

## Red and Black Clownfish *Amphiprion melanopus*의 산란, 부화 및 자어성장

김숙리, 허성범<sup>1\*</sup>

부산광역시 과학교육원, <sup>1</sup>부경대학교 양식학과

### Spawning, Hatching and Larval Growth of Red and Black Clownfish *Amphiprion melanopus*

Suk-Ree Kim, Sung Bum Hur<sup>1\*</sup>

Busan Institute of Science Education, Busan 611-089, Korea

<sup>1</sup>Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

We studied spawning, hatching and larval growth of *Amphiprion melanopus* under laboratory conditions. Each time a fish spawned about 440 to 650 eggs. The eggs were hatched 9 days later. Nest colour of the eggs changed from clear yellow orange to greyish violet with processing of embryogenesis. With regard to spawning according to the substrates, the fish preferred red clay pot and ceramic pot to volcanic scoria and live rock. Hatching rate (%) of the eggs on the former substrates was significantly higher than that on the latter. The number of eggs varied with the food stuff supplied to the fish. The fish fed Tetra bits (commercial diet), meat of short necked clams and mussels, and astaxanthin showed significantly higher fecundity with 638 eggs than that fed only Tetra bits (477 eggs) or Tetra bits with meat of shellfish without astaxanthin (549~553 eggs). Higher temperature ranging from 24 to 30°C induced shorter incubation period and smaller total length, but higher hatching rate. The optimum salinity and L:D cycle with 60  $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$  for hatching were 33 psu and 16:8, respectively. The newly hatched larvae about 4.6 mm in total length grew to 7.5 mm in one week, 18.8 mm in a month and 37.9 mm in 70 days after hatching.

**Keywords:** Red and Black Clownfish, *Amphiprion melanopus*, Spawning, Hatching, Substrates

## 서 론

생활수준의 향상과 국제 교역의 증대로 수족관용 해수관상어 수요는 해마다 증가하고 있다. 담수 관상어는 90% 이상이 양식(Dawes, 1998)된 것과는 달리, 거의 모든 관상용 해수어류는 1990년대 말까지 자연에서 생포된 것이었으며, 2000년대 초반에는 1%만이 양식되어 거래되고 있다(Tissot and Hallacher, 2003). 현재 열대 관상어로 취급되는 800여종의 해수어종 중 100여 종이 시장에서 거래되고 있으며, 이 중 21종 정도가 상업적으로 양식되고 있다(Schiemer, 2001).

Clownfish 혹은 anemonefish로 알려진 *Amphiprion*속의 *A. melanopus*는 조기어강(Actinopterygii) 농어목(Perciformes) 자리돔과(Pomacentridae)에 속하는 어종으로 *Amphiprion*속에서 27종이 보고되어 있다(Froese and Pauly, 2007). 주된 서식지는 10N° 부근의 Indonesia 북쪽에서 30S° 부근의 Australia Great Barrier

Reef까지이다(Green, 2004). 이 종은 말미잘류 *Entacmaea quadricolor*와 공생하며(Arvedlund et al., 1999), 응성선속 자웅동체(protandrous hermaphrodites)로, 수컷보다 암컷이 크다. 가계는 보통 3마리로 형성되는데 암컷은 가장 큰 개체로 서열이 제일 앞선 개체이고, 그 다음 개체가 수컷이며 가장 작은 개체가 미성숙 단계의 예비개체이다. 암컷 또는 수컷이 부재 시 서열이 한 단계씩 상승, 성 전환하여 번식 가능한 가계를 유지한다(Nelson et al., 1996). 체장은 15 cm 이하로 작고 공격적이다. 한 무리의 가족을 만들어 세력권을 형성하는 습성이 있으며, 입과 가슴지느러미로 알을 보호하는 행동이 특이하다(Fenner, 1998).

*A. melanopus*에 대한 연구로는 먹이공급 방법이 유생의 변태에 미치는 영향(Green and McCormick, 1999), 먹이가 후기유생의 유영능력에 미치는 영향(Fisher and Bellwood, 2001), 산소소비와 배(embryo)발생(Green, 2004), 온도가 유생의 성장과 유영속도에 미치는 영향(Green and Fisher, 2004), clutch내에서 알의 위치에 따른 부화자어의 크기(Green et al., 2005) 등이 있다.

한국에는 *A. clarkii* 흰동가리 한 종만이 제주 근해에 서식한

\*Corresponding author: hurs@pknu.ac.kr

다(Yu and Lee, 1995). *Amphiprion*속에 대한 국내에서의 연구로는 saddleback clownfish *A. polymus*의 산란과 난발생 및 자치어 사육에 관한 연구(Yoon et al., 2005)가 있으며, 속은 다르지만 이 종과 유사한 maroon clownfish *Premnas biaculeatus*의 산란습성과 난발생 및 자치어의 외부형태 발달에 관한 연구(Kim et al., 2007)가 있을 뿐, *A. melanopus*에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다. 따라서 본 논문은 관상가치와 생물교재로서 이용도가 높은 *A. melanopus*의 산란, 부화 및 자어성장을 조사하여 인공종묘생산의 기초자료로 활용하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 산란

실험에 사용된 친어는 Indonesia Bali섬(평균수온 23~30°C) 부근에서 채집된 것으로 열대어 수입상을 통하여 구입하였다. 2004년 1월 20일에 810 L의 순환여과식 아크릴사각수조(1800×600×750 mm)에 *A. melanopus* 친어 후보군 6마리(전장 54~90 mm)와 말미잘 *Entacmaea* sp. 7마리(평균직경 80±3.0 mm)를 혼합 사육하였다. 사육조건은 수온 28±0.5°C, 염분 33 psu, 조도 10 μmol photon m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 광주기 12L:12D로 설정하였다. 사육기간 중 암모니아는 0~0.01 mg/L, pH는 8.1~8.2였고 환수량은 17회/일로 하였다. 여과재로 live rock과 산호사를 이용하였고 용존유기물을 제거하기 위해 직접 제작한 protein skimmer를 이용하였다. 사육수는 질병예방을 위해서 인공해수염(Instant Ocean Co., USA)을 사용하였으며, 먹이는 바지락 육질과 시판용 인공배합사료 Tetra bits (Tetra Co., USA)를 섞어서 1일 60 g을 한번에 20 g씩 3회로 나누어 공급하였다. 짝짓기 과정과 산란습성은 비디오 촬영자료와 육안으로 관찰하였다. 산란량 조사는 사란수와 부화수를 합하여 계산하였다.

### 난발생

친어수조에서 산란하여 부착된 알을 유리 스포이드를 사용하여 매일 10개씩 샘플링하여 난발생 과정을 조사하였다. 발생 과정은 현미경(Nikon Diaphot, Japan)에 부착된 디지털 카메라(Nikon D2H, Japan)로 3~5회 촬영한 후 형태를 사진으로 정밀 분석하고 실물을 현미경으로 보면서 관찰한 것과 비교 분석하여 자료화 하였다. 형태 관찰은 배내에서 체강구조의 발달과 회전 형태를 조사하였다. 수정란의 장경과 단경의 측정 및 자어의 전장은 현미경에 부착된 마이크로메타를 이용하여 50개체의 평균값을 구하였다. 심장 박동수는 매일 오전 11시에 10개체씩 샘플링하여 분당 박동수를 조사하였다.

### 산란기질에 따른 산란과 부화

점착난의 부착기질로는 산란소의 재질에 따른 선호도를 조사하기 위하여 장경 20 cm 단경 12 cm의 타원형의 red clay pot, ceramic pot, volcanic scoria, live lock을 수조바닥에 두어 4가

지 산란상에 대한 선택성과 산란량, 산란간격, 탈락개체수, 부착률 및 부화율을 3회 반복 조사하였다. 산란량은 한 clutch내의 알들을 디지털 카메라로 촬영하여 계산하였다(Rana, 1985).

산란상에 대한 선택성은 부착률이 좋은 기질을 1개씩 순차적으로 제거하여 부착기질에 대한 선호도를 3회 반복 조사하였다. 산란간격은 한번의 산란에서 다음 산란할 때 까지 걸리는 시간(Coward and Bromage, 1999)으로 하였으며, 탈락 개체수는 산란 후 1일의 총 부착난수에서 산란후 5일째의 부착난수를 제한 것으로 산정하였다.

### 먹이종류에 따른 산란 및 부화

친어에 공급하는 먹이는 ①: Tetra bits (100%), ②: ① (50%)+바지락 육질(50%), ③: ② (50%)+진주담치 육질(50%), ④: ③ (99%)+astaxanthin (1%첨가)의 네가지 실험구로 나누어 60 g의 먹이를 하루에 3회로 나누어 공급하면서 먹이종류별 산란량과 부화율을 5회 반복 조사하였다. 이때 사육수조의 환경조건은 28±0.5°C, 33 psu, 10 μmol photon m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 12L:12D로 하였다.

### 환경조건에 따른 부화

수온, 염분, 광주기에 대한 알이 부화할 때까지의 소요되는 시간과 부화율을 조사하였다. 수온별 실험은 자체 제작한 항온수조(800(L)×500(W)×500(D) mm)를 이용하여 24, 26, 28 및 30°C로 설정하였다. 산란하여 부착된 수정란을 1시간 이내에 직경 0.4 mm의 끝이 부드러운 유리 스포이드로 50개체씩을 떼어 내어 1 L 유리 비이커(인공해수 33 psu, 800 mL)에 수용하였다. 비이커의 사육수는 24°C, 26°C, 28°C 및 30°C의 각 구간별로 약하게 폭기 시키면서 부화할 때까지 매일 10%씩 환수하며 부화일수와 부화율을 관찰하였다. 실험은 3반복 실시하였다.

염분별 실험은 수온을 28°C로 조절하고, 염분은 salinometer (SM-2000, USA)를 이용하여 29, 31, 33, 35 psu로 증류수와 인공해수염을 이용하여 조절하였다. 그 외 실험방법은 수온 실험에서와 동일하였다.

광주기별 실험은 수온 실험에서와 동일한 방법으로 수온과 염분을 28°C와 33 psu로 조절한 후 6 μmol photon m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>의 조도로 광주기는(L:D cycle) 24:0, 18:6, 12:12, 6:18, 0:24로 구분하였다. 그 외 실험 방법은 수온 실험에서와 동일하였다.

### 자어성장

부화 하루 전인 산란 8일째에 어미사육수조에서 산란된 알을 떼어 100 L의 부화수조(500×450×450 mm)로 옮겼다. 조명장치를 소등한 후 오후부터 부화되기 시작하였으며, 부화되어 나오는 자어는 뜰채와 비이커를 이용하여 유생사육수조로 옮겼다. 부화수조의 수질과 환경조건은 친어수조와 동일하게 하였다.

자어사육에 사용된 미세조류 *Nannochloris oculata* (KMMCC C-31)와 *Isochrysis galbana* (KMMCC H-2)는 부경대학교 양식학과 한국해양미세조류은행으로부터 분양받은 것으로 f/2배

지, 33 psu, 23°C, 60  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 광주기 12L:12D 조건에서 20 L 원형플라스틱수조에 배양하였다. 먹이공급방법은 *N. oculata*와 *I. galbana*를 세포수 1:1의 비율로 혼합하여  $1 \times 10^4$  cells/mL의 농도로 자어수조를 green water로 조성한 후, 부화 2일째부터 5일째까지는 rotifer를 15~20개체/mL 공급하였다. 부화 3일째부터 30일째까지는 *Artemia nauplii* (Great Salt Lake, USA)를 3~5개체/mL 공급하였다. 부화 10일째부터는 미립자 200~400  $\mu\text{m}$  크기의 배합사료(이화유지공업)를 *Artemia nauplii*와 혼합 공급하였다. 이때 배합사료는 먹이중량을 기준으로 약 30%부터 공급하다가 31일째부터는 배합사료만으로 사육하였으며, 70일 이후에는 Tetra bits를 입 크기에 맞게 만복 상태로 공급하였다. 사육수는 매일 20~30% 정도를 환수하면서 수조 벽면과 바닥의 찌꺼기를 제거하였으며 70일 이후에는 한달에 한번 20~30% 정도 환수하였다. 자치어의 변태과정은 앞에서 이용한 현미경과 디지털카메라를 이용하여 관찰하였다. 자어의 성장은 부화 후 21일까지는 7일 간격으로 20~50마리, 그 이후에는 5마리씩을 무작위로 추출하여 전장을 측정하였다.

**통계분석**

실험구별 평균값의 통계처리는 SPSS (Version 11) 통계패키지를 이용하여 one-way ANOVA test (Duncan's test)로 5% 수

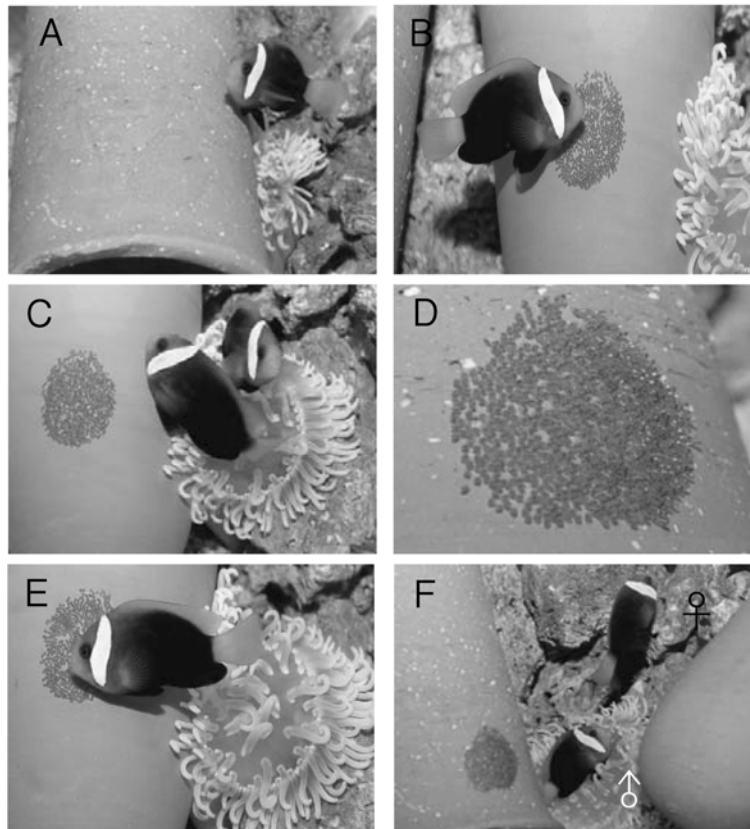
준의 유의성을 조사하였다.

**결 과**

**산란**

육안으로 관찰한 친어의 산란행동은 산란하기 3~4일 혹은 1~2일 전에 수컷이 주로 입으로 붙어서 산란터에 있는 조류나 이물질들을 깨끗하게 청소하기 시작하였다. 산란이 임박해 질수록 암컷은 먹이를 적게 먹었으며, 수컷은 평소보다 왕성한 식욕을 보였다. 산란이 임박했을 때 암수 모두 수란관이 총배설강과 뒷지느러미 사이로 2~3 mm 짧게 나왔다. 산란관으로부터 나오는 알을 산란기질에 밀착시켜 한번에 15~20개 (17±1개, n=10)씩 부착시켰으며 곧이어 수컷이 암컷의 산란과 동시에 암컷주위를 회전하며 알을 수정시키는 행동을 하였다.

산란 직후의 수정란은 장경 2.15~2.60 mm (2.32±0.11 mm, n=50), 단경 0.94~0.96 mm (0.94±0.01 mm, n=50)의 타원형이며 유백색으로 유구를 많이 가진 상태로 난막에 쌓여 배체의 동물극 쪽이 부착사에 의해 산란기질에 부착되었다(Fig. 1A). 산란 3일째에 알은 연한 보라색(Fig. 1B), 산란 5~6일째에는 진한 보라색으로 변해 부화가 가까워질수록 색이 더 진해졌다(Fig. 1C). 부화 직전의 산란 8일째 수정란은 육안으로 눈과 안막의 반짝



**Fig. 1.** Spawning ecology of *Amphiprion melanopus*. A: newly spawned eggs in white yellowish, B: eggs on 3 days after spawning (DAS) in light violet, C: eggs on 6 DAS in dark violet, D: eggs with eye spot on 8 DAS in bright shiny silver, E: mouth brooding of male, F: nest caring of adults.

거림과 난황이 관찰 되었으며(Fig. 1D) egg sac이 저절로 꿈틀 거리는 움직임이 나타났다.

수컷은 수정란이 부화할 때까지 산소공급과 부니가 붙지 않게 입으로 불고 지느러미로 물살을 일으키는 행동을 하였으며(Fig. 1E), 이 과정에서 상태가 좋지 않은 알은 골라내어 떼어 먹는 것이 관찰되었다. 암컷은 수컷이 수정란을 보호하는 동안 멀리 떨어져서 다른 개체들이 접근하지 못하도록 하는 행동을 하였다(Fig. 1F).

수조입식부터 첫 산란까지는 90일이 소요되었으며 2004년 4월 19일에 volcanic scoria에 첫 산란을 시작으로 하여 2007년 4월 16일까지 총 48번의 산란을 하였다. 산란간격은 6회차까지는 일정한 주기성을 나타내었지만, 수족관 대청소로 인하여 6회와 7회의 산란간격은 393일로 나타났다. 그 이후에도 먹이 종류와 산란상의 종류에 따라 산란간격과 산란수가 다르게 나타났다.

#### 난발생과정과 심장박동수

산란 후 1일부터 8일까지의 배발생의 단계별 특징은 Fig. 2와 같다. 수정 후 2시간 이내에 2, 4, 8세포기까지 난황이 진행되었으며, 16, 32, 64세포기를 거쳐 상실기, 포배기, 낭배기로 발생이 진행되었다(Fig. 2A~H). 2일째에는 낭배가 완성이 되고 동물극 쪽에 체절이 형성되었으며 꼬리부분에 색소가 나타나기 시작하였고(Fig. 2I), 아직 완전히 발달하지 않은 머리와 몸통을

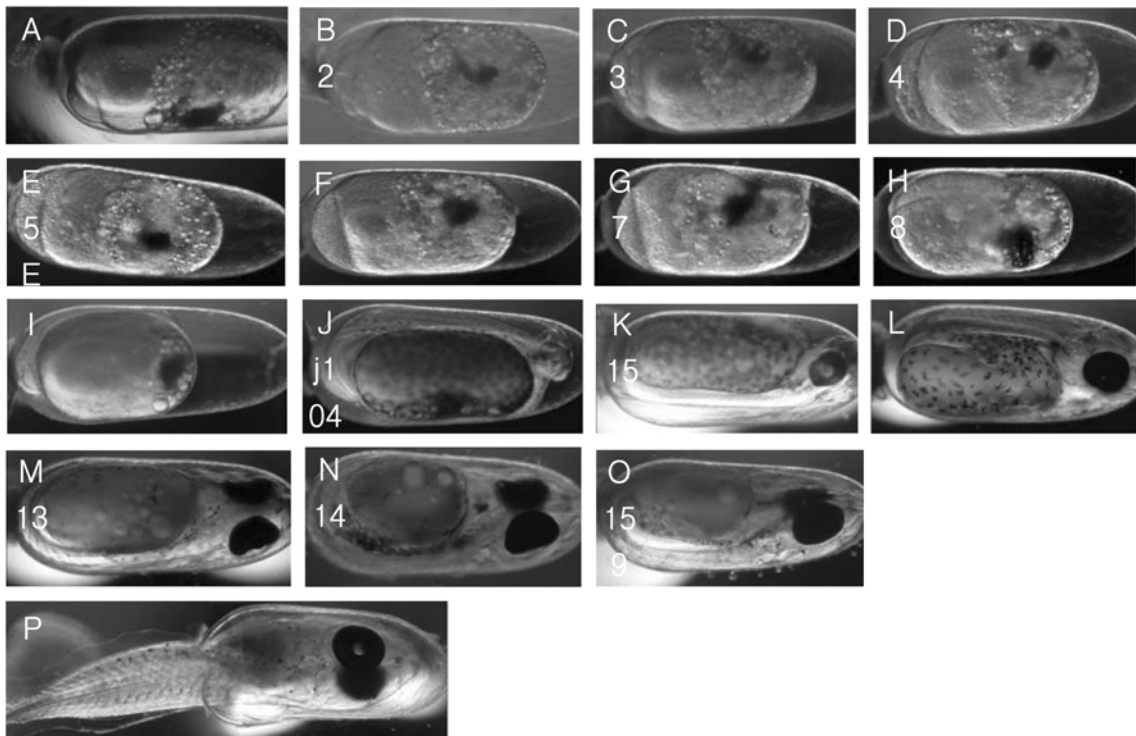
가진 배로써 형태발생이 시작되었다. 3일째에는 몸통체절이 완전히 형성되고 꼬리의 규칙적인 움직임, 눈의 색소 침착, 색깔이 없는 혈액의 움직임, 심장박동 등이 관찰되었으며, 배가 반대방향으로 회전하여 머리가 부착사가 붙어있지 않은 식물극 쪽으로 위치하였다(Fig. 2J).

4일째에는 주요 순환계가 관찰되었으며(Fig. 2K), 심장박동수는 3일째에 비해 더욱 활발하였다. 5일째에는 미세혈관, 가슴지느러미가 관찰되었다(Fig. 2L). 6일째에는 미성숙 턱과 아가미갈퀴, 가슴지느러미의 연조 등이 나타났다(Fig. 2M). 7일째에는 아가미로 턱을 움직이기 시작했고(Fig. 2N), 8일째에는 난주머니가 저절로 움직여 난막을 뚫고 나올 준비가 다 되었음을 알 수 있었다(Fig. 2O). 9일째는 평균전장  $4.6 \pm 0.14$  mm의 자어로 부화하였다(Fig. 2P).

알의 심장박동은 수정후 3일째부터 시작되었으며 분당 박동수는 3~4일에는 117~118회였다. 그러나 산란 5일째 분당 심장박동수는  $168 \pm 1.9$ 로 크게 증가하여 알의 산소 소비가 많아짐을 알 수 있었다. 5일 이후부터 부화시까지의 심장 박동수는 167~168회로 일정하였다.

#### 산란기질에 따른 산란과 부화

처음 4가지 산란기질에 대한 선호도 조사결과 3회반복 실험 모두 red clay pot에 우선적으로 수정란을 부착시켰으며 부착률은 97.8%였다. Red clay pot를 제거시킨 나머지 부착기질에 대



**Fig. 2.** Embryogenesis of *Amphiprion melanopus* ( $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 33 psu). A: 4 cell stage, B: 8 cell stage, C: 16 cell stage, D: 32 cell stage, E: 64 cell stage, F: morula stage, G: blastula stage, H: gastrula stage, I: 2 days after spawning(DAS), J: 3 DAS, K: 4 DAS, L: 5 DAS, M: 6 DAS, N: 7 DAS, O: 8 DAS, P: newly hatched larva. DAS: days after spawning.

**Table 1.** Spawning of *Amphiprion melanopus* on different spawning substrates

Substrate	Date of spawning	SI (days)	No. of eggs	Adhesion (%)	Hatching (%)
Red clay pot	Oct. 14 and 26, Nov. 5, 2006	12.0±1.00 <sup>bc</sup>	551.0±5.29 <sup>a</sup>	97.8±0.13 <sup>a</sup>	66.3±6.02 <sup>a</sup>
Ceramic pot	Nov. 27, Dec. 8 and 19, 2006	11.7±0.58 <sup>c</sup>	550.7±4.04 <sup>a</sup>	97.6±0.36 <sup>a</sup>	62.9±4.53 <sup>a</sup>
Volcanic scoria	Jan. 4, 17 and 30, 2007	14.3±2.31 <sup>ab</sup>	497.3±5.51 <sup>b</sup>	94.3±0.77 <sup>b</sup>	35.9±4.59 <sup>b</sup>
Live rock	Feb. 15, Mar. 2 and 17, 2007	15.3±0.58 <sup>a</sup>	479.3±4.04 <sup>c</sup>	94.1±0.72 <sup>b</sup>	34.3±0.60 <sup>b</sup>

SI: Spawning interval.

Different letters in the same column mean significant difference at 5% level.

한 선택성은 ceramic pot > volcanic scoria > live rock 순으로 나타났다. 각 부착기질에 대한 산란량, 탈락개체수, 부착률 및 부화율은 Table 1과 같다. 4종류의 부착기질에 대한 산란량은 red clay pot와 ceramic pot에서는 551개로 서로 같게 나타났으나 volcanic scoria (497개)와 live rock (479개) 보다는 유의적으로 높았다( $P < 0.05$ ).

부착률과 부화율에서도 모두 red clay pot와 ceramic pot는 다른 두 기질보다 유의적으로 높았다( $P < 0.05$ ). Volcanic scoria와 live rock은 산란간격 일수에 있어서도 14~15일로 ceramic pot와 red clay pot의 11~12일에 비해 늦은 결과를 보였다. 부화율은 red clay pot와 ceramic pot에서는 62~66%로 서로 유의적인 차이가 없었으나, volcanic scoria와 live rock에서의 34~35%보다는 유의적으로 높은 부화율을 보였다( $P < 0.05$ ).

**먹이종류에 따른 산란**

Tetra bits, 바지락, 진주담치, astaxanthin을 이용한 4개의 먹이 조성에 따른 어미의 산란량 변화는 Table 2와 같다. 상업용 사료인 Tetra bits만을 먹인 것은 평균산란량은 477개로 가장 적었으며 Tetra bits+바지락 육질+진주담치 육질+astaxanthin을 혼합한 먹이는 638개의 알을 산란해 실험구중 유의적으로 가장 많았다. Tetra bits+바지락 육질과 Tetra bits+바지락 육질+진주담치 육질의 실험구사이에는 유의적인 차이가 없었

**Table 2.** Number of eggs of *Amphiprion melanopus* fed different food stuff

Food stuff				
1	2	3	4	
477.0 ± 28.96 <sup>c</sup>	553 ± 12.04 <sup>b</sup>	549.0 ± 47.82 <sup>b</sup>	638.0 ± 16.05 <sup>a</sup>	

1: Commercial diet (Tetra bits), 2: 1 (50%) + meat of short necked clam (50%), 3: 2 (50%) + meat of mussel (50%), 4: 3 added with astaxanthin (1% of total weight).

Different letters mean significant difference at 5% level.

나 Tetra bits만을 100% 공급한 실험구보다는 유의적으로 높은 산란수를 보였다( $P < 0.05$ ). 또 astaxanthin을 1% 첨가한 사료를 먹인 개체에서는 첨가하지 않은 것보다 알의 색깔이 진한 보라색으로 나타났다.

**환경조건에 따른 부화**

갯 부화한 자어의 전장은 3.7 mm~4.75 mm (평균 4.6±0.14 mm, n=50)로 입과 항문은 열려 있었으며, 눈과 장 주변에는 노랗고 어두운 많은 색소가 침착되어 있었다. 초기 발생단계에 배내에서 머리부분은 부착사가 붙어있는 난막의 끝쪽에 위치한다. 그러나 부화할 때가 되면 난막 내에서 회전하여 머리가 부착사가 붙어있지 않은 쪽으로 가 있다. 부화할 때 꼬리를 앞쪽으로 내밀어서 부착사가 붙어있지 않은 쪽의 난막을 깨뜨리면서 나왔다. 머리에 난막의 끝부분이 걸려있는 현상도 간혹 볼 수 있었다.

24, 26, 28, 30°C에서 부화시킨 알의 부화일수, 부화율 및 부화자어의 전장은 Table 3과 같다. 부화율은 24°C에서 40%로 가장 낮았고 30°C에서는 70%로 가장 높았으며 온도가 높을수록 유의적으로 높았다. 그러나 부화기간은 24°C에서 12일, 30°C에서 7일로 온도가 높을수록 짧아지는 경향을 보였다. 부화자어의 전장은 부화온도가 높을수록 작아지는 경향이었으나 24°C부터 28°C까지는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

염분별 실험에서는 33 psu에서 66%의 부화율로 29, 31 psu 보다는 유의적으로 높았으나 35 psu와는 차이가 없었다. 또 부화자어의 전장은 염분이 높을수록 작아지는 경향이었으나 염분 29와 35 psu 사이에서만 유의적인 차이를 보였다( $P < 0.05$ , Table 4).

광주기 실험에서 부화율은 24L:0D에서 19.3%로 가장 낮았고, 6L:18D에서 63%로 가장 높았다. 부화일수에 있어서도 24L:0D부터 6L:18D까지는 암기간이 길어질수록 단축되는 경향이었으나 24L:0D에서는 오히려 12L:12D나 6L:18D에 비해 늦어지는 경향을 보였다. 부화자어의 전장에서도 암기간이 18

**Table 3.** Effect of water temperature on the time required to hatching after spawning, hatching and length of newly hatched larvae of *Amphiprion melanopus*

	Temperature (°C)			
	24	26	28	30
Incubation period (days)	12.0 ± 1.29 <sup>a</sup>	10.0 ± 1.29 <sup>b</sup>	9.0 ± 1.29 <sup>c</sup>	7.0 ± 1.29 <sup>d</sup>
Hatching (%)	40.0 ± 2.00 <sup>d</sup>	55.3 ± 1.15 <sup>c</sup>	66.0 ± 2.00 <sup>b</sup>	70.0 ± 2.00 <sup>a</sup>
Total length (mm)	4.4 ± 0.24 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.27 <sup>a</sup>	4.23 ± 0.27 <sup>a</sup>	3.9 ± 0.11 <sup>b</sup>

Different letters in the same row mean significant difference at 5% level.

**Table 4.** Effect of salinity on the time required to hatching after sapawning, hatching and length of newly hatched larvae of *Amphiprion melanopus*

	Salinity (psu)			
	29	31	33	35
Incubation period (days)	10.0 ± 1.58 <sup>a</sup>	9.0 ± 1.29 <sup>b</sup>	9.0 ± 1.29 <sup>b</sup>	9.0 ± 1.00 <sup>b</sup>
Hatching (%)	58.0 ± 2.00 <sup>b</sup>	59.3 ± 1.15 <sup>b</sup>	66.0 ± 2.00 <sup>a</sup>	63.3 ± 1.15 <sup>a</sup>
Total length (mm)	4.4 ± 0.15 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.21 <sup>ab</sup>	4.2 ± 0.28 <sup>ab</sup>	4.1 ± 0.19 <sup>b</sup>

Different letters in the same row mean significant difference at 5% level.

**Table 5.** Effect of photoperiod on the time required to hatching after sapawning, hatching and length of newly hatched larvae of *Amphiprion melanopus*

	L:D cycle				
	24:0	18:6	12:12	6:18	0:24
Incubation period (days)	11.0 ± 1.00 <sup>a</sup>	10.0 ± 1.29 <sup>b</sup>	9.0 ± 1.29 <sup>c</sup>	9.0 ± 1.29 <sup>c</sup>	10.0 ± 1.29 <sup>b</sup>
Hatching (%)	19.3 ± 1.15 <sup>e</sup>	29.3 ± 1.15 <sup>d</sup>	50.7 ± 1.15 <sup>b</sup>	63.3 ± 1.15 <sup>a</sup>	40.7 ± 1.15 <sup>c</sup>
Total length (mm)	4.0 ± 0.19 <sup>c</sup>	4.07 ± 0.15 <sup>bc</sup>	4.1 ± 0.13 <sup>ab</sup>	4.2 ± 0.15 <sup>a</sup>	4.0 ± 0.09 <sup>c</sup>

Different letters in the same row mean significant difference at 5% level.

시간 까지는 암기간이 길수록 큰 경향을 보였으나 연속 암기간에서는 4.0 mm로 작아지는 결과를 보였다(Table 5).

### 자어성장

부화 자어의 성장은 부화 직후부터 7일째까지는 4.6 ± 0.14 mm~7.5 ± 0.60 mm였다. 부화 8일부터 14일까지는 8.1 ± 0.60 ~11.0 ± 0.77 mm, 부화 21일에는 12.4 ± 0.85 mm, 부화 30일에는 18.8 ± 0.82 mm, 부화 46일에는 22.9 ± 1.36 mm, 부화 70일에는 37.9 ± 2.26 mm, 부화 120일에는 40.1 ± 2.41 mm, 부화 240일에는 47.3 ± 4.17 mm, 부화 360일에는 53.7 ± 6.00 mm로 성장하였다(Fig. 3).

부화 자어는 부화 1일째와 2일째는 수조바닥에서 거의 움직이지 않아서 수조바닥 가까이의 벽면에 머리를 꼬리보다 높여서 수조벽면에 맞대이는 head banging 현상을 나타내었다. 부화 3~4일째에는 먹이가 눈앞에 오면 몸을 S자형으로 하여 먹이를 향하여 빠른 속도로 수영하는 것이 관찰되었으며, 5~6일째에는 꼬리의 빠른 움직임이 관찰되었다. 부화후 7~15일에는 수조 윗부분에서 수영하였으며, 16일 전후에서는 수조바닥으로 내려가 거의 완벽한 어미의 특징을 갖추어 변태가 거의

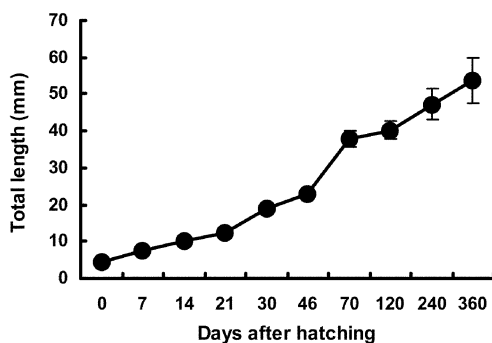
완료됨을 알 수 있었다.

*A. melanopus* 성체는 머리에 한개의 띠(head bar)만 있지만, 어린개체는 머리, 몸, 꼬리에 3개의 띠가 있다. 부화후 7~11일 사이에 머리부분에 불분명한 흰색의 띠가 나타나는 것을 시작으로 어미와 같은 모양으로의 변태가 시작되었다. 부화 9~12일 경에는 몸통에, 12~18일경에는 꼬리에 불투명한 띠가 나타나기 시작하였다. 그러나 50~55일경에는 꼬리지느러미의 띠가 사라지기 시작하여 65~70일경에는 완전히 사라졌다. 몸통 부위의 띠는 65~70일경에 사라지기 시작하여 70일 이후에는 완전히 사라졌고 머리의 띠만 남았다.

### 고찰

자연상태에서 clownfish 종들의 산란횟수와 산란주기는 위도에 따라서 변화한다(Gordon and Bok, 2001). 열대해역에서는 연중 산란(Allen, 1972; Ross, 1978)하는 반면, 온대해역에서는 더운 여름 동안에만 일어난다(Bell, 1976; Moyer, 1980; Ochi, 1985; Richardson et al., 1997). 또 열대지방에서의 산란주기는 달의 주기와 강한 연관성이 있으며 자연상태에서 *A. melanopus*의 산란은 반달일때 peak로 알려져 왔다(Allen, 1972; Ross, 1978). 그러나 온대지방에서는 산란주기와 달주기의 관계는 약한 것으로 알려져 있다(Richardson et al., 1997).

환경조건이 조절되는 수족관에서는 자연상태에서처럼 번식주기를 조절하는 환경적인 단서가 거의 없거나 약하다. 그 결과 물고기는 인위적으로 조절된 온도와 명암주기, 빛의 밝기에 의해 산란행위가 변화한다(Kohler et al., 1994). 수족관에서 clownfish는 연중 산란하고(Alava and Gomes, 1989), 달주기와 산란주기의 상관관계는 없다고 하였다(Hoff, 1996). 본 연구에서는 *A. melanopus*의 한 달 평균 산란횟수는 먹이, 산란기질 및 수족관 대청소등의 영향으로 일정한 경향을 보이지 않았

**Fig. 3.** Growth of *Amphiprion melanopus* from hatching for 360 days.

으며 달주기와도 상관관계가 없었다.

저층에 서식하며 점착성 부착란을 산란하는 clownfish는 선호하는 종류의 산란기질이 있는 것으로 알려져 있다(Hoff, 1996). 같은 자리돔과에 속하는 damselfish *Chrysiptera cyanea*의 경우도 부착기질에 따라 부착률이나 부화율이 달라진다고 보고되어 있다(Greathouse and Moe, 2005). 부착성 알을 산란하는 종들에게 있어 부착기질로서의 산란상은 아주 중요한 요소로 작용한다. 산란상이나 수류와 같은 환경적인 요소가 마지막 성숙에 이르는 내분비물질을 분비하는 결정적인 역할인자로 작용(Ito et al., 2003)하며, 산란상이 난발생과 생존률, 번식의 성공여부에도 영향을 미친다(Munro et al., 1997; Zorn et al., 1998). 한편, Greathouse and Moe (2005)에 의하면 damselfish들은 산란상에 대한 선택성은 별 차이를 나타내지 않았지만 산란상의 종류에 따라서 부착률과 생존율은 다르게 나타난다고 하였다.

구애행동을 하는 clownfish에게 있어 산란상의 선택은 중요한 문제이다. 본 실험에서 live rock이 부착기질로서의 선택성이 가장 낮은 이유는 울퉁불퉁한 표면 때문으로 생각된다. 이와 같은 불규칙적인 live rock의 표면에 부착된 모든 난들에게 산소가 고르게 잘 공급 되는 것을 방해하여 embryo가 살아있는 상태로의 유지를 어렵게 만들어 알의 탈락률이 높아지는 것으로 보여진다. 반대로 red clay pot와 ceramic pot가 산란량과 부화율이 가장 양호했던 이유는 균질의 산란상 표면이 알에 물의 흐름과 산소를 잘 공급되게 하고, 또 부착사에 의한 에너지 손실을 감소시켜 난막을 뚫고 나올때 부착사가 쉽게 떨어지도록 하였기 때문으로 판단된다. 부착기질에 알을 붙이는 종들은 특정한 기질을 더 선호하며, 이것은 부착기질에서의 알의 탈락 방지와 포식자들로부터의 방어능력 향상을 위한 것으로 생각된다.

연속적으로 산란하는 어종의 난질은 어미에게 산란 직전, 혹은 산란기 동안 먹인 사료영양에 의해 직접적인 영향을 받는다(Izquierdo et al., 2001). 사료내 carotenoid 함량은 nest color, 부화율, 초기생존율, 자어성장, 몸의 색소형성에 영향을 미치며, 먹이로부터 흡수된다(Hoff, 1996). 해양에서는 미세조류에 의해 합성되어지며 먹이사슬을 통해 흡수된 copepoda를 clownfish가 먹음으로써 적당한 수준의 carotenoid를 얻는다(Wilkerson, 1998). 본 실험에서도 carotenoid원으로 astaxanthin을 공급한 경우는 알의 색이 짙은 보라색을 나타내었고 산란량도 더 많았다.

성숙과 산란을 조절하는 외부인자로 광주기, 수온, 먹이 등이 있다(Campos-Mendoza et al., 2004). Clownfish 종들은 얼마나 장기간 동안 산란을 하는지 정확히 밝혀지지 않았으나, Hoff (1996)는 적어도 5년 이상은 지속되는 것 같다고 하였다. *A. ocellaris*는 20년, *A. peridon*은 21년 동안 산란을 지속했으며 *A. melanopus*는 4년 10개월 동안 103회의 산란(월평균 1.78회)을 했다는 보고도 있다(Hoff, 1996). 본 실험에서는 2004년 4월 19일부터 2007년 4월 16일까지 3년간 총 48회(월평균 1.33회)의 산란을 하였으며, 수족관 대청소, 먹이종류와 산란상의 종류에 따라 산란간격과 산란수가 다르게 나타났다.

산호초 지대에 서식하는 열대어류들은 온대어류에 비해 미세한 온도 변화가 발생단계에 큰 영향을 미친다(Green and Fisher, 2004). 본 실험에서 *A. melanopus*는 30°C에서 부화율 70%를 보여 24°C에서 부화율 40%와 유의적인 차이를 보였다. *A. melanopus* 서식지의 연중 염분 변화는 31~35 psu로 큰 차이가 없었다. 따라서 염분은 *A. melanopus*의 발생과 부화율에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보이며 본 실험의 결과에서는 33 psu 정도가 적 염분인 것으로 나타났다. 실내 부화장에서 광주기와 산란주기와는 아무런 관련이 없다 하였으나 본 연구에서는 연속조명이나 연속암흑 보다는 L:D cycle 12:12 또는 6:18에서 산란주기가 가장 짧아 Hoff (1996)의 결과와 같은 경향을 보였다.

*A. melanopus* 배발생에 관한 연구로는 Green (2004)의 배발생과 산소소비에 대한 것이 있으며, 배발생에 영향을 미치는 환경조건에 대한 실험은 거의 보고된 바가 없었다. 그러나 본 실험의 결과에 의해 28°C, 33 psu, L:D cycle 6:18이 배발생의 최적 환경조건인 것으로 나타났다.

*A. melanopus*는 부화 16일경까지 변태가 거의 완료되어 바닥에 정착하며, 거의 완벽한 어미의 특징을 갖춘다. *A. melanopus*는 현재까지 연구된 물고기중 유생발달 단계가 가장 빠른 어류 중 하나이며 난황은 부화 3일째에 완전히 흡수된다. 또 난황이 완전히 흡수되기 훨씬 전인 12시간 이내에 첫먹이 섭취가 이루어진다(Green and McCormick, 2001). Job and Bellwood (2000)에 의하면 농어목에 속하는 6종의 열대어류들이 변태하는 기간이 17~31일이며 자리돔과 어류인 yellowtail damselfish *Microspathodon chrysurus*는 부화 16일까지 변태를 하지 않는다는 보고(Potthoff et al., 1987)에 비하면 *A. melanopus*의 변태는 다른 열대어류와 비교해 매우 빠른 것으로 나타났다.

본 실험에서 변태는 부화 8일째에 지느러미 연조가 형성되고 어미와 같은 색체를 보였다. 변태가 시작될 때의 전장은 8 mm 정도에서 시작되어 11 mm 정도인 14일 전후에 거의 완료되어 타 어종에 비해 매우 빠르게 변태함을 알 수 있었다.

## 요 약

관상가치와 교재생물로서 교육적인 이용도가 높은 흰동가리속 red and black clownfish *Amphiprion melanopus*의 인공종묘생산의 기초자료를 확보하기 위하여 실험실적인 규모에서 친어를 사육하여 산란과 부화를 조사하였다.

한마리의 암컷이 2004년 4월 19일 부터 2007년 4월 16일 까지 총 48번의 산란을 하였으며, 산란 직후의 수정란의 장경은 2.6~2.15 mm (평균 2.32 ± 0.11 mm, n=50), 단경은 0.94~0.96 mm (0.94 ± 0.001 mm, n=50)로 타원형이다. 수정란은 유백색으로 유구를 많이 가진 상태로 난막에 쌓여 배체의 동물극 쪽이 부착사에 의해 산란기질에 부착되어 있었다. 산란상에 대한 선택성은 red clay pot > ceramic pot > volcanic scoria > live rock으로 나타났으며, 부화율은 red clay pot에서 66%로 live rock 34%

에 비하여 유의적으로 높았다( $P<0.05$ ). 먹이종류에 대한 산란량은 Tetra bits+바지락육질+진주담치육질+astaxanthin을 혼합하여 먹인 실험구에서  $638 \pm 16.04$ 개로 Tetra bits만 공급한 구간  $477 \pm 28.96$  개와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ).

부화를 위한 배발생의 최적 환경요인은 수온  $28^{\circ}\text{C}$ , 염분 33 psu, 광주기 6L:18D로 나타났다. 갓 부화한 자어의 전장은  $3.7\sim 4.8$  mm (평균  $4.6 \pm 0.14$  mm,  $n=50$ )로 7일째까지는  $7.5 \pm 0.60$  mm, 14일까지는  $11.0 \pm 0.77$  mm, 20일에는  $12.4 \pm 0.85$  mm, 30일에는  $18.8 \pm 0.82$  mm, 70일에는  $37.9 \pm 2.26$  mm로 성장하였다.

### 참고문헌

- Allen, G. R., 1972. Anemonefishes. T. F. H. Publication Inc., Neptune City, 288 pp.
- Alava, V. R. and L. A. O. Gomes, 1989. Breeding marine aquarium animals: the anemonefish. ICLARM Quarterly, 12, 12–13.
- Arvedlund, M., M. McCormick, D. G. Fautin and M. Bilds, 1999. The anemonefish *Amphiprion melanopus* (Pisces: Pomacentridae): a study of host detection and possible imprinting. Mar. Ecol. Prog. Ser., 188, 207–218.
- Bell, L. J., 1976. Notes on the nesting success and fecundity of anemonefish *Amphiprion clarkii* at Miyake-Jima, Japan. Jap. J. Ichthyol., 22, 207–211.
- Campos-Mendoza, A., B. J. McAndrew, K. Coward and N. Bromage, 2004. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. Aquaculture, 231, 299–314.
- Coward, K. and N. R. Bromage, 1999. Spawning periodicity and egg size in laboratory-held stocks of a substrate-spawning tilapiine, *Tilapia zillii* (Gervais). Aquaculture, 171, 251–267.
- Dawes, J., 1998. International experience in ornamental marine species management. Part 1: Perspectives. Ornament. Fish Int. J., 26, 125–132.
- Fenner, R. M., 1998. Marine Aqurist: A commonsense handbook for successful saltwater hobbyists. T. F. H. Publication Inc., Neptune City, 430 pp.
- Fisher, R. and D. R. Bellwood., 2001. Effect of feeding on the sustained swimming abilities of late larval *Amphiprion melanopus*. Coral Reefs, 20, 151–154.
- Froese, R. and D. Pauly, 2007. Fishbase. Available online at <http://www.fishbase.org>.
- Gordon A. K. and A. W. Bok, 2001. Frequency and periodicity of spawning in the clownfish *Amphiprion akallopisos* under aquarium conditions. Aquar. Sci. Cons., 3, 307–313.
- Greathouse, R. and M. Moe, 2005. Preliminary experiments on breeding the blue devil damselfish, *Chrysiptera cyanea*, for commercial ornamental production. Proc. Gulf Caribb. Fish. Inst., 56, 826–827.
- Green, B. S. and M. I. McCormick, 1999. Influence of larval feeding history on the body condition of *Amphiprion melanopus*. J. Fish Biol., 55, 1273–1289.
- Green, B. S. and M. I. McCormick, 2001. Ontogeny of the digestive and feeding system in the anemonefish *Amphiprion melanopus*. Environ. Biol. Fish., 61, 73–83.
- Green, B. S., 2004. Embryogenesis and oxygen consumption in benthic egg clutches of a tropical clownfish, *Amphiprion melanopus* (Pomacentridae). Comp. Biochem. Physiol. A, 138, 33–38.
- Green, B. S. and R. Fisher, 2004. Temperature influences swimming speed, growth and larval in coral reef fish larvae. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 299, 115–132.
- Green, B. S., R. N. Kenneth and A. M. I. McCormick, 2005. Position of within a clutch is linked to size at hatching in a demersal tropical fish. J. Exper. Mar. Biol. Ecol., 329, 144–152.
- Hoff, F. H., 1996. Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish. Aquaculture Consultants Inc., Dade City, 212 pp.
- Ito, F., T. Yamasaki, M. Yamaguchi, M. Nagae and K. Soyano, 2003. Influence of the spawning environment on final maturation and spawning in Japanese dace, *Tribolodon hakonensis*. Fish Physiol. Biochem., 28, 417–418.
- Izquierdo, M. S., H. Fernandez-Palacios and A. G. J. Tacon, 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture, 197, 25–42.
- Job, S. D., D. R. Bellwood, 2000. Light sensitivity in larval fishes: implications for vertical zonation in the pelagic zone. Limnol. Oceanogr., 45, 362–371.
- Kim, J. S., Y. U. Choi, Y. S. Yoon, M. M. Jung, Y. B. Song, C. H. Lee, Y. D. Lee, 2007. Spawning behavior, egg and larvae developments of maroon clownfish, *Premnas biaculeatus*. J. Aquacult., 20(2), 96–105.
- Kohler, C. C., R. J. Sheehan, C. Habiche, J. A. Malison and T. B. Kayes, 1994. Habituation to captivity and controlled spawning of white bass. Trans. Amer. Fish. Soc., 123, 964–974.
- Moyer, J. T., 1980. Influence of temperate waters on the behavior of the tropical anemonefish *Amphiprion clarkii* at Miyake-Jima, Japan. Jap. J. Ichthyol., 23, 23–32.
- Munro, A. D., L. L. Cheah and N. Ngankee, 1997. Preliminary observations on environmental control of ovulation and spawning in a small tropical cyprinid (*Barbus tetrazona*). Dep. Zool., Nat., Univ. Singapore, 12, 34–41.
- Nelson, J. S., V. P. E. Phang and L. M. Chou, 1996. Survival and growth rate of the anemonefish *Amphiprion ocellaris*: a transfer experiment. J. Fish Biol., 48, 1130–1138.
- Ochi, H., 1985. Temporal patterns of breeding and larval settlement in a temperate population of the tropical anemonefish *Amphiprion clarkii*. Jap. J. Ichthyol., 32, 248–257.
- Paletta, M. S., 2001. New Marine Aquarium: Step-by-step setup and stocking guide. T. F. H. Publication Inc., Neptune City, 144 pp.
- Peter, R. E. and K. L. Yu, 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes; basic and applied aspects. Rev. Fish Biol. Fish., 7(2), 173–197.
- Potthoff, T., S. Kelly, V. Saksena, M. Moe and F. Young, 1987. Description of larval and juvenile yellowtail damselfish, *Microspathodon chrysurus*, Pomacentridae, and their osteological development. Bull. Mar. Sci., 40, 330–375.
- Richardson, D. L., P. L. Harrison and V. J. Harriott, 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. Mar. Ecol. Prog. Ser., 156, 175–181.
- Ross, R. M., 1978. Reproductive behavior of anemonefish *Amphiprion melanopus* on Guam. Copeia, 103–107.
- Schiemer, G., 2001. Captive-bred marine fish. Aquar. Fish. Mag., March, 41–45.
- Tissot, B. N. and L. E. Hallacher, 2003. Effects of aquarium collectors on coral reef fishes in Kona, Hawaii. Cons. Biol., 17, 1759–1768.
- Vives, S. P., 1993. Choice of spawning substrate in red shiner with comments on crevice spawning in *Cyprinella*. Copeia, 229–232.
- Wilkerson, J. D., 1998. Clownfishes: A Guide to their captive care, breeding and natural history. T. F. H. Publication Inc., Neptune City, 240 pp.
- Yoon, Y. S., S. Rho, Y. U. Choi, J. S. Kim and Y. D. Lee, 2005. Studies on seed production of saddleback clownfish, *Amphiprion polymus* 1) spawning, egg development and larvae culture. J. Aquacult., 18(2), 107–114.
- Young, L. G. L., 1997. Sustainability issues in the trade for wild and cultured aquarium species. Northeastern Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, New York, 145–151.
- Yu, J. M. and S. M. Lee, 1995. Marine fishes around Cheju island. Jeju-do, Office of Education, Jeju, 248 pp.
- Zorn, S. A., T. L. Margenau, J. S. Diana, C. J. Edwards, 1998. The influence of spawning habitat on natural reproduction of muskellunge in Wisconsin. Trans. Am. Fish. Soc., 127(6), 995–1005.

---

원고접수 : 2007년 7월 31일

수정본 수리 : 2007년 11월 6일