

Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*의 종묘생산에 관한 연구

1) 산란과 난 발생 및 자치어 사육

윤영석*, 노 섬, 최영웅, 김종수, 이영돈¹

제주대학교 해양과학대학 수산생물학과, ¹제주대학교 해양과환경연구소

Studies on Seed Production of Saddleback Clownfish, *Amphiprion polymnus*

1) Spawning, Egg Development and Larvae Culture

Young-seock Yoon, Sum Rho*, Young-Ung Choi, Jong-Su Kim and Young-don Lee¹

Faculty of Applied Marine Science Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

¹Marine & Environmental Research Institute, Cheju National University, Jeju 695-810, Korea

Clownfish are important and very popular fish in the ornamental aquarium industry. Demand for the fish is increasing dramatically. The present study was conducted to verify methods of broodstock management, patterns of spawning, rates of egg hatching and estimates of larval growth for the saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*. Spawning occurred 8 times between August 2002 to June 2004 with 2 females and 1 male participating. Fertilized eggs were separated by an adhesive matrix and were oval in shape. The eggs were 2.46 ± 0.13 mm in size as measured along the longest axis. The percentage of fertilized eggs was 96.7%. Hatching was observed seven days post-spawning and hatching rate was 85.5%. The sizes of the newly-hatched larvae were 4.58 ± 0.21 mm TL (total length). Larvae had an open mouth and anus, and an oval yolk sac. At the 1st day after hatching, the sizes of the larvae were 4.90 ± 0.35 mm TL. The larvae began to eat rotifers after complete yolk absorption. On the 5th day post-hatch, larvae were 5.88 ± 0.31 mm TL with complete fins and the survival rate was 48.6%. At 8 days after hatching, a band began to appear on head and back of the larvae indicating the beginning of metamorphosis. Metamorphosis was completed at an average TL of 15.00 ± 2.12 mm on the 23rd day after hatching. By the 45th day after hatching, juveniles averaged 22.76 ± 3.22 mm TL and survival rate was 28.4%.

Keywords: Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*, Spawning, Egg development, Larval development

서 론

Clownfish는 농어목(Perciformes) 자리돔과(Pomacentridae)에 속하는 어류로 말미잘과 공생하며 폴리네시아에서 아프리카 동부 해안까지 아열대와 열대지역의 산호초 해역에 서식하고 있다. 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), 우리나라에는 *Amphiprion*속 흰동가리, *A. clarkii* 한 종만이 제주근해에 서식한다(Yu and Lee, 1995).

Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*는 일본 남부, 중

국, 베트남, 태국, 인도네시아, 필리핀 그리고 호주 동북부까지 분포하며, 연안 산호초지역의 수심 2~30 m까지 서식한다. 이들의 체색은 검은색 혹은 어두운 갈색으로, 머리 부분에 하얀색 band와 몸통 중앙에 안장(saddleback)모양의 하얀색 band가 있다(Wilkerson, 1998; Allen and Fautin, 1992; Stratton, 2000). 이 종은 일부일처제(monogamy)로 연중산란하며 알은 침성점착란이고, 암컷과 수컷은 부화할 때까지 알을 보호한다(Moyer and Steene, 1979).

Saddleback clownfish의 연구는 자연에서 산란습성(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 연구에서는 saddleback clownfish의 안정적인 종묘생산기술 개발을 위한 어미 사육, 산란행동, 수정란 발생과 자치어 형태발달 및 성장을 조사하였다.

*Corresponding author: rhoum@cheju.ac.kr or jpc17@cheju.ac.kr

재료 및 방법

친어사육

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 (S1: 1.5 cm, S2: 1.4 cm))로 사육을 시작하였다. S1과 S2가 7차 산란을 한 후 2003년 11월에 S2(11.4 cm TL)가 폐사되었다. 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 니후루스틸렌산 나트륨(엘바주), 포르말린 150 ppm으로 1시간씩 약욕한 후 S1이 있는 수조에 수용하였다.

어미로 육성하기까지의 먹이는 pellet사료((주)바다와 사람들)로 성장함에 따라 그 크기를 1700~2100 µm로 조절하여 하루 3~4회 공급하였다. 그리고 산란전후에는 인공배합사료를 하루 2~3회 공급하면서 생사료(조갯살, 냉동어란, 곤쟁이, 크릴 등)를 매일 점심에 충분히 섭식할 때까지 공급하였다. 알을 받기 위한 부착기질로서 지붕모양으로 만든 1개의 PVC shelter와 2개의 화분을 수조의 중앙과 벽 쪽에 설치하였고, 산란과 알을 관리하는 행동은 비디오카메라(SONY DCR-TRV 900)와 디지털카메라(Nikon Coolpix 4300)로 촬영하면서 관찰하였다.

난발생과 부화

난 발생을 관찰하기 위해 산란 직후 어미들을 먹이로 알에서 멀리 떨어진 쪽으로 유인하여 에어호스로 30여개의 알을 산란기질에서 떼어 냈다. 등우리에서 분리시킨 알은 500 ml 유리비커에 수용하여 약하게 포기(aeration)를 시켜주었고, 4~6시간마다 어미수조의 사육수를 30 µm 필터거즈로 여과시킨 후 물교환을 하였다. 수온은 어미수조와 동일한 수온인 26±0.5°C를 유지시켜 주었다. 난 발생 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(Fig. 1). 부화수조는

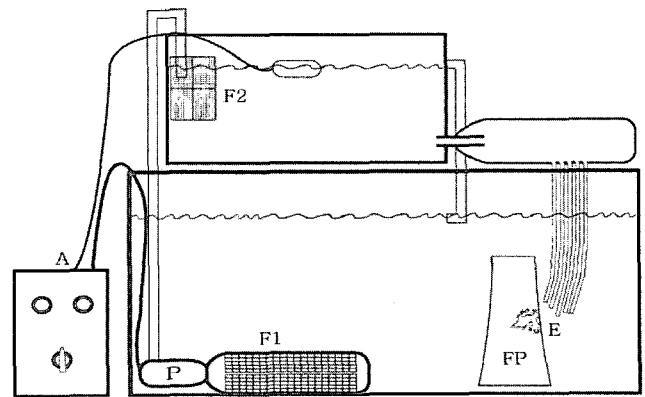


Fig. 1. Hatching tank. A: Auto control box, E: Eggs, F1: 200 µm filter, F2: 5 µm filter, FP: Flowerpot, P: Pump.

어미수조와 동일한 수온 26±0.5°C, 염분 32 psu로 맞추어 주었으며, 광주기는 14 L:10 D로 조절하였다(Bridget and Mark, 2001).

자치어 성장과 사육

부화자어를 사각유리수조(430×300×300 mm) 3개로 나누어 수용하였으며, 수온 26.5±0.5°C, 염분 32.5 psu로 어미수조와 동일하게 맞추어 주었고, 광주기 16 L:8 D로 조절하였다. 부화자어의 먹이공급은 Fig. 2와 같이 rotifer, *Brachionus rotundiformis* 는 농축 *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. 그리고 *Nannochloropsis* sp.를 3:3:4로 혼합한 배양액으로 영양 강화하여 부화 18시간 후부터 10개체/ml 로 공급하였으며 2~3시간마다 부족량만큼을 보충하였다. 자어수조에는 *Isochrysis galbana*를 5.0×10⁵ cell/ml 로 조성하여 수질 안정과 먹이생물의 먹이로 이용할 수 있게 해주었다. 부화 후 5일째부터 rotifer와 *Artemia nauplii*를 3~5개체/ml 로 공급하다가 부화 후 7일부터는 영양 강화한 *Artemia nauplii*를 단독 공급하였다. *Artemia nauplii*의 영양 강화는 농축 *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. 그리고 *Nannochloropsis* sp.를 3:3:4로 혼합한 배양액으로 24시간이상 영양 강화하여 공급하였다. 그리고 부화 후 8일째부터는 *Tigriopus japonicus* 1~2 개체/ml 를 공급하였다. 부화 후 20일째부터는 입자크기가 200~400 µm인 해산종묘용 사료(extruded pellet, Otohime)와 영양 강화 *Artemia nauplii*를 함께 공급하면서 인공배합사료의 먹이불임을 시도하였다. 부화 후 22일째부터는 인공사료로 먹

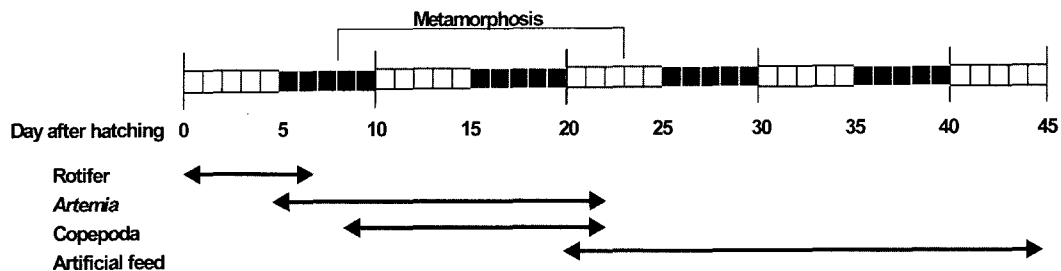


Fig. 2. Feeding regime during the experimental period of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

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

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

*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).

이를 완전히 전환시켰다.

자어의 발달과정 관찰은 해부현미경(Nikon, SM-2-U)과 광학현미경(Olympus, BHS W/AU)을 이용하였고, 크기측정을 위해 만능투영기(Mitopoyo, PD-3000)로 측정하였다.

결 과

산란

1차 산란에서 7차 산란까지는 S1과 S2에 의해 산란이 일어났다(Table 1). 1차 산란은 태국에서 이식한지 19개월(부화 후 21개월)이 경과한 2002년 8월 11일 PVC shelter에 산란하였다. 이때의 산란량은 103개였다. 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 변화하였고, 산란량은 1차 산란 시 103개에서 7차 산란 시 1257개로 산란이 거듭할수록 점차 증가하였다.

7차 산란을 마친 2003년 11월에 이제 까지 수정행동을 해온 S2가 머리와 입 부근에 상처를 입고 폐사하여 해부해 본 결과 미숙한 상태의 작은 난소가 발견되어 이제까지 7회의 산란에서 수정이 되지 못한 원인을 알 수 있었다.

8차 산란은 2004년 5월 21일 인도네시아로부터 구입하여 S1과 같이 수용한 5미 중에서 가장 큰 S3사이에서 약 1개월 후인 6월 24일에 일어났다. 알은 수정된 상태였고, 산란량은 1008개였다.

산란행동

암컷과 수컷은 산란 2~3일전부터 산란기질과 그 밑을 청소하였다. 산란 당일 암수 모두 하얀색의 2~3 mm 정도인 산란관

이 생식공 밖으로 나왔다. 산란은 먼저 암컷이 청소한 산란기질 부분에 배를 가까이 대고, 산란관을 산란기질에 붙여 알을 부착시켰다. 한 번에 붙이는 알의 수는 11~23개 범위였다. 암컷이 알을 붙이는 행동을 2~4회 반복한 후에 수컷은 그 위를 지나가면서 방정하여 수정을 시켰다.

산란 후 알은 암컷과 수컷이 함께 관리하는데, 암컷보다 수컷이 관리하는 시간이 더 길었다. 이 때, 암컷과 수컷은 가슴지느러미의 날개 짓으로 수류를 일으켜 알과 알 사이에 흐름을 주는 방식으로 물 교환과 산소 공급을 하였으며 입으로는 발생과정에서 죽은 알들을 제거 하였다.

난발생과 부화

수정란은 짙은 선홍색을 띠는 땅콩모양의 침성부착란으로 장경은 2.46 ± 0.13 mm ($n=30$), 단경은 0.96 ± 0.03 mm ($n=30$)이며 수정률은 96.7%였다. 난황에는 크기가 다른 수많은 유구가 분포하고 있었다.

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

난황이 계속 진행됨에 따라 5시간 40분후에는 상실기(Fig. 3D), 7시간 30분후에는 포배기(Fig. 3E)에 이르고, 배반엽(blastoderm)이 넓어지면서 난황을 덮기 시작하였다. 수정 후 16시간 20분 경과했을 때 배반은 점차 난황을 덮어씌우면서 낭배기에 이르렀다(Fig. 3F). 수정 후 23시간 후에는 배체를 형성하였고(Fig. 3G), 35시간 후에는 안포와 이포가 형성되었으며, 이때부터 부착사 쪽으로 향해있던 두부가 반대쪽으로 이동하였으며 근절은 13~14개였다(Fig. 3H). 수정 후 43시간 후에는 꼬리가 난황과 분리되면서 신장되기 시작하였으며, 근절은 24~25개로 늘어났다. 54시간 후에는 심장이 형성되면서 심장박동이 관찰되었고, 꼬리가 간헐적으로 움직이기 시작하였다(Fig. 3I). 수정 후 99시간 후에는 가슴지느러미가 형성되었고, 눈은 은색의

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

Developmental stage	Time after fertilization	Symbols In Fig. 3	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	

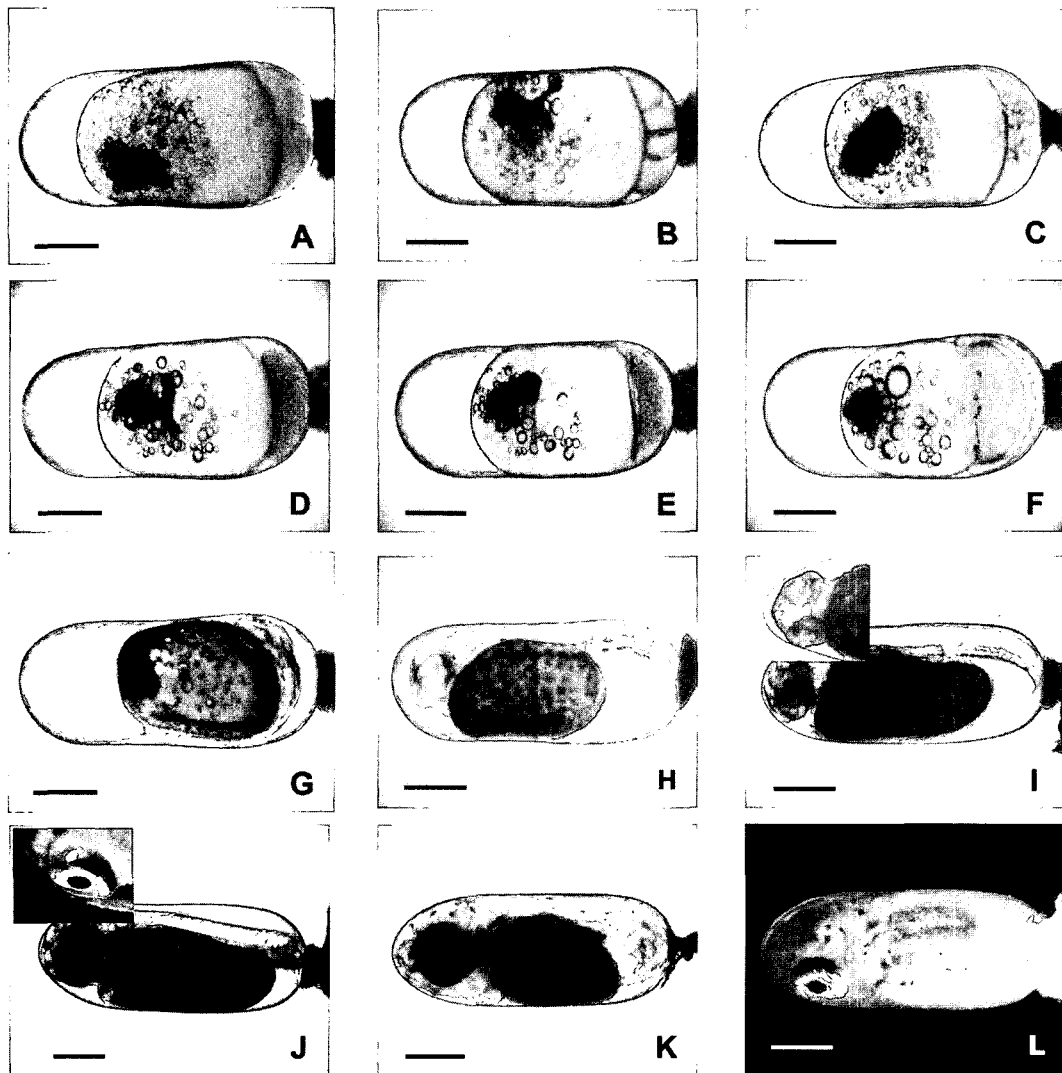
**Fig. 3.** Microscopic view of embryonic development of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*. A: 2 cell stage, B: 8 cell stage, C: 32 cell stage, D: Morula stage, E: Blastula stage, F: Gastrula stage, G: Early embryo formation, H: Lens and ear vesicle formation, I: Heart beat, J: Pectoral fin formation 99h, K and L: Embryo just before hatching. Scale bar=500 μ m.



Fig. 4. 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.

로 반짝이기 시작하였다(Fig. 3J). 수정 후 110시간 후에는 혈액의 움직임이 관찰되었고 근절 11~24마디 속에 황색소포가 나타났다. 수정 후 117시간에 첫 부화가 일어나기 시작하여 수정 후 143시간까지 12마리가 부화되었다. 수정 후 152~155시간(소동 후 1~3시간)에 대부분이 부화하여 부화율은 85.5%였다(Fig. 4A).

자치어 성장과 사육

부화자어(Fig. 4A, Fig. 5)는 전장이 4.58 ± 0.21 mm ($n=30$)로, 입과 항문이 열린 상태로 ~붉은 색의 타원형의 난황을 갖고 있었다. 난황의 장경은 0.47 ± 0.06 mm ($n=30$) 단경은 0.28 ± 0.02 mm ($n=30$)였다. 흑색색소체는 머리 부분과 항문 앞부분의 척추를 따라 분포하였고, 붉은색소포와 노란색소포는 척추를 따라 흑색색소체 옆에 하나씩 분포하였다. 근절수는 $7 \pm 1 \sim 17 \pm 1$ 개였다. 대부분의 부화자어는 수조의 중층과 상층에서 자유유영을 하였다.

부화 1일째 자어는 난황이 완전히 흡수된 상태로 rotifer를 활발히 섭식하기 시작하였으며, 흑색색소체는 크기가 커졌고, 수도 증가하였다. 붉은색소포와 노란색소포의 수도 증가하였으며 꼬

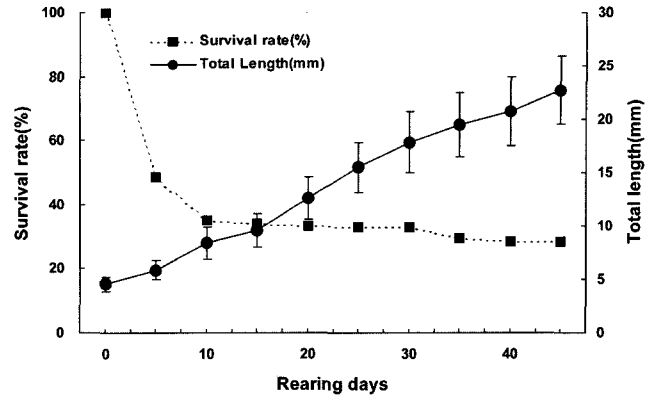


Fig. 5. Growth and survival rate from hatching to 45 days after hatching of saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus*.

리 척추가 위로 올라가는 만곡이 시작되었고, 전장은 4.90 ± 0.35 mm ($n=30$)였다. 아침에 수조의 저면에 상당수의 자어의 사체가 침강하여 있었고 시간이 경과하면서 수면으로 떠올라 분해되는 현상이 발견되었다. 부화 3일째(Fig. 4B)에 만곡이 완료되고, 지느러미를 제외한 머리와 몸통부분에 색소체가 나타났고, 전장은 5.72 ± 0.61 mm ($n=30$)로 성장하였다. 부화 후 5일째 자어(Fig. 4C)는 전장이 5.88 ± 0.31 mm ($n=30$)이고, 부화 직후의 *Artemia nauplius* 유생을 잘 포식하였으며, 지느러미가 완성되어 등지느러미는 X, 18, 뒷지느러미는 II, 12로 발달하였다. 그러나 부화 직후부터 계속된 나약한 개체들의 탈락이 일어나 이 시기까지 생존율은 48.6%로 떨어졌다.

부화 후 8일째에는 포식활동이 더욱 활발해지고 영양 강화한 *Artemia nauplii*를 과다하게 포식한 개체들이 집단적으로 바닥에 가라앉아 폐사하는 현상이 발생하여 물을 교환하면서 직접 에어호스를 이용하여 침전개체들을 부상시키는 동작을 반복하자 회복되는 경향을 보였다. 그리고 부화 8일째 자어(Fig. 4D)는 머리와 등에 동시에 band가 형성되는 변태가 시작되어 부화 11일째에는 95.0%이상의 개체에 머리와 등의 band가 나타났으나 등에 있는 band의 모양이 직선형이었다. 이때부터는 영양 강화 *Artemia nauplii*와 함께 *Tigriopus japonicus*를 활발히 포식하였으며 폐사개체가 거의 생기지 않았다. 부화 후 13일째(Fig. 4E)부터 꼬리에 하얀색 band가 나오기 시작하였고, 등 쪽 band의 모양이 말의 안장 모양으로 변해갔다. 이 시기의 자어들은 주변의 검정색 돌과 흰색 돌을 넣어 주었더니 흰색 돌보다는 검정색 돌 쪽에 군영 하는 현상을 보였다. 또한 유영 중에 다른 개체와 마주치면 이 종의 특유의 행동인 머리와 꼬리를 교대로 올렸다 내렸다하는 마치 흥을 돋우거나 상대를 위협하려는 듯한 행동을 반복하기 시작하였다. 부화 23일째에는 배합사료($400 \mu\text{m}$ 내외)에 먹이 붙임이 되었고 전장이 15.00 ± 2.12 mm로 성장하였으며 변태가 완료되어 머리, 등, 꼬리에 band가 선명해졌다. 부화 후 45일째(Fig. 4F) 치어는 전장이 22.76 ± 3.22 mm ($n=30$)이었고 이때 생존율은 28.4%이었다.

고 찰

Saddleback clownfish 어미들의 산란과 알을 보호하는 행동은 다른 clownfish나 자리돔과 어류들의 알을 보호하는 형태와 유사하였다. 자리돔과 어류는 산란 전에 산란기질에 붙은 이끼, 부착규조류 등과 같은 이물질을 제거하고, 주위에 있는 산호조각과 작은 돌멩이 등을 입을 이용하여거나 꼬리지느러미로 쳐서 다른 곳으로 옮긴다(Hoff, 1996; Stratton, 2000; Wilkerson, 1998). 이는 산란할 때 움직일 수 있는 공간을 확보하기 위한 행동으로 보고되고 있다(Hermdal, 2003.). 이 연구에서 산란장소를 준비하는 일에는 암컷이 적극성을 보였으며 자신의 몸보다 몇 배나 큰 PVC shelter를 옮기는 일이나 마음에 들지 않으면 몇 번이고 PVC shelter를 굴리는 힘은 놀라운 광경이었다.

산란 후의 알 관리는 암컷보다 수컷이 관리하는 시간이 길며, 포식자로부터 알을 지킨다. 어미들의 알 관리는 가슴지느러미의 날개 짓으로 알을 흔들리게 하여 알과 알 사이에 새로운 물과 산소를 공급한다. 그리고 입으로 난 발생 중에 죽은 알과 곰팡이나 세균에 감염된 알을 제거하여 더 이상 확산되는 것을 막는다(Moe, 1992; Wilkerson, 1998; Kim et al., 2001).

이 연구에서 saddleback clownfish의 수정란은 타원형으로 장경이 2.46 ± 0.13 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 작았고, *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). 침성점착란을 가진 해산어류의 수정란의 장경과 비교하면 연부자리돔 0.73~0.88 mm(Kim et al., 2001), 두줄망둑 1.40~1.58 mm(Kim and Han, 1990), 날개망둑 1.41~1.58 mm(Jin et al., 2003), 모치망둑 0.93~0.96 mm(Han and Kim, 1991), 쥐노래미 2.00~2.15 mm(Kim et al., 1993) 보다는 크지만, 딱지 2.28~2.36 mm(Kim et al., 1987)와는 비슷하고, 미끈날망둑 3.40~4.04 mm(Kim and Han, 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 것

으로 보고되고 있다(Hoff, 1996; 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 부화시기를 쉽게 예측할 수 있었다.

이 연구에서 saddleback clownfish의 부화 직후 자어 전장은 4.58 ± 0.21 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 컸다.

이 연구에서의 saddleback clownfish 부화 자어는 부화 후 23일째에 15.00 ± 2.12 mm, 부화 후 45일째에 22.76 ± 3.22 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 성장하였다고 보고 하였다. 이런 성장 차이는 중, 사육환경 그리고 사육 조건에 따른 차이에 의한 것으로 생각된다.

Muthuwan et al. (2001)은 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 48.6%로 감소하였고, 부화 후 8일째 첫 *Artemia nauplii* 공급시 자어들의 *Artemia nauplii* 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 자연에서는 표층에서 부유생활을 하던 자어들이 공생말미잘을 찾아 저면으로 내려가 집단인 한 구성원으로 자리를 잡는다(Hoff, 1992; Moe, 1992; 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 생활 하였다. 수조 저면에서도 에어스톤과 같은 물체의 근처에 자어들이 모이는데 수조의 구조물 중에서도 밝은 색보다는 어두운 색의 물체에 모이는 경향이 강하게 나타났다. 부화 후 11일에서 23일 사이 머리에 생기는 band가 모양을 갖추고 등에 생기

는 band는 직선적인 모양에서 말 안장모양으로 변하며 꼬리지느러미에도 하얀색 band가 나타났다. 이때부터 저면에서 유영하던 자어들은 수조의 중층으로 올라와 자유롭게 유영하기 시작하였다.

이 연구에서는 saddleback clownfish의 산란, 난발생, 자치어 발달과 성장을 조사하였는데 앞으로 연구에서는 어미들의 다회 산란을 위한 조건과 자치어 시기의 다양한 사육방법 및 생존율을 높일 수 있는 연구가 필요하다.

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, 산란과 난 발생 및 자치어의 성장과 사육에 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, 수육 32일째에 산란이 일어났다. 알은 타원형으로 알색은 선홍색이었고 침성점착란이었다. 수정란은 장경 2.46 ± 0.13 mm, 단경 0.96 ± 0.03 mm이었고, 수정률은 96.7%였다. 수정란의 발생은 수온 $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 1시간 40분에 2세포기, 5시간 40분후에는 상실기에 이르렀고 수정 후 23시간 후에는 배체를 형성하였다. 부화는 산란 7일째(수정 후 152~155시간) 소동 후 1~3시간 사이에 대부분이 일어났으며 부화율은 85.5%였다.

부화자치어의 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 전장 5.88 ± 0.31 mm, 생존율은 48.6%이었고 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 mm, 생존율은 28.4%였다.

사 사

이 연구는 한국해양수산개발원 수산특정과정제 및 제주대학교 해양과학대학 두뇌한국(BK) 21사업단의 지원에 의하여 수행하였습니다.

참고문헌

- 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*. Environm. Biol. Fish., 61, 73-83.
- 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.
- Han, K. H. and Y. U. Kim, 1991. Early Life History and Spawning Behavior of the Gobiid Fish, *Mugilogobius abei* Reared in the Laboratory. Kor. J. Ichthyol., 3, 1-10.
- Hemdal, J. F., 2003. Aquarium fish breeding. BARRON'S, pp. 128-130.
- Hoff, F. H., 1996. Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish. Aquaculture Consultants Inc., 212 pp.
- Jin, D. S., K. H. Han and J. W. Park, 2003. Spawning Behavior and Morphological Development of Larvae and Juvenile of the Naked-Headed Goby, *Favonigobius gymnauchen* (Bleeker), Bull. Kor. Fish. Soc., 36, 136-143.
- Kim, Y. U., Y. S. Park and J. G. Myoung, 1987. Development of Eggs, Larvae and Juveniles of Smooth Lumpsucker, *Aptocyclus ventricosus* (Pallas). Bull. Kor. Fish. Soc., 20, 157-165.
- Kim, Y. U. and K. H. Han, 1989. Eggs Development, Larvae and Juveniles of *Chaenogobius laevis* Bull. Korean Fish. Soc., 22, 317-331.
- Kim, Y. U. and K. H. Han, 1990. Early Life History and Spawning Behavior of the Gobiid Fish, *Tridentiger trigonocephalus* Reared in the Laboratory. Kor. J. Ichthyol., 2, 53-62.
- Kim, Y. U., K. H. Han and B. H. Kim, 1993. The Embryonic and Larval Development of the Greenling, *Hexagrammos otakii*, Kor. J. Ichthyol., 5, 151-159.
- Kim, Y. U., K. H. Han and J. W. Park, 2001. Male Parental Care, Egg and Larval Development of the Smoky Damselfish, *Chromis fumea*, Kor. J. Ichthyol., 13, 166-172.
- Moe, M. A., 1992. The marine aquarium handbook: beginner to breeder. Green Turtle Publications, 315 pp.
- Moyer, J. T. and R. C. Steene, 1979. Nesting Behavior of the Anemonefish *Amphiprion polymnus*. Jap. J. Ichthyol., 26, 209-214.
- Muthuwan, V., S. Sawatpeera, N. Luang-Oon, S. Munkongsomboon and A. Chomrung, 2001. Breeding and Larval Rearing of the Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linnaeus. Marine Ornamentals 2001, pp. 72.
- Rho, S., Y. U. Choi, J. S. Kim, Y. S. Yoon, M. M. Jung and S. I. Hwang, 2004 a. Studies on spawning and hatching of Maroon clownfish, *Premnas biaculatus*. Jap. Soc. for Aquacult. Res. Kor. Aquacult. Soc., pp. 14-15.
- Rho, S., Y. U. Choi, J. S. Kim, Y. S. Yoon, M. M. Jung and S. I. Hwang, 2004 b. Growth and survival of Maroon clownfish, *Premnas biaculatus* larvae. Jap. Soc. for Aquacult. Res. Kor. Aquacult. Soc., pp. 39-40.
- Sawatpeera, S., V. Muthuwan, P. Songchang and N. Keawgunha,

2001. The Developmental Stages of the Saddleback Anemonefish, *Amphiprion polymnus* Linnaeus. Marine Ornamentals 2001, pp. 81.
- Stratton, R. F., 2000. Clownfishes (Anemonefishes): Care, Feeding and Breeding Identifying the Clownfish Species Clownfishes and Anemones. T. F. H. Publications Inc., pp. 64.
- Wilkerson, J. D., 1998. Clownfishes: A Guide to their Captive Care, Breeding & Natural History. T. F. H. Publications Inc., 240 pp.
- Yu, J. M. and S. M. Lee, 1995. Marine fishes around Cheju island. jeju, 248 pp.
- 鈴木克美, 高松史朗, 1989. 海水魚の繁殖. 緑書房, 49-71 pp.
-
- 원고접수 : 2005년 2월 24일
수정본 수리 : 2005년 3월 30일