



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

수산학석사 학위논문

**Red and Black Clownfish *Amphiprion*
*melanopus*의 산란과 부화생태**



2007년 8월

부경대학교 대학원

수산생물학과

김 숙 리

수산학석사 학위논문

Red and Black Clownfish *Amphiprion melanopus*의 산란과 부화생태

지도교수 허 성 범

이 논문을 수산학석사 학위논문으로 제출함.



2007년 8월

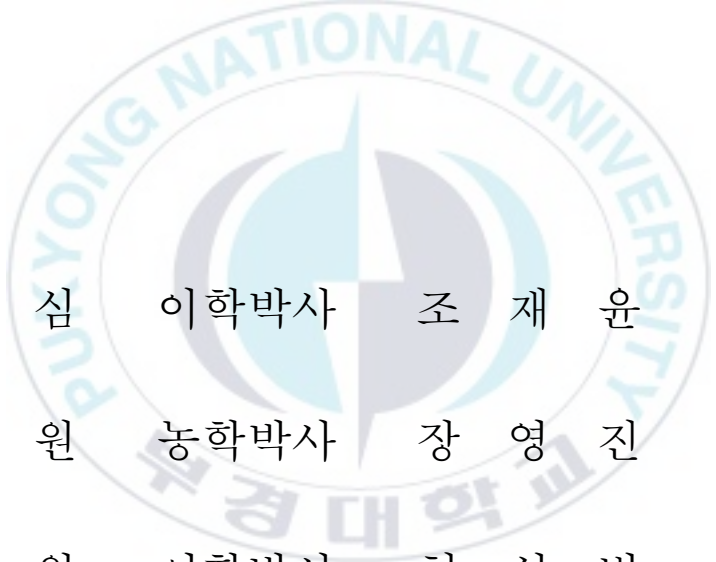
부경대학교 대학원

수산생물학과

김 숙 리

김숙리의 수산학석사 학위논문을 인준함

2007년 8월 일



주 심 이학박사 조 재 윤 ㉠
위 원 농학박사 장 영 진 ㉠
위 원 이학박사 허 성 범 ㉠

목 차

Abstract	v
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 산란생태	3
1. 1. 친어사육 및 산란	3
1. 2. 난발생과정 및 심장박동수	3
1. 3. 부착기질별 산란	5
1. 4. 먹이종류에 따른 산란수및 부화율	5
2. 부화생태	8
3. 자어사육	9
4. 통계분석	12
III. 결과	13
1. 산란생태	13
1. 1. 산란행동 및 산란수 습성	13
1. 2. 난발생과 심장박동수	14
1. 3. 산란기질에 대한 선호도 조사	22
1. 4. 먹이종류에 따른 산란수	22
2. 부화특성	27
3. 자어성장	29
III. 고찰	31
III. 국문 요약	35
IV. 참고문헌	37

Spawning and Hatching Ecology of Red and Black Clownfish *Amphiprion melanopus*

Suk ree Kim

*Department of
Fisheries Biology , Graduate School,
Pukyong National University,
Busan 608-737, Korea*

ABSTRACT

The Genous Amphiprion Red and Black Clownfish *Amphiprion melanopus* are valuable resource from the point of view ornamental fish sector and science educational organism in biology. They have an unusal social hierarchy, and are obligate symbiont with sea anemone *Entacmaea quadricolor*. This study was conducted to understand fundimental biological information on artifitial seed production and develop as an organism of educational organism.

1. Spawning ecology

A female of *A. melanopus* spawned 48 times from May 19, 2004 to May 16, 2007. Each time the fish produced about 440 to 650 eggs. The egg was spherical and initially contained multiple oil globules within a yolk mass. The egg was hatched 9 days later. Nest colour of the eggs was changed from clear yellow orange to greyish violet with processing of embryogenesis. The size of the egg ranged from 2.6-2.15 mm (mean 2.32 ± 0.11 mm) at spawning to 2.78~2.3 mm (mean 2.61 ± 0.10 mm) just prior to hatching.

With regard to spawning belong to the substrate, the fish preferred red clay pot and ceramic pot to volcanic scoria and live rock, the hatching (%) of the eggs from the former substrates was significantly higher than that of the latter. The number of eggs varied with the food stuff supplied to the fish. The food stuff composed with Tetra bits (commercial diet), meat of short necked clam and mussel, and astaxanthin showed significantly higher fecundity with 638 eggs than that with only tetra bits (477 eggs) or tetra bits with meat of shellfish (549~553 eggs).

2. Hatching ecology

Embryo developed quickly. Within 24 hours the earliest stage of obvious body form was evident. At 48 hours eye, heart, brain and spinal cord was appeared and the larva hatched out on 9 days after spawning. Temperature, salinity and L:D cycle effected on incubation period, hatching(%) and total length of newly hatched larva. Higher temperature ranging from 24 to 30°C induced shorter incubation and total length, but

higher hatching percentage. The optimum salinity and L:D cycle with 300 lux for hatching was 33 psu and 16:8.

3. Larval growth

The newly hatched larvae about 3.7~4.75 mm (mean 4.6 ± 0.14 mm) in total length showed positive phototaxis. The larvae reared at 28.0°C and 33 psu were fed rotifers *Brachionus plicatilis* (from 2nd to 5th day after hatching), *Artemia* nauplii (3rd to 30th day) and artificial diet (10th to 70th day).

A white head bar appeared around 7 to 11 days after hatching, opaque mid and caudal bar appeared around 9~12 days and 12~18 days respectively. These bars disappeared around 70 days after hatching. The larva grew to 7.8 mm in one week, 18.8 mm in a month and 39.9 mm in 70 days after hatching.

I. 서 론

생활수준의 향상과 국제 교역의 증대로 수족관용 관상어 수요는 해마다 증가하고 있다. 관상용 물고기의 국제적 교역가치가 1997년에는 US\$ 963 million이던 것이(Young, 1997) 근래에는 US\$ 1 billion정도로 추산되고 있다(Olivotto, 2005).

거래되는 담수어종의 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 et al., 2003). 현재 열대 관상어로 취급되는 800여종의 해수어종중 100여종이 시장에서 거래되고 있으며, 이 중 21종 정도가 상업적으로 양식되고 있다(Schiemer, 2001).

Clownfish 혹은 anemonefish 로 알려진 Amphiprion속의 *A. melanopus*는 해수관상용 물고기로서 매우 가치 있고 매력적인 생물이다. 이는 조기어강(Actinopterygii) 농어목(Perciformes) 자리돔과(Pomacentridae)에 속하는 어종으로 Amphiprion속에 27종이 보고되어있다(www.fishbase.org). 주된 서식지는 10N° 부근의 인도네시아 북쪽에서 30S° 부근의 오스트리아 Great Barrier Reef까지 이며(Green, 2004), 우리 나라에는 *A. clarkii* 흰동가리 한 종이 제주근해에 서식한다(Yu and Lee, 1995).

A. melanopus 어미는 옆모습이 달걀처럼 배 부분이 볼록하게 튀어나왔으며 왕성한 식욕으로 무엇이든지 잘 먹는 잡식성이다(Burgess et al., 1988). *A. melanopus*는 *A. frenatus*와 매우 유사하나, *A. melanopus*는 가슴 지느러미가 검은 색이고 *A. frenatus*는 오렌지색인 것으로 구분한다(Mills, 2000). *A. melanopus*는 7-14일 전후의 비교적 짧은 자어기간을 가지며 유생은 표층에서 천연 먹이생물을 탐욕스럽게 먹으며 3주후에 이르면 체장은 부화 직 후 체장의 3배 정도로 성장한다고 보고되고 있다(Hoff, 1996). 이때 성어와 같은 색채와 무늬를 가지는 치어로 변태하여 착저한 후, 숙주말미잘 *Entacmaea quadricolor*을 선택하여 포식자들을 피해 생활터전으로 이용한다(Arvedlund et al., 1999).

한 집단에서 성숙된 암컷과 수컷은 각각 1마리씩이며 쌍을 이루어 생활하며 나머지들은 번식을 하지 않는 웅성선숙의 미성숙 개체들로 사회적 승진의 기회만을 기다린다. 번식용 한쌍은 숙주말미잘(*Entacmaea quadricolor*) 촉수근처 바닥이 거칠거칠한 기질에 산란터를 마련하여 점착성 부착란을 산란하며 7-9일 후에 난막을 뚫고 나와 자유롭게 몸을 흔들며 물 표면으로 먹이를 찾아 유영하기 시작한다(Wilkerson, 1998).

*A. melanopus*는 웅성선숙 자웅동체(protandrous hermafroditism)이며, 수컷보다 암컷이 크다. 일부일처 제도인 사회계급 체계가 있어 한 집단에서 암컷이 죽으면 번식용 수컷이 번식용 암컷으로 성전환을 하고, 나머지 개체 중 가장 큰 것이 번식용 수컷이 되며 나머지 개체들은 미성숙 개체로 남아있다(Nelson et al., 1996). 체장은 15 cm이하로 작고 공격적이며 한 무리의 가족을 만들어 세력권을 형성하는 습성이 있으며, 입과 가슴지느러미에 의한 nest care의 행동이 특이하다(Fenner, 1998).

*A. melanopus*에 대한 연구로는 feeding regime이 유생의 변태에 미치는 영향(Green and McCormick, 1999), 먹이가 후기유생의 유영능력에 미치는 영향(Fisher and Bellwood, 2001), 산소소비와 배 발생(Green, 2004), 온도가 유생의 성장과 유영속도에 미치는 영향(Green, 2004), clutch내에서 난의 위치에 따른 부화자어의 크기(Green et al., 2005) 등이 있다. *Amphiprion*속에 대한 국내에서 연구로는 saddleback clownfish *A. polymus*의 산란과 난발생 및 자치어 사육에 관한 연구(Yoon et al., 2005), maroon clownfish *Premnas biaculeatus*의 난발생과 외부형태 발달에 관한 연구(Kim et al., 2005)가 있으며, 동 종에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

이 논문의 목적은 관상가치와 교재생물로서 교육적인 이용도가 높은 *A. melanopus*의 실험실적인 규모에서의 인공종묘 생산을 위한 친어사육 및 산란과 부화생태를 조사하여 인공종묘생산의 기초자료로 활용하고, 또 교재생물로서 개발하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 산란생태

1. 1. 친어사육 및 산란

실험에 사용된 종은 인도네시아 발리섬(적도에서 약간남쪽에 위치, 8S° 와 115E°, 평균수온 23-30°C)에서 채집된 것으로 열대어 수입상을 통하여 구입하였다. 2004년 1월 20일에 순환여과식 아크릴사각수조(1800 x 600 x 750 mm) 810 L에 *A. melanopus* 6마리(암컷 전장 90 mm, 수컷 전장 70 mm, 암수동체 4마리의 평균전장 55±1.0 mm)와 말미잘 *Entacmaea* sp. 7마리(평균Ø 80±3.0 mm)를 혼합 사육하였다. 사육조건은 수온 28±0.5°C, 광주기 12L:12D, 조도 500 lux (40W daylight 1개와 bluelight 1개 이용)로 설정하였다. 사육기간중 수질관리는 암모니아 0-0.01mg/L, pH 8.1-8.2로 유지하였고 순환수량은 17 회/일로 하였다. 여과는 live rock과 산호사를 이용하여 수질을 안정화 시켰고(Paletta, 2001), 물속의 단백질 제거는 거품분리법(Stephen, 1979)을 이용하여 직접 제작한 용존유기물 제거장치(Fig. 1)를 사용하였다. 사육수는 질병예방을 위해서 인공해수염을 사용하였으며, 먹이는 바지락 육질과 시판용 인공먹이 Tetra bits(Tetra사)를 섞어서 1일 60 g을 한번에 20 g씩 하루에 3회로 나누어 공급하였다.

짝짓기 과정과 산란습성은 육안으로의 관찰과 비디오 촬영자료를 이용하여 파악하였다. 산란수 조사는 사란수와 부화수를 합하여 계산하였다.

1. 2. 난발생과정 및 심장박동수

사육조건으로 28°C, 염분 33 psu, 조도 500 lux 및 광주기 12L:12D 의 친어

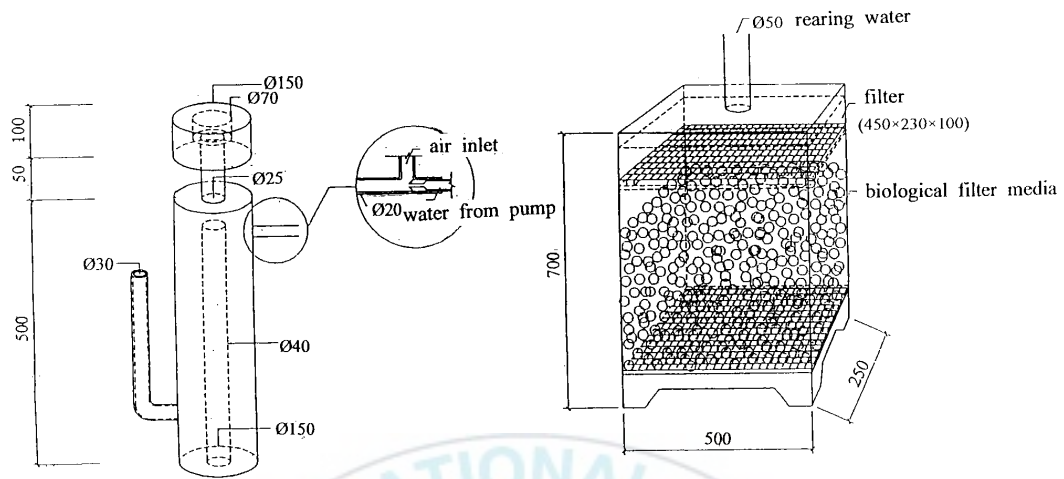


Fig. 1. Foam skimmer using venturies (unit: mm).

수조에서 산란하여 부착된 난을 유리 스포이드를 사용하여 매일 10개씩 샘플링하여 난발생 과정을 조사하였다. 발생과정은 현미경에 부착된 디지털 카메라(NikonD2H)로 3~5 회 촬영한 후 형태를 사진으로 정밀 분석하고 실험물을 현미경으로 보면서 관찰한 것과 비교 분석하여 자료화 하였다. 형태 관찰은 embryo 내에서 체강구조의 발달과 회전 형태를 조사하였다. 수정난의 장경과 단경의 측정 및 몸길이의 측정은 현미경에 부착된 마이크로메타를 이용하여 50개체의 평균값을 구하였다. 심장 박동수는 매일 오전 11시에 10개체씩 샘플링하여 분당 박동수를 조사하여 평균값으로 하였다.

1. 3. 부착기질별 산란

접착난의 부착기질로는 포식자의 접근을 쉽게 허용하지 않고 난을 더욱 잘 보호하기에 적당한 기질(Vives, 1993)을 파악하기 위하여 장경 20 cm 단경 12 cm의 타원형의 red clay pot, ceramic pot, volcanic scoria, live lock (Fig. 2)을 수조바닥에 두어 4가지 산란상에 대한 선택성과 산란수, 산란간격, 탈락개체수, 부착률 및 부화율을 3회 반복 조사하였다.

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 산란후 1일의 총 부착난수에서 산란후 5일째의 부착난수를 제한 것으로 하였다.

1. 4. 먹이종류에 따른 산란수 및 부화율

친어에 공급하는 먹이는 ①: Tetra bits (Tetra사, 100%), ②: ① (50%)+바지락 육질 (50%), ③: ② (50%)+진주담치 육질 (50%), ④: ③ (99%)+astaxanthin(하루



Fig. 2. Four different spawning substrates for the study (A: red clay pot, B: ceramic pot, C: volcanic scoria, D: live rock).

먹이공급량의 1% 첨가)의 네가지 실험구로 나누어 실험하였다. 먹이는 60 g을 하루에 3회로 나누어 공급하면서 먹이종류별 산란횟수를 5회 반복 조사하였다. 이때 사육수조의 환경조건은 $28\pm0.5^{\circ}\text{C}$, 33 psu, 500 lux, 12L:12D로 하였으며, 부화율은 산란수에 대한 부화자어로 계산하였다.



2. 부화생태

온도, 염분, 광주기에 대한 알의 부화일수와 부화율을 조사하였다. 온도별 실험은 산란하여 부착된 수정란을 1시간 이내에 직경 0.4 mm의 끝이 부드러운 유리 스포이드를 이용해 50개체씩을 떼어내어 24°C, 26°C, 28°C 및 30°C의 각 구간별로 1 L 유리 비이커에 인공해수 33 psu 800 mL에 수용하였다. 약하게 폭기 시키면서 부화할 때까지 매일 사육수의 10% 씩 환수하며 부화일수와 부화율을 관찰하였다. 수온은 800x500x500 mm 크기의 water bath에 비이커를 넣어 자동온도 조절장치가 부착된 히터로 수온을 조절하였고 실험은 3반복 실시하였다.

염분별 실험은 온도 실험에서와 동일한 방법으로 실험구당 각 50개체씩 3반복으로 수용하였으며 수온을 28°C로 조절하고, 염분은 salinometer (SM-2000)를 이용하여 29, 31, 33, 35 psu로 증류수와 인공해수염을 이용하여 조절하였다. 염분은 어미 사육수조의 수질을 기준으로 실험시작 7일전부터 증류수와 인공해수염(Instant Ocean Co.)을 녹여서 폭기 시키면서 조절하였다. 그 외 실험방법은 온도 실험에서와 동일하였다.

광주기별 실험은 온도 실험에서와 동일한 방법으로 실험구당 각 50개체씩 3반복으로 수용하였으며 수온과 염분을 28°C와 33 psu로 조절한 후 광주기는(L:D cycle) 24:0, 18:6, 12:12, 6:18, 0:24로 구분하였다. 이 때 조도는 300 lux였다. 그 외 실험 방법은 온도 실험에서와 동일 하였다.

3. 유생사육

부화 하루 전인 산란 8일째에 어미사육수조에서 산란된 알을 떼어 부화수조 (500×450×450 mm) 100 L로 옮겼다. 조명장치를 소등한 후 오후부터 부화되기 시작하였으며, 부화되어 나오는 자어는 쪽자를 이용하여 유생사육 수조로 옮겼다. 부화 수조의 수질과 환경조건은 친어수조와 동일하게 하였다.

유생사육에 사용된 미세조류 *Nannochloris oculata* (KMCC C-31) 와 *Isochrysis galbana* (KMCC H-2)는 부경대학교 양식학과 한국해양미세조류은행으로부터 분양받아 f/2배지, 33 psu, 23℃, 3,000 lux, 광주기 12L:12D에서 계대배양 중인 것을 실험시작 7일전부터 20 L 원형 플라스틱 수조에 1×10^4 cells/mL 농도로 접종하여 배양하였다. 식물성 플랑크톤의 세포계수는 hemacytometer를 사용하였다.

본 실험에 먹이로 사용된 rotifer (*Brachionus plicatilis*)는 강릉대학교 먹이생물 실험실로부터 분양받아 23℃, 3,000 lux, 광주기 12L : 12D하에서 *Nannochloris oculata*를 먹이로 배양하였다. 5 L vinyl sac에 *N. oculata* (9×10^6 cells/mL)를 넣고 rotifer 초기접종 밀도를 5개체/mL로 접종하고 수온 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 3000 lux에서 5일 이상 배양하였다.

*Artemia*는 Great Salt Lake cyst를 증류수에 1시간 두었다가 침전된 cyst만을 28℃, 33 psu, 3,000 lux, 12L:12D에서 48시간 배양후 갓 부화한 nauplii를 주광성을 이용하여 수집하였다. *Artemia* nauplii는 *N. oculata*와 *I. galbana*로 6시간 영양강화 후 부화 자어에 공급하였다.

부화 후 10일 동안은 *N. oculata* (KMCC C-31) 와 *I. galbana* (KMCC H-2)를 1 : 1 비율로 혼합하여 1×10^4 cells/mL의 농도로 자어 수조를 green water 상태로 만들어 주었다. 부화 2일째부터 rotifer를 15~20 개체/mL 공급하였으며 부화 3일째부터 30일째까지는 *Artemia* nauplii를 3~5 개체/mL 공급하였다. Gordon (1998)의 실험결과에 따라 부화 10일째부터는 입자크기 200-400 μm 배

합사료를 *Artemia nauplii*와 혼합 공급하였다. 이때 배합사료는 먹이중량을 기준으로 약 30%부터 공급하다가 31일째부터는 배합사료만으로 사육하였다(Fig. 2). 사육수는 매일 20~30% 정도를 환수하면서 수조벽면과 바닥의 찌꺼기를 제거하였다. 자치어 사육을 하면서 현미경 관찰과 사진 촬영을 하여 자치어의 변태 과정을 조사하였다.



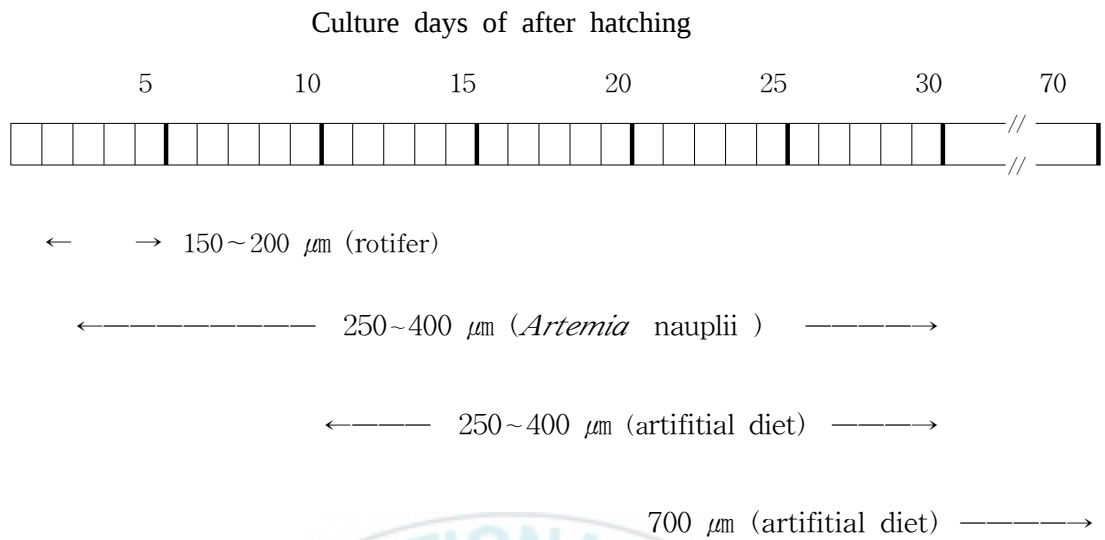
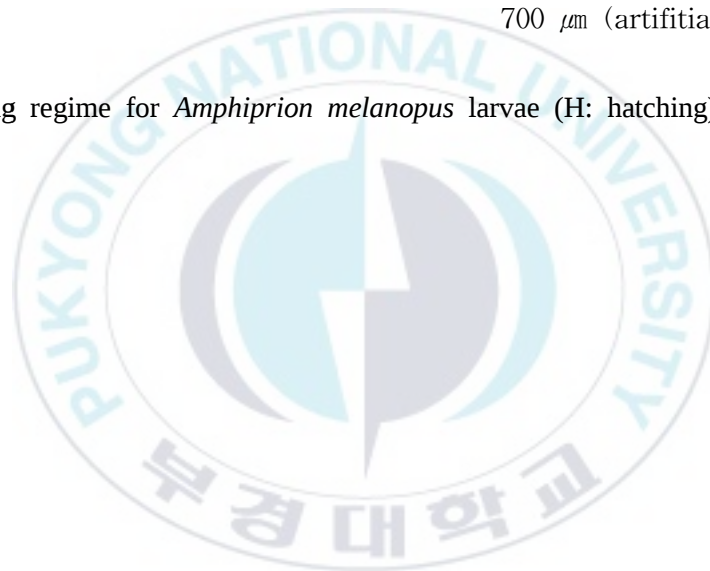


Fig. 2. Feeding regime for *Amphiprion melanopus* larvae (H: hatching).



4. 통계분석

실험구별 평균값의 통계처리는 SPSS (Version 11) 통계패키지를 이용하여 one-way ANOVA test (Duncan`s test)로 5% 수준의 유의성을 조사하였다.



Ⅲ. 결 과

1. 산란생태

1. 1. 산란행동 및 산란수

육안으로 관찰한 산란행동은 먼저 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 임박해졌을 때 암수 모두 회색관이 총배설강과 뒷지느러미 사이로 2~3 mm 짧게 나왔다. 산란관으로부터 나오는 난을 산란기질에 밀착시켜 한번에 15~20개 (17 ± 1 개, $n=10$)의 범위로 사선으로 바깥쪽부터 안쪽으로 부쳤으며 곧이어 수컷이 암컷의 산란과 동시에 암컷주위를 회전하며 난을 수정시키는 행동을 하였다.

산란 직후의 수정난은 장경 $2.15\text{--}2.60$ mm (2.32 ± 0.11 mm, $n=50$), 단경 $0.94\text{--}0.96$ mm (0.94 ± 0.01 mm, $n=50$)로 타원형이며 유백색으로 유구를 많이 가진 상태로 난막에 쌓여 배체의 동물극 쪽이 부착사에 의해 산란기질에 부착되었다(Fig. 3. A). 산란3일째에 알은 연한 보라색(Fig. 3. B), 산란5-6일째에는 진한 보라색으로 변해 부화가 가까워질수록 색이 더 진해졌다(Fig. 3. C). 부화 직전의 산란 8일째 수정난은 육안으로 눈과 안막의 반짝거림과 난황이 관찰되었으며(Fig. 3. D) egg sac이 저절로 꿈틀거리는 움직임이 나타났다. 수컷은 수정난이 부화할 때까지 산소공급과 부니가 붙지 않게 입으로 붙고 지느러미로 물살을 일으키는 행동을 하였으며(Fig. 3. E) 이 과정에서 상태가 좋지 않은 알은 골라내어 떼어먹는 것이 관찰되었다. 암컷은 수컷이 수정난을 보호하는 동안 멀리 떨어져서 다른 개체들이 접근하지 못하도록 하는 행동을 하였다(Fig. 3. F).

수조입식부터 첫 산란까지는 90일이 소요되었으며 2004. 4. 19일에 화산석에 첫산란을 시작으로 하여 2007년 4. 16일까지 총 48번의 산란을 하였으며, 산란에 대한 기록은 Table 1에 나타나 있다. 산란간격은 6회차 까지는 일정한 주기성을 나타내었지만, 수족관 대청소로 인하여 6회와 7회의 산란간격은 393일로 나타났고 그 이후에도 먹이종류와 산란상의 종류에 따라 산란간격과 산란수가 다르게 나타났다.

1. 2. 난발생과정과 심장박동수 조사

산란 1일부터 8일까지의 배발생 단계별 특징은 Table 2와 같다. 수정 후 2시간 이내에 2, 4, 8세포기까지 난할이 진행되었으며, 16, 32, 64세포기를 거쳐 상실기, 포배기, 낭배기로 발생이 진행되었다(Fig. 4. 1~8). 2일째에는 낭배가 완성되고 동물극 쪽에 체절이 형성되었으며 꼬리부분에 색소가 나타나기 시작하였고(Fig. 4. 9), 아직 완전히 발달하지 않은 머리와 몸통을 가진 배로써 형태발생이 시작되었다. 3일째에는 몸통체절이 완전히 형성되고 꼬리의 규칙적인 움직임, 눈의 색소 침착, 색깔이 없는 혈액의 움직임, 심장박동이 관찰되었으며, embryo가 반대방향으로 회전하여 머리가 부착사가 붙어있지 않은 식물극 쪽으로 위치하였다(Fig. 4. 10).

4일째에는 적혈구가 심장을 붉게 물들이는 붉은 혈액의 흐름, 주요 순환계가 관찰되었으며(Fig. 4. 11) 심장박동수는 3일째에 비해 더욱 활발하였다. 5일째에는 호흡기관의 발달, 미세혈관, 가슴지느러미가 관찰되었다(Fig. 4. 12). 6일째에는 미성숙 턱과 아가미갈퀴, 가슴지느러미의 연장등이 나타났다(Fig. 4. 13). 7일째에는 아가미로 턱을 움직이는 것(Fig. 4. 14), 8일째에는 눈의 발달이 완성되어 반사관에 의한 안막의 반짝거림이 보이고 심장박동도 매우 활발하고 난주머니가 저절로 움직여 난막을 뚫고 나올 준비가 다 되었음을 미리 알려주는 것들이 관찰되었다(Fig. 4. 15). 9일째는 8일째와 거의 변화가 없이 부화하였다.

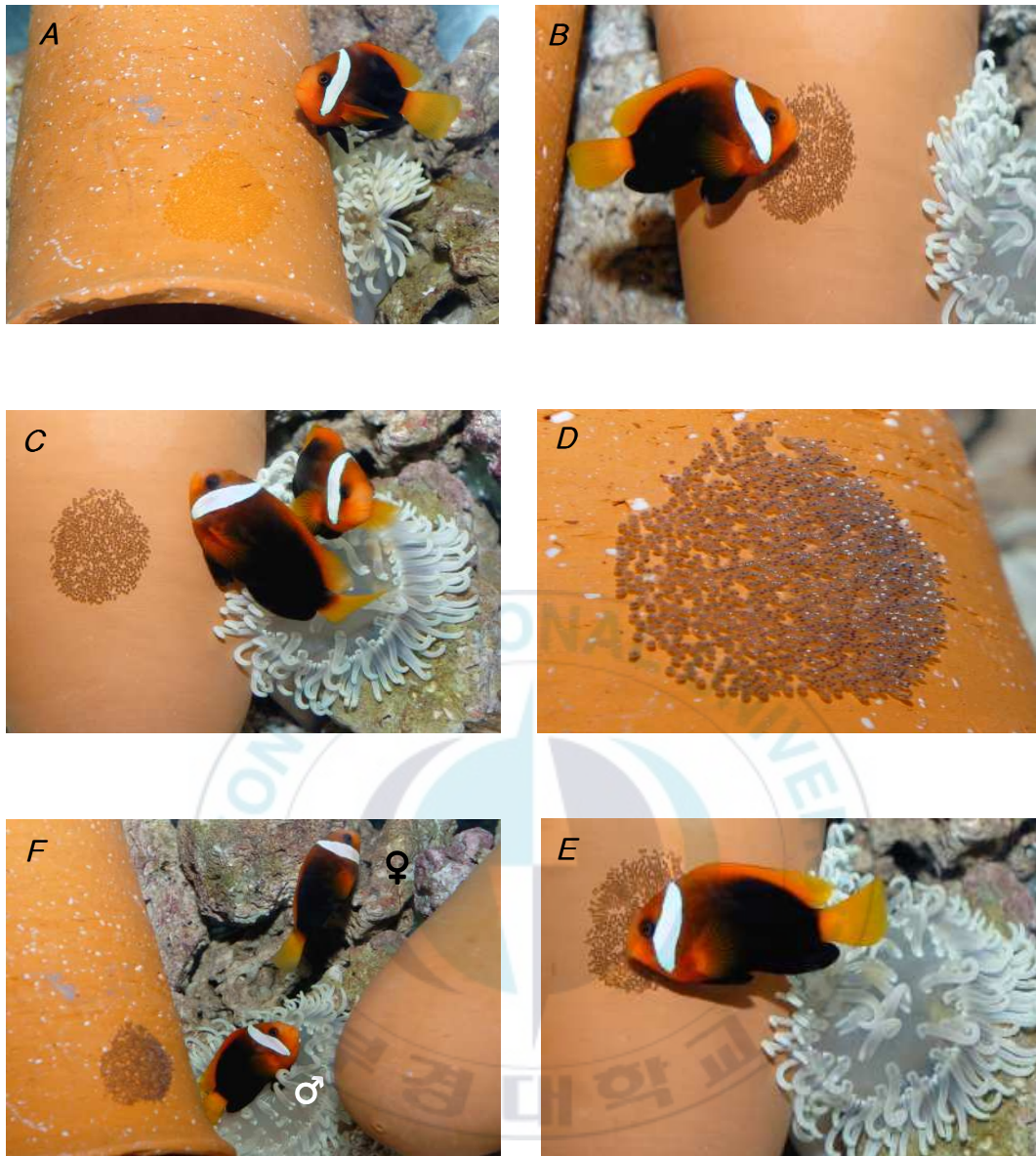


Fig. 3. Spawning ecology of *Amphiprion melanopus*. A: newly spawned eggs in white yellowish, B: eggs on 3 days after spawning (DAS) in light violet, C: eggs on 6 DAS in dark violet, D: eggs with eye spot on 8 DAS, in bright shiny silver, E: mouth brooding of male, F: nest caring of adults.

Table 1. Spawning information from a female of *Amphiprion melanopus*

Spawning times	Date of spawning		SI	Number	Area of nest ($\varnothing \times \text{cm}$)	Substrate	Food*
	Solar	Lunar					
1	Ar. 19, 2004	May 3		530	4.3×3.0	volcanic scoria	2
2	May 3, 2004	Mar. 15	14	540	4.4×3.1	"	2
3	May 17, 2004	Mar. 29	14	545	4.4×3.0	"	2
4	May 31, 2004	Apr. 13	14	550	4.5×2.9	"	2
5	June 14, 2004	Apr. 27	14	570	4.31 55	"	2
6	June 28, 2004	May 11	14	560	4.1×3.4	"	2
7	July 25, 2004	June 20	393	610	4.3×3.2	live rock	3
8	Aug. 14, 2005	July 11	21	605	4.2×3.2	red clay pot	3
9	Aug. 26, 2005	July 22	11	580	4.3×3.1	ceramic pot	3
10	Sep. 6, 2005	Aug. 2	10	550	4.1×3.2	red clay pot	3
11	Sep. 14, 2005	Aug. 11	8	480	4.2×2.5	ceramic pot	3
12	Sep. 25, 2005	Aug. 22	11	532	4.3×3.0	red clay pot	3
13	Oct. 6, 2005	Sep. 4	11	542	4.4×3.1	"	1
14	Oct. 17, 2005	Sep. 15	11	525	4.2×3.1	"	1
15	Oct. 28, 2005	Sep. 19	11	472	4.2×2.5	"	1
16	Nov. 9, 2005	Oct. 8	12	480	4.2×2.5	"	1
17	Mar. 18, 2006	Feb. 19	150	450	4.1×2.3	"	1
18	Mar. 29, 2006	Mar. 1	11	460	4.1×2.4	"	1
19	Apr. 10, 2006	Mar. 13	12	485	4.2×2.5	"	1
20	Apr. 21, 2006	Mar. 24	11	478	4.2×2.5	"	1
21	May 3, 2006	Apr. 4.6	12	475	4.2×2.5	"	1
22	May 15, 2006	Apr. 18	12	482	4.2×2.5	"	1
23	May 26, 2006	Apr. 29	11	485	4.2×2.5	"	4
24	June 7, 2006	May. 12	12	490	4.2×2.7	"	4
25	June 19, 2006	May 24	12	515	4.1×3.1	"	4
26	June 30, 2006	June 5	11	540	4.4×3.1	"	4
27	July 12, 2006	June 17	12	570	4.3×3.0	"	4

Table 1. continued

Spawning times	Date of spawning		SI (days)	Number of eggs	Area of nest ($\varnothing \times \text{cm}$)	Substrate	Food *
	Solar	Lunar					
28	July 22, 2006	June 27	10	610	4.3×3.3	red clay pot	4
29	Aug. 4, 2006	July 11	13	640	4.3×3.4	"	4
30	Aug. 17, 2006	July 24	12	650	4.3×3.4	"	4
31	Aug. 31, 2006	July 8	14	645	4.3×3.4	"	4
32	Sep. 11, 2006	July 19	11	645	4.3×3.4	"	4
33	Sep. 22, 2006	Aug. 1	11	650	4.4×3.5	"	4
34	Oct. 3, 2006	Aug. 12	11	642	4.3×3.4	"	2
35	Oct. 14, 2006	Aug. 23	11	553	4.2×3.5	red clay pot	2
36	Oct. 26, 2006	Sep. 5	12	545	4.2×3.3	"	2
37	Nov. 5, 2006	Sep. 15	10	555	4.3×3.2	"	2
38	Nov. 27, 2006	Oct. 7	22	550	4.4×3.3	ceramic pot	2
39	Dec. 8, 2006	Oct. 18	11	555	4.3×3.3	"	2
40	Dec. 19, 2006	Oct. 29	11	547	4.3×3.2	"	2
41	Jan. 4, 2007	Nov. 6	16	492	4.2×2.7	v. scoria	2
42	Jan. 17, 2007	Nov. 29	13	497	4.2×2.8	"	2
43	Jan. 30, 2007	Dec. 12	13	503	4.3×2.9	"	2
44	Feb. 15, 2007	Dec. 28	16	475	4.2×2.5	live rock	2
45	Mar. 2, 2007	Jan. 13	15	480	4.2×2.9	"	2
46	Mar. 17, 2007	Jan. 28	15	483	4.2×2.9	"	2
47	Mar. 30, 2007	Feb. 12	13	475	4.2×2.5	"	2
48	Apr. 16, 2007	Feb. 29	17	463	4.1×2.4	"	2

SI : Spawning interval.

Food *

1: Tetra bits (commercial diet), 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).

Table 2. Major characteristics of development in embryos of *Amphiprion melanopus* from fertilization to hatching (26°C, 33 psu).

Age of embryo (days)	Major characteristics of development	number in Fig. 4
1	The nurula is evident. Gastrulation is occurring as blastomeres from the animal pole engulf the yolk. Nest color is clear white-yellow with small white dot on tip of eggs.	1~8
2	Eye, heart, brain, and spinal cord are present. Yolk is slightly reduced and darker orange. Gastrulation is complete. Morphogenesis has begun as an embryo with rudimentary head and trunk with somites has formed at the animal pole.	9
3	Heart begins to beat. The embryo reverses its position, by aligning it's head at the unattached end of the egg. The eye cup has formed and eye is pigmented.	10
4	Oxygen-carrying erythrocytes develop in the plasma, colouring the heart and the intensity of this colour deepens throughout the day. Darkly pigmented eyes and the ends of eye cup overlap. Nest color is darker grey colour with slight evidence of eye spot development.	11
5	Respiratory organs have developed, irregular heaving rudimentary opercula have formed and blood flows to this area. Pectoral pins and dorsal and ventral pin folds are apparent. Nest color is gray with dark strip (back bone) and more defined eye.	12
6	Nascent jaw and orbital bones and gill rakers appear and arteries to the branchial basket are transporting blood. Nest color is gray-black with definite silver eye spots forming and dark black backbone.	13
7	Gill rakers are visible, the gills are ventilating regularly, moving the jaw with it.	14
8	Development of the eye is completed and eyeshine from the tapetum is visible. The larval finfold is still present and the spinal cord is not flexed just prior to hatching. Nest color is clear greyish-violet.	15
9	Hatching	16

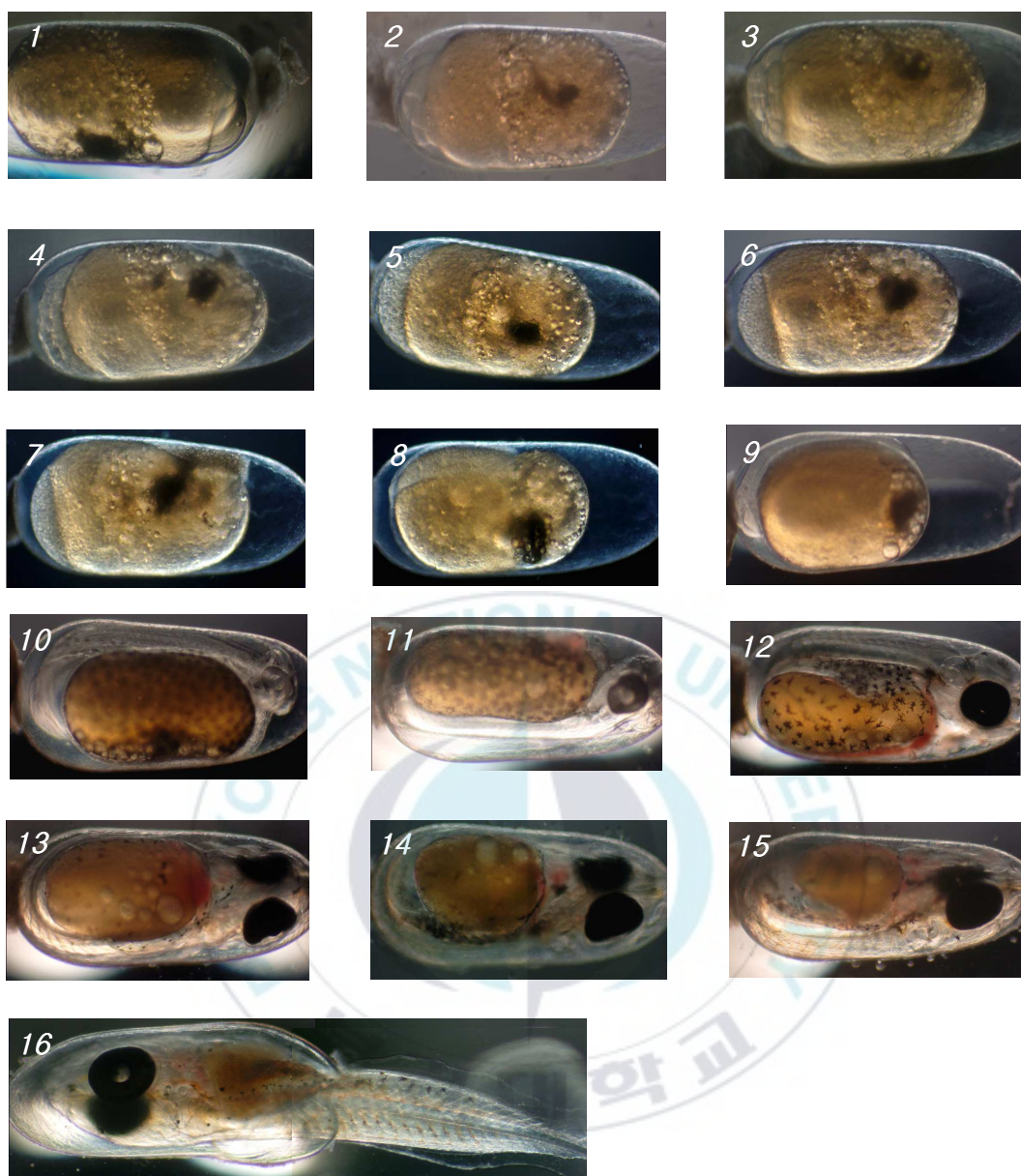


Fig. 4. Embryogenesis of *Amphiprion melanopus* ($28\pm0.5^{\circ}\text{C}$, 33 psu). 1: 4 cell stage, 2: 8 cell stage, 3: 16 cell stage, 4: 32 cell stage, 5: 64 cell stage, 6: morula stage, 7: blastula stage, 8: gastrula stage, 9: 2 DAS, 10: 3 DAS, 11: 4 DAS, 12: 5 DAS, 13: 6 DAS, 14: 7 DAS, 15: 8 DAS, 16: newly hatched larva. DAS: days after spawning

심장박동은 산란 3일째부터 시작되었으며 산란 5일째 심장박동수의 증가로 알의 산소 소비가 많아짐을 예측할 수 있었다. 5일 이후로는 심장박동수는 일정하였으나 3~4일에 비하면 유의적으로 높은 심장박동수를 보였다(Table3).



Table 3. Number of heart beat rate per minute of embryo of *Amphiprion melanopus* from fertilization to the day prior to hatching

	Days after spawning							
	1	2	3	4	5	6	7	8
mean±	0±	0±	117±	118±	168±	167±	168±	168±
SD	0.0 ^c	0.0 ^c	1.9 ^b	1.1 ^b	1.9 ^a	5.4 ^a	1.9 ^a	2.3 ^a

Different letters mean significant difference at 5% level.



1. 3. 산란기질(Spawning substrate)에 대한 선호도 조사

처음 4가지 산란기질에 대한 선호도 조사결과 3회반복 실험 모두 red clay pot에 우선적으로 난을 부쳤으며 부착률은 97.8%였다. Red clay pot를 제거시킨 나머지 부착기질에 대한 선택성은 ceramic pot > volcanic scoria > live rock 순으로 나타났다. 각 부착기질에 대한 산란수, 탈락개체수, 부착률 및 부화율은 Table 3과 같다. 4종류의 부착기질에 대한 산란수는 red clay pot와 ceramic pot에서는 551개로 서로 같게 나타났으나 volcanic scoria (497), live rock (479개) 보다는 유의적으로 낮았다. 부착률과 부화율에서도 모두 red clay pot와 ceramic pot이 다른 두 기질보다 유의적으로 높았으며, volcanic scoria 와 live rock 사이에는 유의적인 차이가 없었다. 이들 두 종류의 기질은 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 없었으며, volcanic scoria와 live rock에서의 34~35%보다는 유의적으로 높은 부화율을 보였다.

1. 4. 먹이종류에 대한 산란수 및 부화율

Tetra bits, 바지락, 진주담치, astaxanthin을 이용한 4개의 먹이 공급구별로 산란수의 결과는 Table 4와 같다. Astaxanthin을 1% 첨가한 사료를 먹인 개체에서는 astaxanthin을 첨가하지 않은 것보다 알의 색깔이 진한 보라색으로 나타났다 (Fig. 5). 상업용 사료인 tetra bits만을 먹인 것은 평균산란수가 477개로 가장 적었으며 tetra bits+바지락 육질+진주담치 육질+astaxanthin을 혼합한 먹이는 638개의 알을 산란해 실험구중 유의적으로 가장 많았다. Tetra bits+바지락육질과 tetra bits+바지락 육질+진주담치 육질의 실험구 사이에는 유의적인 차이가 없었으나 tetra bits만을 100% 공급한 실험구보다는 유의적으로 높은 산란수를 보였다.

Table 4. Spawning of *Amphiprion melanopus* on different spawning substrates

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

S.I.: Spawning interval.

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

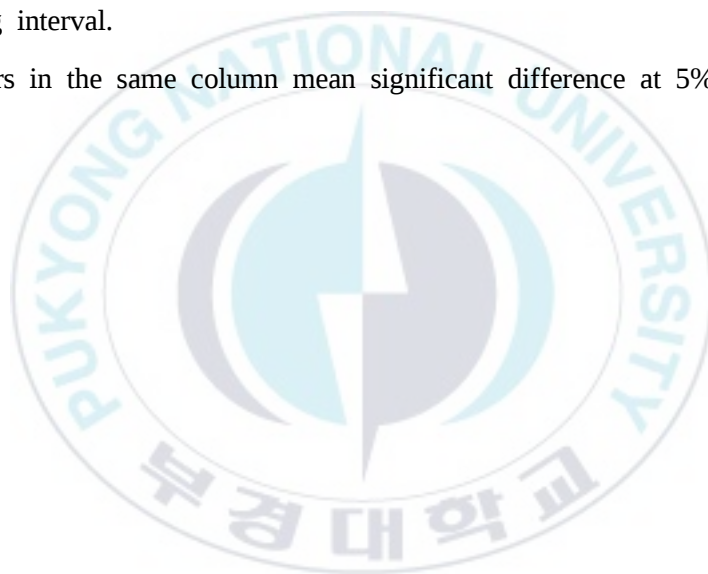
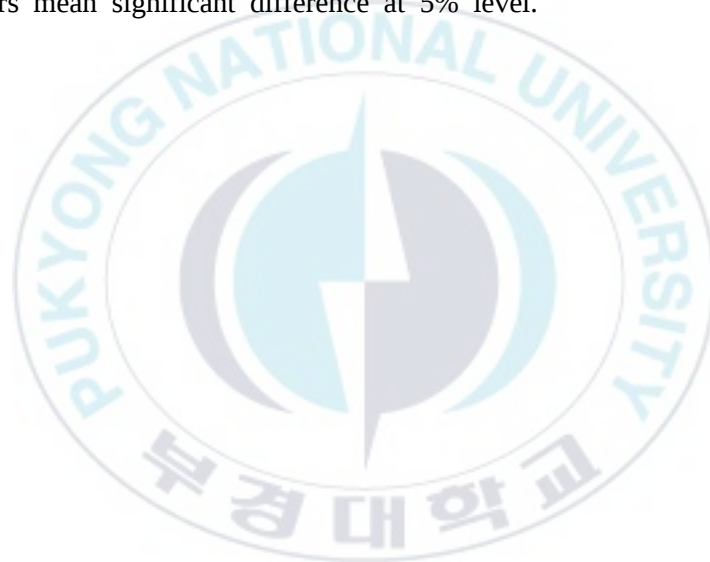


Table 5. Number of eggs of *Amphiprion melanopus* fed different food stuff

Food stuff			
1	2	3	4
477.0±28.96 ^c	553±12.04 ^b	549.0±47.82 ^b	638.0±16.05 ^a

1: Tetra bits (commercial diet), 2: 1 (50%)+meat of short necked clam (50%),
 3: 2 (50%)+meat of mussel (50%), 4: 3 added with astaxanthin (10% of total weight).

Different letters mean significant difference at 5% level.



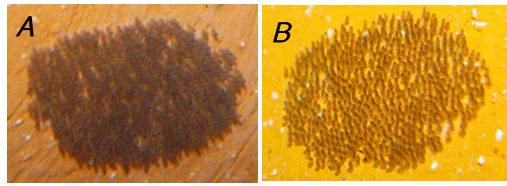


Fig. 5. Color of eggs of *Amphiprion melanopus* (A: with astaxanthin, B: without astaxanthin).



2. 부화특성

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 어두운색의 많은 색소가 침착되어 있었다. 초기 발생단계에 embryo내에서 머리부분은 부착사가 붙어있는 난막의 끝쪽에 위치한다. 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. 가끔씩 그들의 머리에 난막의 끝부분이 걸려있는 것도 볼 수 있었다.

24, 26, 28, 30℃에서 부화시킨 알의 부화일수, 부화율 및 부화자어의 전장의 결과는 Table 6과 같다. 24℃에서 부화율 40%를 나타내었으며, 30℃에서 부화율 70%와 비교해 보았을 때, 유의적인 차이를 나타내었다. 부화율은 온도가 높을수록 유의적으로 높아 30℃에서는 70%의 부화율로 가장 높았다. 그러나 부화기간은 반대의 경향을 보였다. 또, 부화자어의 전장은 부화온도가 높을수록 작아지는 경향이었으나 24℃부터 28℃까지는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

염분별 실험에서는 33 psu에서 66%의 부화율로 가장 높았으나 35 psu와는 유의적인 차이가 없었다. 또 염분별 부화자어의 전장은 염분이 높을수록 작아지는 경향이었으나 염분 29, 31, 33사이에는 유의적인 차이가 없었다(Table 7).

광주기 실험에서 24L:0D에서는 부화율이 19.3%로 가장 낮게 나타났으며, 6L:18D에서 63%로 유의적으로 가장 높았다. 부화일수에 있어서도 24L:0D에서 6L:18D까지는 암기간이 길어질수록 단축되는 경향이었으나 24L:0D에서는 오히려 12L:12D나 6L:18D에 비해 늦어지는 경향을 보였다. 부화자어의 전장에서도 암기간이 18시간 까지는 암기간이 길수록 큰 경향을 보였으나 연속 암기간에서는 작아지는 결과를 보였다(Table 8).

Table 6. Effect of water temperature on incubation period of egg, hatching percentage and larval length of *Amphiprion melanopus*

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

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

Table 7. Effect of salinity on incubation period of egg, hatching percentage and larval length of *Amphiprion melanopus*

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

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

Table 8. Effect of L:D cycle on incubation period of egg, hatching percentage and larval length of *Amphiprion melanopus*

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

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

3. 자어성장

자어의 성장은 부화1일부터 7일째까지는 4.6 ± 0.14 mm ~ 7.47 ± 0.60 mm, 부화 8일부터 16일까지는 8.13 ± 0.60 ~ 11 ± 0.77 mm, 부화 20일에는 12.36 ± 0.85 mm, 부화 30일에는 18.83 ± 0.82 mm, 부화 46일에는 22.92 ± 1.36 mm, 부화 70일에는 37.91 ± 2.26 mm로 성장하였으며 Fig 6에 그래프로 나타내었다. 부화1일째와 2일째는 수조바닥에서 거의 움직임이 없이 가만히 있거나 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.

A. melanopus 성체는 머리에 한개의 띠(head bar)만 있지만, 어린개체는 머리 몸 꼬리에 3개의 띠가 있다. 부화후 7-11일 사이에 머리부분에 불분명한 white head bar가 나타나는 것을 시작으로 어미와 같은 모양으로의 변태가 시작되었다. 부화 9-12일경에는 불투명한 mid bar, 12-18일경에는 불투명한 caudal bar가 나타나기 시작하였다. 14~30일경에는 불투명한 3개의 띠가 잘 나타나고 24~40일경에는 가슴지느러미 기부에 색소가 보인다. 50~55일경에는 꼬리지느러미의 띠가 사라지기 시작하여 65~70일경에는 꼬리지느러미의 띠는 완전히 사라진다. 몸통 부위의 띠는 65~70일경에 사라지기 시작하여 70일 이후에는 완전히 사라졌다(Table 9). 부화후 7-15일에는 수조 윗부분에서 수영하였으며, 16일 전후에서는 수조바닥으로 내려가 거의 완벽한 어미의 특징을 갖춘 것으로 보아 변태가 거의 완료됨을 알 수 있었다.

Table 9. Chronology of metamorphic pigmentation stages for *Amphiprion melanopus* larvae

Stage	DAH	Pigmentation development
1	7~11	White translucent upper portion of head bar evident.
2	9~12	Head bar fully extends around head, translucent mid body bar appears.
3	12~18	Head and mid bar opaque white and caudal bar begins.
4	14~30	All three body bars are opaque and fully developed.
5	24~40	Early pigmentation on edge of pelvic fin evident.
6	50~55	Caudal bar begins to disappear.
7	65~70	Caudal bar completely disappear.
8	65~70	Midbody bar begins to disappear.
9	70~	Midbody bar completely disappear.

DAH: Days after hatching.

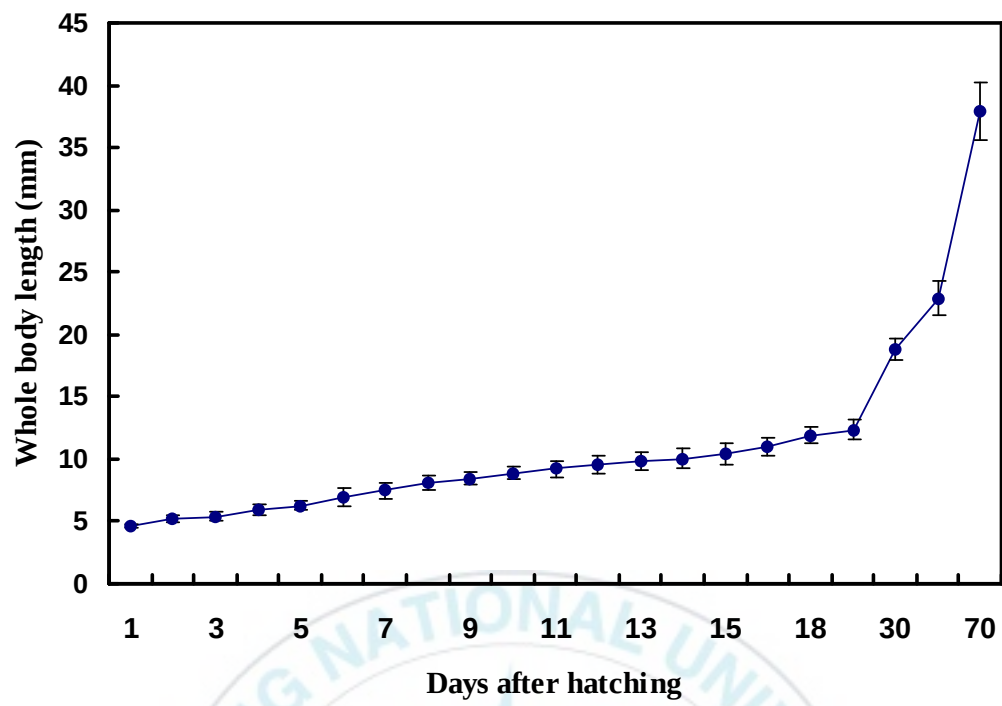


Fig. 6. Growth from hatching to 70 days of *Amphiprion melanopus*.

IV. 고 찰

자연상태에서 clownfish 종들의 산란회수와 산란주기는 위도에 따라서 변화한다(Gordon et al., 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 열대지방에서는 산란주기와 달의 주기와는 강한 연관성이 있는 것으로 알려져 있다(Allen, 1972; Ross, 1978). Ross (1978)에 의하면 자연상태에서 *A. melanopus*의 산란은 반달일때 peak였다고 한다. 그러나 온대지방에서는 산란주기와 달주기와의 관계는 약한 것으로 알려져 있다(Richardson, 1997).

환경조건이 조절되는 수족관에서는 자연상태에서 처럼 번식주기를 조절하는 환경적인 단서가 거의 없거나 약하다. 그 결과 물고기는 아쿠아리스트에 의해 인위적으로 부여된 온도와 명암주기, 빛의 범위 내에서 산란행위가 변화한다(Kohler et al., 1994). 수족관에서 clownfish는 연중 산란하고(Alava and Gomes, 1989; Hoff, 1996), 봄과 여름사이의 기간 동안 산란수가 증가하며 여기에는 달주기와 산란주기와의 상관관계는 없다고 하였다(Hoff, 1996).

본 연구에서는 *A. melanopus*의 한달평균 산란회수는 먹이, 산란기질 및 수족관 대청소등의 영향으로 일정한 경향을 보이지 않았으며 달주기와도 상관관계는 나타나지 않았다. 이처럼 수족관 환경에서 clownfish가 연중 산란한다는 것은 환경조건의 안정 때문이며, 이 때 광주기와 온도와 같은 환경요인의 조절로 clownfish의 산란에 영향을 미치는 환경적인 요인들에 대한 실험이 더 필요하다고 생각한다.

저층에 서식하며 점착성 부착난을 부치는 clownfish는 특별한 종류의 산란기질을 선호하는 것으로 알려져 있다(Hoff, 1996). 같은 자리돔과에 속하는 damselfish *Chrysiptera cyanea*는 부착기질에 따라 부착률이나 부화율이 달라진

다고 보고되어 있다(Greathouse and Moe, 2005). 부착성난을 산란하는 종들에게 있어 산란상(부착기질)은 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 성공 여부에도 영향을 미친다(Zorn et al., 1998). 일단 배란이 되면 알맞은 산란상이 있으면 산란은 쉽게 할 수 있으며, 적당한 산란기질이나 재질이 없으면 산란행동은 위축을 받으며 산란행위 자체를 잘 하려고 하지 않는다(Munro et al., 1997). 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 아주 중요한 문제이다. 본 실험에서 live rock이 부착기질로서의 선택성이 가장 낮은 이유는 불규칙적인 울퉁불퉁한 표면 때문으로 생각되며, 이것이 live rock에 부착된 모든 난들에게 산소가 고르게 잘 공급 되는 것을 방해하여 embryo가 살아있는 상태로의 유지를 어렵게 만들어 탈락률이 높아지는 것으로 보여진다. Red clay pot와 ceramic pot이 산란상으로서 산란수와 부화율이 가장 양호했던 이유는 균질의 산란상 표면이 알에 물의 흐름과 산소를 잘 공급되게 하고 또, 부착사에 의한 에너지 소실을 감소시켜 난막을 뚫고 나올때 부착사가 쉽게 떨어지도록 하였기 때문으로 판단된다. 부착기질에 난을 붙이는 종들은 특정한 기질을 더 선호하며, 이것은 난의 부착기질에서의 탈락방지와 포식자들로부터의 방어능력 향상을 위한 것으로 생각된다.

연속적으로 산란하는 어종들의 난질은 어미에게 산란직전, 혹은 산란기 동안 먹인 사료영양에 의해 직접적인 영향을 받는다(Izquierdo et al., 2001). 사료내 carotenoid 함량은 nest color, 부화율, 초기생존율, 유생성장, 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 carotenoid를 공급한 경우는 난의 색이 짙은 보라색을 나타내었고 산란수에 있어서도 더 좋은 결과를 보였다. Carotenoid 첨가 사료에 대한 유생생존율과 색소형성에 관한실험이 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

성숙과 산란을 조절하는 외부인자로 광주기, 수온, 먹이질과 영양 등이 있다 (Campos-Mendoza et al., 2004). Clownfish 종들은 성적 기능이 얼마나 지속되는지, 얼마나 장기간 동안 산란을 하는지 등은 아직 정확히 밝혀지지 않았으나, Hoff (1996)는 적어도 5년 이상은 지속되는 것 같다고 하였다. 최고의 산란기록을 가진 Instant Ocean Hacheries (1995)의 보고에 의하면 *A. ocellaris*는 20년, *A. peridon*은 21년 동안 산란을 지속했으며 *A. melanopus*는 58개월(4년10월) 동안 103회의 산란(한달평균 1.78회)을 했다는 보고도 있다(Hoff, 1996). 본 실험에서는 2004. 4. 19일 부터 2007년 4. 16일(3년) 까지 총 48회의 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 실험에서도 30℃ 부화율 70%는 24℃에서 부화율 40%와 비교하여 유의적인 차이를 나타내었으며, 이것은 온도 변화가 거의 없는 저위도 생물들은 연중 매우 안정적인 온도변화에 적응된 결과로 사료된다. *A. melanopus* 서식지의 연중 염분 변화는 31-35 psu로 큰 차이가 없는 염분환경에서 서식하는 관계로 배발생과 부화율에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 사료되나 본 실험에서의 결과에서는 33 psu 정도가 적염분인 것으로 나타났다. Instant Ocean Hatchery (1995)에서의 연구결과에 의하면 실내 부화장에서 광주기와 산란주기와는 아무런 관련이 없었으며 광주기가 가장 짧은 12월에 다른계절 보다는 산란을 더 많이 하였다고 한다.

A. melanopus 배발생에 관한 연구로는 Green (2004)의 배발생과 산소소비에 대한 것이 있으며, 배발생에 영향을 미치는 환경조건에 대한 실험은 거의 보고

된 바가 없었다. 그러나 본 실험의 결과에 의해 28℃, 33 psu, 6:18(L:D cycle)이 배발생의 최적 환경조건인 것으로 사료되며, 조도에 대한 실험이 더 진행되어야 할 것이다.

*A. melanopus*는 부화 16일경까지 변태가 거의 완료되어 바닥에 정착하며, 거의 완벽한 어미의 특징을 갖추게 된다. *A. melanopus*는 현재까지 연구된 물고기 중 유생발달 단계가 가장 빠른 어류종 하나이며 아주 잘 발달된 소화관과 먹이를 잡아서 먹을 수 있는 능력과 유영력을 가지고 부화한다. 난황은 부화 3일째에 완전히 흡수되며, 거의 대부분이 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 아주 빠르다.

Clownfish가 변태할 동안에는 몸에 많은 변화가 발생하여 몸이 완전히 변화한다. 비늘이 생기고 몸의 완전한 착색발달이 진행되며 지느러미연조, 부레가 완전히 제기능을 발휘하며, 장은 소화하기에 충분히 발달한다(Hoff, 1996). Wilkerson (1998)에 의하면 tail curling이 있는 후 1-2일 이내에 변태가 시작되며, 변태할 때가 되면 유생의 눈이 아주 잘 발달되어 강한 빛에도 견디며, 시야가 잘 발달되어 몸길이의 5배 정도까지 보인다고 한다. 본 실험에서 변태는 부화 8일째에 지느러미연조가 형성되고 어미와 같은 색체를 보였다. 변태가 시작될 때의 전장은 8 mm정도에서 시작되어 11 mm정도인 16일 전후에 거의 완료되어 타 어종에 비해 매우 빠른 변태를 함을 알 수 있었다.

V. 국문 요약

관상가치와 교재생물로서 교육적인 이용도가 높은 흰동가리속 Red and Black Clownfish *Amphiprion melanopus*의 인공종묘생산의 기초자료를 확보하기 위하여 실험실적인 규모에서 크게 산란, 부화 및 자어사육의 세단계로 나누어서 실험을 하였다.

1. 산란생태

한마리의 암컷이 2004. 4. 19 - 2007. 4. 16 까지 총 48번의 산란을 하였으며, 산란 직후의 수정난은 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 타원형이며 유백색으로 유구를 많이 가진 상태로 난막에 뽕여 배체의 동물극 쪽이 부착사에 의해 산란기질에 부착되어 있었다. 산란3일째에 연한 회색빛 보라색, 산란 5-6일째 진한 보라색으로 변해 부화가 가까워질수록 색이 더 진해졌으며, 부화 직전의 산란 8일째 수정난은 육안으로 눈과 안막의 반짝거림과 난황, egg sac이 꿈틀거리는 움직임이 나타났다. 수컷은 수정난이 부화할 때까지 산소공급과 부니가 붙지 않게 입과 지느러미로 물살을 일으키는 행동을 하였으며 이 과정에서 상태가 좋지 않은 알은 골라내고, 부화할 때가 거의 다 되었을 때에는 부화 직전의 것들을 떼어 먹는 것이 관찰되었다. 암컷은 수컷이 수정난을 보호하는 동안 멀리 떨어져서 다른 개체들이 접근하지 못하도록 하는 행동을 하였다.

산란주기와 달주기와 상관은 나타나지 않았다.

산란상에 대한 선택성은 red clay pot > ceramic pot > volcanic scoria > live rock으로 타나났으며, 부화율은 red clay pot에서 66%로 live rock 34%와 비교해 보았을때 유의적으로 높게 나타났다.

먹이종류에 대한 산란수는 tetra bits+바지락육질+진주담치육질+astaxanthin을 혼합하여 먹인 구간이 638 ± 16.04 개로 tetra bits만 공급한 구간 477 ± 28.96 개와

비교하여 유의적으로 높게 나타났다.

2. 부화생태

난발생과정은 산란 1일 이내에 body form이, 2일내에 눈, 가슴, 뇌, 척수가, 3일에는 몸통체절이 완전히 형성되고 embryo가 회전하여 머리가 부착사가 붙어 있지 않은 식물극 쪽으로 위치하였다. 4일에는 순환계의 완성과 완전한 혈액수송이, 5일에는 호흡기관의 발달, 미세혈관, 가슴지느러미가 형성되었다. 6일째에는 미성숙 턱과 아가미갈퀴, 가슴지느러미의 연장, 은막으로 뒤덮인 잘 발달된 눈과 입이, 7일째에는 아가미로 턱을 움직이는 것, 8일째에는 눈의 발달이 완성되어 반사판에 의한 안막의 반짝거림과 egg sac이 저절로 움직여 난막을 뚫고 나올 준비가 다 되었음을 보였다. 심장박동은 산란 3일부터 시작되었으며 5일째부터 부화할 때 까지 분당 165-170 회의 심장박동을 보였다.

온도, 염분, 광주기에 대한 부화일수와 부화율 실험에서는 28℃, 33 psu, 6:18 (L:D cycle)이 부화를 위한 배발생의 최적 환경요인인 것으로 나타났다.

3. 자어성장

갓 부화한 자어의 전장은 3.7~4.75 mm (mean 4.6 ± 0.14 , n=50)이며, 입과 항문은 열려 있으며, 눈과 장 주변에는 많은 색소가 침착되어 있었다.

유생의 성장은 부화1일부터 7일째까지는 4.6 ± 0.14 mm~ 7.47 ± 0.60 mm, 부화 8일부터 16일까지는 8.13 ± 0.60 ~ 11 ± 0.77 mm, 부화 20일에는 12.36 ± 0.85 mm, 부화 30일에는 18.83 ± 0.82 mm, 부화 70일에는 37.91 ± 2.26 mm로 성장하였다.

변태는 부화 8일째에 지느러미연조가 형성되고 7-11일 사이에 머리부분에 불분명한 white head bar와 어미와 같은 색체를 보이기 시작하였다. 부화 9-12일경에는 몸통에 불투명한 mid bar, 12-18일경에는 꼬리부터 불투명한 caudal bar가 나타나기 시작하였다. 변태는 전장 8 mm정도에서 시작되어 11 mm정도에서 완료되는 것으로 나타났다.

IV. 참 고 문 헌

- 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.
- Arvedlund, M., I. Bundgaard and L.E. Nielsen. 2000. Host imprinting in anemonefishes (Pisces: Pomacentridae): does it dictate spawning site preferences? Environ. Biol. Fish. 58, 203-213.
- 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.
- Burgess, W.E., H.R. Axelrod, R.E. Hunziker. 1988. Marine Aquaculture Fishes. T. F. H. Publication Inc., Neptune city. 768 pp.
- 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.
- Elliott J.K. and R.N. Mariscal. 2001. Coexistence of nine anemonefish species; differential host and habitat utilization, size and recruitment. Mar. Biol. 138, 23-36.
- Fenner, R.M. 1998. Marine Aquarist: A commonsense handbook for

- successful saltwater hobbyists. T. F. H. Publication Inc., Neptune city. 430 pp.
- Fisher, R. and D.R. Bwllwood. 2001. Effect of feeding on the sustained swimming abilities of late larval *Amphiprion melanopus*. Coral reefs 10, 125-132
- Gordon, A.K., H. Kaisew, P.J. Briyz and T. Hecht. 1998. Effect of feed type and age-at-weaning on growth and survival of clownfish, *Amphiprion percular* (Pomacentridae). Aquar. Sci. Conserv. 2, 215-226.
- Gordon A.K. and A.W. BOK. 2001. Frequency and periodicity of spawning in the clownfish *Amphiprion akallopisos* under aquarium conditions. Aquar. Sci. Conserv. 3, 307-313.
- Gordon, A.K. and T. Hecht. 2002. Histological studies on the development of the digestive system of the clownfish *Amphiprion percula* and the time of weaning. J. Appl. Ichthyol. 18, 113-117.
- Greathouse, R. and M. Moe. 2005. Preliminary experiments on breeding the blue devil damselfish, *Chrysiptera cyanea*, for commercial ornamental production. Proc. Gulf Caribbean 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. Exper. Mar. Biol. Ecol. 299, 115-132.
- Green, B.S., R.N Kenneth and A.M.I. McCormick. 2005. Position of within a cluth 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
- <http://www.fishbase.org>
- <http://www.ornamental-fish-int.org/marinespecies1.htm>.
- 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, *Tribolidon hakonensis*. Fish physiol. and 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.
- Johnston, G., H. Kaiser, T. Hecht and L. Oellermann. 2003. Effect of ration size and feeding frequency on growth, size distribution and survival of juvenile clownfish, *Amphiprion percula*. J. Appl. Ichthyol. 19, 40-43.
- 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.
- Mills, D. 2000. Encyclopedia of Aquarium Fish: A comprehensive visual directory of all the world's major aquarium fish breeds. Quarto Publication Inc., London. 224 pp.
- Mitchell, J.S. 2003. Mobility of *Stichodactyla gigantea* seae anemones and implications for resident false clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*. Environ. Biol. Fish. 66, 85-90.
- 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*. Japanese J. of Ichthyol. 32, 248-257.
- Olivotto, I., M. Cardinali, L. Barbaresi, F. Maradonna and O. Carnevali. 2003. Coral reef fish breeding: The secret of each species. Aquaculture 224, 69-78.
- Olivotto, I., A. Zenobi, A. Rollo, B. Migliarini, M. Avella and O. Carnevali. 2005. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. Aquaculture 250, 175-182.
- 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. Reviews in fish biology and fisheries. 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. Marine Ecology 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.
- Spotte, S. 1979, Fish and invertebrate culture: Water management in closed systems. Wiley-Interscience Publication, New York, 179 pp
- Theodore I.J. Smith et al. 1999. Broodstock management and spawning of southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. Aquaculture 176, 87-99.
- Tissot, B.N. and L.E. Hallacher. 2003. Effects of aquarium collectors on coral reef fishes in Kona, Hawaii. Conserv. 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.
- 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, 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. Amer. Fish. Soc. 127(6), 995-1005.

