존율은 28.2%이었다.

초기 자어의 수조색갈별 생존율은 흰색수조가 55.0%, 투명한 수조, 검정색수조, 파랑색수조로 각각 50.0%, 40.0%, 25.0% 순위였다 ($P < 0.05$). 성장은 투명한 수조 6.24 ± 0.31 mm, 검정색수조 5.99 ± 0.49 mm, 흰색수조 5.88 ± 0.17 mm, 파란색수조 5.59 ± 0.24 mm의 순위였다 ($P < 0.05$).

자어의 성장에 따른 *Artemia* 부화 직후 유생의 평균 최대포식량 (Y)은 전장 (X) 5.0±0.2 mm, 6.0±0.2 mm, 8.0±0.4 mm, 10.0±0.4 mm에서 각각 63.5, 124.1, 280.8 그리고 556.2개체를 포식하여 $Y = 95.91 X - 52.54$ 의 직선회귀식으로 나타낼 수 있다.

치어의 염분내성 실험에서 일주일에 5%씩 내린 A 실험구에서는 22%로 낮춘 후 7일째에 모든 개체가 폐사되었으나 염분을 3일에 2%씩 내린 B 실험구에서는 16%에서 27일째에 폐사되었다.



VI. 참고문헌

- Alava V. R. and L. A. O. Gomes, 1989. Breeding marine aquarium animals: the anemonefish. Naga ICLARMQ July, p.12~13.
- Allen G. R., 1975. Anemonefishes: their classification and biology. T. F. H. Neptune city, 76 pp.
- Allen G. R. and D. G. Fautin, 1992. Field guide to Anemone fishes and their host sea anemones. Western Australian Museum, 87 pp.
- Bridget S. G. and I. M. Mark, 2001. Ontogeny of the digestive and feeding systems in the anemonefish *Amphiprion melanopus*. Environmental Biology of Fishes, 61: p.73~83.
- Dowing G. and M. K. Litvak, 2001. The effect light intensity and spectrum on the incidence of first feeding by larval haddock. 19(6) : 1566~1578.
- Gordon A. K., H. Kaiser, P. J. Britz and T. Hecht, 1998. Effect of feed type and age-at-weaning on growth and survival of clownfish *A. percula*. Aquarium Sciences and Conservation, 2 : 215~226.
- Hoff F. H., 1996. Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish. Aquaculture Consultants Inc., 212 pp.
- Hemdal J. F., 2003. Aquarium fish breeding. BARRON'S, pp. 128~130.
- Lee, Y. D., S. H. Park, A. Takemura and K. Takano, 2002. Histological observations of seasonal reproductive and luna-related spawning cycle in the female honeycomb grouper, *Epinephelus merra* in Okinawa waters. Fisheries Science, 68 : 872~877.
- Nozomi Mizushima, Yasuhiro Nakashima, Tetsuo Kuwamnura, 2000. Semilunar spawning cycle of the humbug damselfish, *Dascyllus aruanus* Japan. Ethological Society, 18 : 105~108.
- Martin-Robichaud D. and R. H. Peterson, 1998. Effects of light intensity, tank colour and photoperiod on swimbladder inflation success in larval striped bass, *Morone saxatilis*(Walbaum). Aquaculture Research, 29 : 519~547.
- Moe Martin A. 1992, The marine aquarium handbook: beginner to breeder. Green Turtle Publications, 315 pp.

- Moyer Jack T., 1976. Geographical Variation and Social Dominance in Japanese Populations of the Anemonefish, *Amphiprion clarkii*. Japanese Journal of Ichthyology, 23 : 12~21.
- Moyer Jack T. and C. E. Sawyers, 1973. Territorial Behavior of the Anemonefish *Amphiprion xanthurus* with Notes on the life History. Japanese Journal of Ichthyology, 20 : 85~93.
- Moyer Jack T. and L. J. Bell, 1976. Reproductive Behavior of Anemonefish *Amphiprion clarkii* at Miyake-jima Japan. Japanese Journal of Ichthyology, 23 : 23~32.
- Moyer Jack T. and R. C. Steene, 1979. Nesting Behavior of the Anemonefish *Amphiprion polymnus*. Japanese Journal of Ichthyology, 26 : 209~214.
- Muthuwan, V., Sawatpeera, S., Luang-Oon, N., Munkongsomboon, S., and Chomrung, A. 2001. Breeding and Larval Rearing of the Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linneaus. Marine Ornamentals 2001, p. 72.
- Nozomi Mizushima, Yasuhiro Nakashima and Tetsuo Kuwamra, 2000. Semilunar spawning cycle of the humbug damselfish *Dascyllus aruans*. Japan. Ethological Society and Springer-Verlag Tokyo, 18 : 105~108.
- Rasem, B. M., C. M. James, S. A. Al-Thobaiti and M. H. Carlos, 1997. Spawning of the camouflage grouper, *Epinephelus polyhekadion*(Bleeker) in the hypersaline water of Saudi Arabia. Asian Fisheries Science, 9 : 251~259.
- Richardson Darren L., H. L. Peter and H. J. Vicki, 1997. Timing of spawning and fecundity of a tropical and subtropical anemonefish (Pomacentridae: *Amphiprion*) on a high latitude reef on the east coast of Australia. Marine Ecology Progress Series, 156 : 175~181.
- Rho Sum, Choi Young-ung, Kim Joung-su, Yoon young-seock, Jung min-min and Hwang sung-il, 2004 a. Studies on spawning and hatching of Maroon clownfish, *Premnas biaculatus*. Japanese society for aquaculture research korean aquaculture society, pp. 14~15.
- Rho Sum, Choi Young-ung, Kim Joung-su, Yoon young-seock, Jung

- min-min and Hwang sung-il, 2004b. Growth and survival of Maroon clownfish, *Premnas biaculatus* larvae. Japanese society for aquaculture research korean aquaculture society, pp. 39~40.
- Ross R. M., 1978. Reproductive behavior of the anemonefish *Amphiprion melanopus* on Guam. *Copeia*, (1) 103-107.
- Sawatpeera S, V. Muthuwan, P. Songchang and N. Keawgunha, 2001. The Developmental Stages of the Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linnaeus. *Marine Ornamentals* 2001, p. 81.
- Skomal Gregory B., 2004. Clownfishes: In the aquarium. T. F. H. Publications Inc., 158 pp.
- Stratton Richard F., 2000. Clownfishes(Anemonefishes): Care, Feeding and Breeding Identifying the Clownfish Species Clownfishes and Anemones. T. F. H. Publications Inc., pp64.
- Tamazouzt L., P. Fontaine and B. Capdeville, 1996. Growth of the Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) reared in floating cages and in water recirculated system: First results. *Journal of applied ichthyology*, 12 : 181~184.
- Tulloch John H., 1998. Clownfishes and Sea Anemones. BARRON'S, pp71.
- Wilkerson Joyce D., 1998. Clownfishes: A Guide to their Captive Care, Breeding & Natural History. T. F. H. Publications Inc., 240 pp.
- 今井貞彦, 四宮明彦, 1971. クマノミ類の初期生活史. 魚類學會誌, 18 : 104.
- 鈴木克美, 高松史朗, 1989. 海水魚の繁殖. 綠書房, 49~71 pp.
- 八塚 剛, 1962, カニ類とくに タイワンガザミ, *Portunus pelagicus*の幼生の人工飼育に関する研究. 宇佐臨海實驗研究報告(1) 1~95 pp.
- 강주찬, 지정훈, 김성길, 박경수, 박승윤, 2004. 염분농도에 따른 두줄망둑, *Tridentiger trignocephalus* 치어의 내성. *환경생물학회지*, 22 : 253~258
- 김용억, 박양성, 명정구, 1987. 딱지의 난발생과 자치어. *한국수산학회*, 20 : 157~165.
- 김용억, 한경호, 1989. 미끈날망둑, *Chaenogobius laevis*의 난발생과 자치어. *한국수산학회*, 22 : 317~331.
- 김용억, 한경호, 1990. 두줄망둑, *Trdentiger trignocephalus*(Gill)의 산란행동 및 초기생활사. *한국어류학회*, 2 : 53~62.

- 김용억, 한경호, 김병학, 1993. 쥐노래미, *Hexagrammos otakii*의 난발생과정 및 자어의 형태발달. 한국어류학회, 5 : 151~159.
- 김진구, 김용억, 박진우, 2001. 연무자리돔, *Chromis fumea*의 산란보호, 난발생 및 자어의 형태발달. 한국어류학회, 13 : 166-172.
- 노 섬, 1987. 넙치, *Paralichthys olivaceus*(Temminck et Schlegel) 양식에 관한 연구. 제주도연구, 146 pp.
- 노 섬, 1991. 해산어류양식(넙치를 중심으로). 제주대학교 해양과학대학 어류양식연구실, pp. 55~62.
- 노 섬, 변충규, 1986. 제주도산 어류(능성어아과)의 종묘생산에 관한 기초적 연구 및 넙치종묘 양산화에 관한 연구. 제주대학교 해양과학대학 양식연구실, 제3호 pp. 18~43.
- 노 섬, 정운석, 1993. 자주복 *Takifugu robripes* (Temmick et Schlegel)의 종묘생산에 관한 연구. 한국양식학회지, 6 : 295~310.
- 유재명, 이선명, 김성, 이응경, 김웅서, 명철수, 1995. 제주바다물고기
- 이정재, 노 섬, 1986. 감성돔, *Mylio macrocephalus*(Basilewsky)의 종묘생산에 관한 연구. 1986. 제주대학교 해양자원연구소. 20 pp.
- 이택열, 이영돈, 1987. 자리돔 *Chromis notatus*의 성성숙(性成熟)과 산란. 한국수산학회. vol. 19 No. 3 p.288.
- 진동수, 한경호, 박진우, 2003. 날개망둑(*Favonigobius gymnauchen*)의 산란습성, 난 및 자치어의 형태 발달. 한국수산학회, 36 : 136~143.
- 한경호, 김용억, 1991. 모치망둑, *Mugilogobius abei*(Jordan et Snyder)의 산란 행동(産卵行動)및 초기생활사 初期生活史. 한국어류학회, 3 : 1~10.
- 황형규, 1999. 흰점독가시치, *Siganus canaliculatus*의 양식생물학적 연구. 제대 박사학위논문.

감사의 글

학문의 길로 열어주시고 이 논문이 완성되기까지 언제나 자상한 가르침을 주시고 때로는 엄하게 꾸짖어 주신 노섭 교수님께 진심으로 감사의 마음을 전합니다. 그리고 바쁘신 중에서도 논문을 정성껏 다듬어 주시고 격려를 아끼지 않으셨던 이영돈 교수님과 이경준 교수님께 감사의 말씀을 드립니다. 또한 다양한 학문의 방향을 가르쳐 주시고 따뜻하게 저를 지켜봐 주신 정상철 교수님, 이기완 교수님, 최광식 교수님께 감사드립니다.

이 논문이 완성되기까지 관심과 사랑으로 저를 이끌어 주신 항상 실험실에서 동거동락을 함께한 최영웅 선배님, 김종수 선배님께 감사드립니다. 늘 용기와 따뜻한 격려를 해준 어류양식연구실 선배님들(정민민 선배님, 영철이형, 형철이형, 병석이형, 정호형, 성일이형)과 후배님들(남용, 명관, 혜진, 찬행)께 감사를 드립니다. 같이 대학원 생활을 하면서 저를 항상 따뜻하게 대해주신 대학원 선배님들(도형이형, 오수형, 영보형, 치훈이형, 장범)과 후배님들(지웅, 영석, 상우, 삼연, 나래)께 감사의 말씀을 전합니다. 조교 생활 하면서 실험을 할 수 있게 도와주신 조영웅 선생님과 강기봉 선생님께 감사드립니다. 그리고 대학생활 하면서 좋은 추억 만들어 주시고 사진을 가르쳐 주신 J.P.C.(제주대학교 사진동아리) 회원님께 감사드립니다.

오늘이 있기까지 어려운 여건에서도 항상 사랑과 희생으로 뒷바라지하시고 고생하신 사랑하는 어머니님과 언제나 사랑으로 지켜봐주시고 힘이 되어 주신 형님, 형수님 그리고 누님께 감사드립니다. 그리고 지금은 먼 하늘나라에서 아들을 지켜보실 아버지님 영전에 이 논문을 받칩니다.