

해적생물, 불가사리 퇴치를 위한 나팔고둥(*Charonia sauliae*)의 종보전 및 증식기법 개발

Studies on rearing techniques and species conservation of Trumpet shell, *Charonia sauliae* for Sea star control

주관연구기관	여수대학교
연구책임자	강경호
발행년월	2005-07
주관부처	환경부
사업관리기관	한국환경기술진흥원
NDSL URL	http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201100003003
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 15:20:36

저작권 안내

- ① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.
- ② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.
- ③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.
- ④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

제 출 문

환경부장관 귀하

본 보고서를 “해적생물, 불가사리 퇴치를 위한 나팔고둥(*Charonia sauliae*)의 종보전 및 증식기법 개발” (총 연구기간 : 2002년 12월 1일~2005년 5월 31일)의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 7월 29일

주관연구기관명 : 여수대학교

연구책임자 : 강경호

연구 원 : 김재민, 김병학
황성일, 김영훈
선승천, 이윤형
노평우

요 약 문

I. 제 목

해적생물, 불가사리 퇴치를 위한 나팔고둥(*Charonia sauliae*)의 종보전 및 증식기법 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1970년대 이후 패류양식은 기존의 굴, 홍합, 바지락 등에서 피조개, 새조개, 키조개, 전복, 가리비 등 새로운 품종의 양식이 추가 개발됨으로써 우리나라 동서남해안의 연안 양식장화가 가속화 되어가고 있다.

양식품종이 다양화되고 양식장도 확대되어 가는 과정에서 연안역은 양식생물의 고밀도화로 인하여 서식생물상의 변화로 인한 많은 문제가 발생되고 있다. 패류 양식장에 있어서도 예외는 아니어서 수질이나 서식지의 환경과는 별도로 불가사리에 의한 피해가 연안어민들에게 있어서 가장 큰 문제점으로 대두 되고 있는 실정이다. 실제로 동해안의 경상북도 공동어장의 경우 불가사리 피해가 크게 늘어서 전복, 성게, 우렁챙이, 해삼 등 종류를 가리지 않고, 엄청난 피해를 입히고 있는데, 전복의 경우 불가사리 1마리가 1년에 포식하는 양이 3~4 kg에 달하고, 불가사리에 의한 피해는 1999년 한 해동안 3천여 ha에 이른다. 따라서 연안 패류양식장의 불가사리의

포식에 의한 피해를 최소화하기 위해서는 불가사리의 구제방법에 대한 연구가 체계적으로 진행되어야 할 것이라 생각되어진다.

지금까지 불가사리 구제에 관한 많은 연구들이 진행되어 왔으나 이는 모두 어구어법에 의한 인위적 제거방법으로서 기하급수적으로 늘어나는 불가사리의 번식력을 감안할 때 어구어법에 의한 불가사리의 포획 방법은 한계가 있는 것으로 생각되며 지금까지 불가사리의 양이 줄어들지 않고 있는 것이 이를 대변한다. 이러한 점에서 볼 때 자연천적에 의한 불가사리 구제방법이 모색되어야 할 것으로 판단되며, 그 대상이 바로 나팔고둥이라고 생각된다.

나팔고둥은 우리나라의 남해안과 제주도, 필리핀, 인도네시아 등에 분포하는 수염고둥과로서 우리나라 북쪽류 중 가장 크고, 수심 20~30 m 깊이의 저질이 모래 또는 자갈이 많은 암초 지역에 서식하며, 육식성으로 불가사리를 먹이로 한다. 나팔고둥은 다른 북쪽류와 같이 포복이동을 하며, 불가사리 포식시 치설을 이용하여 포식한다. 이러한 나팔고둥은 예로부터 식용 및 약기로 이용되어져 왔으나, 우리나라에서의 어획량은 연간 몇 마리에 불과할 정도로 자원이 고갈되어 있는 실정이며, 환경부에 의해 멸종위기 동물로 지정되어 있다.

지금까지 나팔고둥의 번식생물학에 관한 기초연구는 전혀 이루어지고 있지 않았으며, 단지 불가사리의 포식능력이 크다는 연구결과가 있을 뿐이다. 나팔고둥의 불가사리에 대한 포식특성 실험 결과, 불가사리 외에 유용 패류는 포식하지 않은 것으로 나타나 나팔고둥을 이용한 불가사리 제거는 연안생태환경 복원 및 패류자원관리에 획기적 전환점을 마련해 줄 것이라고 확신한다.

해양생태계에서 불가사리는 패류를 먹이로 하는 해적생물로 제거 대상생물이다. 이러한 불가사리의 자연천적인 나팔고둥을 패류양식어장에 방류하는 것은 불가사리의 구제효과와 더불어 멸종위기 동물인 나팔고둥의 자원을 증대시키는 이중의 효과를 거둘 수 있게 될 것이다.

불가사리를 포식하는 나팔고둥에 관한 연구는 국외적으로 찾아 볼 수 없는

실정이고, 단지 유용 패류들을 포식하는 불가사리에 대한 보고만이 있을 뿐으로 1953년에 Bullock이 조간대에서 불가사리를 피해서 도피하는 복족류의 행동에 관한 연구를 시작으로, Ansell (1969)이 연체동물의 불가사리에 대한 방어기작에 관하여, Cameron and Endean (1982)이 불가사리류인 *Acanthaster planci*에 대한 포식특성, Babcock and Mundy (1992)이 불가사리의 생식생태에 관하여, 그리고 Laxton (1974)이 호주의 산호초에 서식하는 불가사리류 *Linckia laevigata*의 생물학적인 국내의 경우도 유용 패류에 대한 불가사리의 포식특성에 관한 연구(강 등, 2000)와 어구어법을 이용한 불가사리 구제에 관한 연구보고(박 등, 1997)가 대부분이다.

그러므로 본 연구에서는 나팔고둥의 종보전 및 증식기법의 전 단계로 나팔고둥의 분류 및 분포, 성숙과 산란, 난발생, 유생사육 및 치패사육, 포식특성 및 환경내성에 관하여 조사하였고, 종보전의 일환으로 나팔고둥 정자 및 부화유생의 동결보존을 하였다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 분류 및 분포

RAPD 변이 분석 결과, *Charonia*속에 속하는 나팔고둥과 담색나팔고둥에서 0.89로 가장 높은 유사도를 관찰 할 수 있었으며, *Charonia*속과 그 외 고둥에서는 0.12~0.17로 낮은 유사도를 보였다. 이것으로 미루어 볼 때 형태학적으로 나팔고둥과 담색나팔고둥은 *Charonia*속에 속하고 그 외 고둥은 *Tutufa*속, *Monoplex*속이므로 유전자 수준에서도 유연관계가 먼 것을 알 수 있었다.

우리나라 연안에서 나팔고둥은 제주도를 제외한 동해안, 서해안, 남해안에서는 분포하지 않는 것으로 조사되었으며, 제주도 지역에서도 서식 분포 개체수가 가장 많은 지역은 가파도-모슬포, 남원, 성산포를 잇는 제주도 남부 해역으로 가파도-모슬포를 포함하는 대정 해역의 경우 166마리, 한경 해역 42마리, 남원 해역은 50마리, 성산포 해역은 96마리가 채집되었다. 이에 반해 한림, 애월, 구좌 등의 제주도 북부 해역은 30마리 내외로 서식개체수가 낮게 분포하는 것으로 나타났다.

2. 성숙과 산란

나팔고둥의 교미와 산란행동을 조사한 결과, 2003년 11월에 최초로 교미하는 암수가 관찰된 이후 2004년 3월까지 이루어졌다. 암컷은 다회교미에 다회산란 하였고 산란은 2일동안 지속되었다. 산란한 어미는 난피에 붙어서 알을 보호하였고, 산란 중에도 교미는 이루어졌다. 산란시에는 3마리 또는 4마리 정도가 집단을 이루어 난피를 형성하였으며 공동으로 보호하였다.

3. 산란유발

산란행동 및 유발을 수온별로 조사한 결과, 15℃에서 실험 개시 후 13일후에 최초로 교미하는 암수가 관찰된 이후 실험 종료 시인 150일까지 이루어졌다.

개체당 수온별 교미횟수는 1월에 15℃에서 암컷 1.37회 수컷 7.3회로 가장 많았고, 20℃에서 각각 1.20회와 5.3회였으나 5℃와 30℃에서는 교미가 일어나지 않았다. 산란율은 15℃에서 30일 후 16.7%, 60일 후 33.3%, 90일과 120일 후 100%였다가 150일 후에는 30%로 낮아져 150일 이후에는 산란하지 않았고 20℃에서는 30일 후 16.7%, 60일 후 33%, 90일과 120일 후 90%였다가 150일 후에는 10%로 낮아져 150일 이후에는 산란하지 않았다.

산란율이 가장 좋은 15℃에서 전체 암컷이 실험개시 11월에 113개의 난낭을 산란하였고, 12월 345개, 1월에 1232개, 2월 1045개의 난낭을 산란하여 우리나라에서 나팔고둥의 산란기는 1월과 2월임을 알 수 있었다.

나팔고둥 유생은 난낭을 뚫고 부출하기까지 약 50~60일 정도의 기간이 소요되었으며, 각 수온구별 난낭의 생존율을 보면 15℃에서 62%, 20℃에서 40%, 25℃에서 18%, 10℃에서 10%순으로 나타나 난발생시 적정수온은 15℃라고 판단된다.

나팔고둥 치패의 수온별 성장을 조사한 결과, 15℃에서 30일 후 $491 \pm 23.65 \mu\text{m}$, 60일 후 $561 \pm 21.90 \mu\text{m}$ 의 성장과 23%의 생존을 보였고, 20℃에서 30일 후 $509 \pm 18.34 \mu\text{m}$, 60일 후 $625 \pm 19.76 \mu\text{m}$ 의 성장과 20%의 생존을 보여 유생사육 시 가장 적절한 수온은 15~20℃라 판단된다.

4. 난발생 및 치패사육

나팔고둥의 발생속도를 파악하기 위한 난발생과 유생의 성장 단계는 수정란, 4세포기, 8세포기, 상실기, trochophore, veliger, hatching veliger로 구분하였는데, 난낭을 뚫고 부화하기까지 약 50~60일 정도의 기간이 소요되었다.

나팔고둥 유생의 성장 실험을 한 결과, 실험개시시 평균체장 $408 \pm 21.52 \mu\text{m}$ 이던 유생의 30일 경과 후 성장과 생존율을 보면 각각 *Chaetoceros calcitrans* 공급구에서 $473 \pm 23.42 \mu\text{m}$ 로 가장 낮은 성장률을 보였으나 생존율은 25%로 가장 높았고, *Phaeodactylum tricornutum* 공급구에서 $502 \pm 24.13 \mu\text{m}$ 의 성장과 16%의 생존을 보였던 반면, *Tetraselmis seucica* 공급구에서 $491 \pm 20.53 \mu\text{m}$ 의 성장과 12%의 생존을 보였다.

5. 나팔고둥 유생의 먹이섭취 및 소화지수

먹이공급후 3시간째 먹이생물별 소화단계는 *C. calcitrans*, *I. galbana*, *P. lutheri*에서 세포용해 단계와 소화단계가 약 1:1의 비율을 보였고, *N. oculata*와 *T. seucica*는 변화가 없이 대부분 세포 용해단계 었다.

먹이공급후 5시간 짜 먹이생물의 종류별 소화단계는 실험구별 큰 차이 없이 대부분 소화단계였다. *I. galbana*, *P. lutheri*에서 평균 95%이상이 소화단계였고, 일부 배설하는 개체도 관찰되었다. 먹이공급 후 3시간과 5시간째 조사된 먹이생물의 종류별 소화지수는 비슷한 경향을 보였다. 8시간 후 모든 실험구에서 배설이 관찰되었고, *N. oculata*는 섭취는 되었지만, 0.6 이하로 비교적 소화가 부진한 것으로 관찰되었으며, 나머지 먹이생물에서는 소화지수 0.95 이상으로 소화가 활발하게 이루어졌다.

6. 먹이공급량에 따른 유생 및 치패의 성장

먹이공급량에 따른 나팔고둥 치패의 성장 및 생존을 조사한 결과, ml당 10^6 cell을 공급한 실험에서 실험개시시 $408 \pm 24.33 \mu\text{m}$ 이던 것이 30일 후 $522 \pm 32.5 \mu\text{m}$, 60일 후 $670 \pm 41.9 \mu\text{m}$ 로 성장하여 가장 높은 성장을 보였고, 13%의 생존율을

보였다. ml당 5×10^5 cell을 공급한 실험에서는 30일 후 $524 \pm 41.2 \mu\text{m}$, 60일 후 $668 \pm 32.5 \mu\text{m}$ 의 성장을 보였고, 생존율은 16%로 가장 높게 나타났다.

사육밀도별 성장 및 생존을 조사한 결과, 모든 실험에서 60일 후 670~680 μm 로 비슷한 성장을 보였고, 생존의 경우 ml당 1개체를 수용한 실험에서 60일 후 22%로 가장 높은 생존율을 보였다.

이러한 결과를 종합해 볼 때 나팔고둥 유생 및 치패사육시 최적 먹이공급량 및 사육밀도는 각각 1 ml당 5×10^5 cell 공급구와 1 ml당 1개체의 사육밀도로 판단된다.

7. 동결 보존

채정 직후 정액을 희석액별로 혼합하여 4°C로 유지한 다음, 보존 기간에 따른 Sperm activity index와 정자의 생존율을 조사한 결과, 정자의 생존율은 marine fish ringer solution에서 40.4%로 가장 높았으나, 0.5 M glucose에서 11.5%로 가장 낮았다.

동해방지제인 dimethyl sulfoxide의 농도에 따라 혼합한 정액을 액체질소에서 냉동보존하여 해동 직후의 생존율을 조사한 결과, 해동 직후 정자의 생존율은 평행시간을 1분 이내로 한 실험구에서는 dimethyl sulfoxide 20%의 농도에서 25.3%로 가장 높았고 dimethyl sulfoxide 40%에서는 5.4%로 가장 낮은 생존율을 보였다. 평행시간을 2분 이내로 한 실험구에서는 dimethyl sulfoxide 15%의 농도에서 33.7%의 생존율을 보여 평행시간 1분을 두었을 때보다 더 높은 생존율을 보였다.

냉동보존일수에 따른 부화유생의 생존율은 1일 후 dimethyl sulfoxide에서 $80.00 \pm 3.21\%$ 의 생존율을 보였던 반면, glycerol, 1,2-propanediol 및 ethylene glycol에서는

각각 $15.03 \pm 4.40\%$, $12.10 \pm 2.90\%$, $10.30 \pm 5.22\%$ 로 비슷한 결과를 보였다. 보관 15일째에도 dimethyl sulfoxide $77.30 \pm 5.00\%$, glycerol $14.10 \pm 3.10\%$, 1,2-propanediol $10.50 \pm 1.45\%$, ethylene glycol $8.60 \pm 0.70\%$ 로 비슷한 결과를 보여 냉동보존일수 따른 생존율의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다.

8. 환경내성

나팔고둥 어미의 수온과 염분에 대한 내성을 관찰한 결과 수온의 경우 $5 \sim 25^{\circ}\text{C}$ 의 실험구에서는 12시간의 실험종료시까지 100% 생존한 반면, 30°C 에서는 10시간째에 모두 폐사하였고, 35°C 에서는 실험개시 2시간 이내에 모두 폐사하였다.

염분내성 실험에서는 30‰에서 실험종료시인 40시간까지 100% 생존하였고, 20‰와 40‰구에서 실험종료시 각각 90%와 80%의 생존율을 보인 반면에 10‰에서는 10%의 생존율을 보였다.

유생의 수온내성 실험결과, $5 \sim 20^{\circ}\text{C}$ 구간에서 72시간 후 100% 생존하였고, 25°C 구에서도 실험개시 92%의 비교적 높은 생존율을 보였다. 또한 0°C 와 30°C 에서는 각각 12시간, 24시간 이후 모두 폐사하였다.

유생의 염분내성 실험을 한 결과, 자연상태와 비슷한 30‰와 40‰ 구에서 100%로 가장 높은 생존율을 보였고, 20‰와 50‰ 구에서도 92%, 94%로 비교적 높은 생존율을 보인 반면 10‰와 70‰ 구에서는 실험개시 6시간 이후 폐사하였다.

9. 포식특성

나팔고둥의 먹이 선택성을 조사하기 위해 혼합수용한 실험구에서는 불가사리류를 우선 선택하여 포식하였고, 그 뒤를 이어 해삼을 포식하였으며, 말뚝성게와 보라성게는 공격하여 폐사시켰으나 포식하지는 않은 반면 전복, 피조개, 바지락에 대해서는 포식행동을 보이지 않았다. 또한 본 실험에서 가장 먹이선호도가 좋았던

별불가사리를 대상으로 먹이 포식 과정을 관찰한 결과 불가사리에 대해서 입수 후 즉시 반응을 보였으며, 불가사리를 완전히 포식하는데 걸리는 시간은 3시간 정도 소요되었다.

10. 모패사육

실내사육한 나팔고둥의 성장을 알아보기 위하여 2003년 7월부터 2004년 3월까지 외부적 형태를 측정하였는데 각장과 각폭의 변화는 거의 없었던 반면 전중의 변화는 시간이 지남에 따라 전체 개체수와 대비하여 750 g이상의 개체수가 많이 분포하는 것을 알 수 있었다.

V. 연구개발결과의 활용계획

남해안은 세계적인 청정해역일 뿐만 아니라, 천혜의 바다 여건상 연안 간석지의 저층역을 이용한 패류양식과 갯지렁이 및 개불 등의 양식으로 나가는 것이 매우 효과적이라 생각된다. 따라서 어류양식보다는 패류를 포함하는 무척추동물양식을 활성화 시켜 나가는 것이 보다 안정적으로 양식어업인의 소득을 향상 시킬 수 있다고 생각된다. 이러한 관점에서 불가사리의 천적, 나팔고둥의 인공종묘가 대량으로 생산될 경우, 현재 해저 생태계를 심각하게 파괴하고 있는 해적생물인 불가사리를 제거함으로써 어업인들의 소득 증대와 해양환경 보전에 기여할 것이라 판단된다.

불가사리의 천적, 나팔고둥의 인공종묘에 의한 불가사리의 퇴치효과가 이루어질 경우, 산업 및 교육현장에서 연구결과로 얻어진 학술적 지식을 강의재료로 활용할 수 있고, 현재 멸종위기 동물인 나팔고둥 자원의 증강에도 이바지할 것으로 기대된다.

S U M M A R Y

I . Title

Studies on rearing techniques and species conservation of Trumpet shell, *Charonia sauliae* for Sea star control

II . Object and significance

In the shell farming, the aquacultural industry on the coast of Korea has rapidly developed since the 1970s, as new types of species, such as the ark shell, purple shell, abalone and scallop, besides the existing oyster, sea mussel and manila clam, have been developed for aquaculture.

However, as aquacultural species are diversified and fish farms are increased in size, coastal areas are suffering diverse problems, such as habitants changed by overpopulated aquaculture organism. Shell farms are not free from the problem, The starfish, apart from the water quality or habitat environment, is bringing about the most serious problem to fishermen on the coast.

Although there have been a number of studies on how to remove the starfish, they all suggested only artificial methods to remove the starfish through fishing gear, which is limited to handle the starfish increasing in a geometrical progression. The fact the number of the starfish has not been changed supports it. In the sense, it is desirable to seek other methods to

handle the starfish such as using its natural enemy which is the trumpet shell.

The trumpet shell, one of the Cymatidae creatures distributed over the south coast and Jeju Island of Korea, the Philippines, and Indonesia, is the biggest among the gastropoda in Korea, inhabiting mainly in sandy or graveled reef 20-50 m deep below the water surface and preying on the starfish. Although the trumpet shell has been utilized as food and material of craft works for long time, the catch in Korea is merely several a year, even designated as endangered species by the Ministry of Environment.

There has been no research carried out on breeding biology of the trumpet shell, except the well-known fact it usually eats the starfish. In the respect, this research is aimed at studying classification, distribution, maturation, spawning, egg development, larval culture, predation and environmental tolerance of the trumpet shell, in preparation for its artificial seed production, as well as sperms of the trumpet shell and cryopreservation of larvae, as part of bio conservation.

III . The contents and result of the study

1. Classification and distribution

Charonia lampas macilenta is a from of the preceding species living on soft bottom of 50-250 m deep. Color paler and nodules less prominent. Both forms are now considered to be local populations of cosmopolitan *Charonia lampas*.

Trumpet shell was not found anywhere in the Korean coastal area, not in

the east coast, the west coast, or the south coast except Jeju-do. And from Jeju-do, the area with the most habitat distribution was in the southern coastal area that leads from Gapa-do, Moseul-po, Namwon, to Seongsan-po. For the Daejeong sea area, our survey result showed that the 166 trumpet shells were caught in Gapa-do and Moseul-po, 42 shells for the Hangyeong sea area, 50 shells for the Namwon sea area, and 96 shells for the Seongsan-po sea area. On the contrary, the northern coast of Jeju-do including Hanlim, Aewol, and Gujwa had much less distribution for habitat numbers with around 30 shells.

2. Reproductive cycle

As a result of surveying the fecundation and fertilization behaviors of the trumpet shell, the activities were observed after observing a pair of male and female having the fecundation for the first time in November 2003 and to March 2004. Female has multiple fecundation and multiple fertilization, and the fertilization continued for two days. The fertilized female stayed with the egg mass to protect the eggs, and the fecundation was made during the fertilization. During the fertilization, 3 or 4 shells made a group to form the egg mass and they jointly protected the eggs.

3. Spawning induction

As a result of observing spawning activity and induction by water temperature, a female and male were found in fecundation on the 13th day of the experiment in 15°C, which continued to the 150th day when the experiment ended.

As for the number of fecundation of each trumpet shell by temperature, it turned out that 15°C was the most optimal temperature with fecundation of 1.37 for female and 7.3 for male in January, followed by 20°C with 1.20 and 5.3 for female and male respectively, and 5°C and 30°C with no fecundation found. The spawning rate was 16.7% on the 30th day, 33.3% on the 60th, and 100% on the 90th and 120th, to be reduced to 30% on the 150th, 0 after the 150th day in 15°C. In 20°C, it was 16.7%, on the 30th day, 33% on the 60th, and 90% on 90th and 120th, to be reduced to 10% in 150 days and 0 in 150 days.

It turned out that 15°C is the most appropriate temperature for spawning, where all females spawned 113 egg capsules in November when the experiment started, followed by 345 in December, 1232 in January, and 1045 in February, indicating the spawning period of the trumpet shell in Korea is January and February.

It took about 50–60 days for a trumpet shell larva to swim out of an egg capsules. When it comes to the survival rate of the egg capsules by temperature, it was 62, 40, 18 and 10% in 15°C, 20°C, 25°C and 10°C respectively, suggesting the optimal temperature for egg development is 15°C.

As a result of observing growth of the trumpet shell spat by temperature, it was $491 \pm 23.7 \mu\text{m}$ in 30 days and $561 \pm 21.9 \mu\text{m}$ in 60 days, with 23% of survival rate, in 15°C. In 20°C, it was $509 \pm 18.3 \mu\text{m}$ and $625 \pm 19.8 \mu\text{m}$, in 30 and 60 days respectively, showing the most optimal temperature for larval culture is 15–20°C.

4. Egg development and spat rearing

The eight-cell stage was reached within 8 days at 20 °C. Trochophore stage

larvae were obtained at about 12 days postfertilization and trochophore larvae were hatching commenced at 14 days. The veliger larvae began to swim vigorously within the egg capsule, which resulted in the bursting of the membrane at 54 days. Free-swimming veliger larvae were positively phototactic and had a tendency to gather at the culture surface. They measured about 400 μm in length. The apical region of larvae became flat and the velum was completely developed with long cilia. Larval shell covered the body just below the velum. In the late veliger larvae, the foot mass protrudes to the top of the shell and the larval shell is completely developed. The highest survival rate of egg capsule was 60% at 15°C.

The result of growth and survival rate of *Charonia lampas sauliae* larvae after supplying the most nutritious food *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* for invertebrates, at the beginning of the experiment the average body length was $408 \pm 21.5 \mu\text{m}$, after finishing the experiment, it was $683 \pm 42.7 \mu\text{m}$ the highest growth at 25°C group.

5. Digestion index of trumpet shell larvae

As for digestion in 3 hours after feeding, both cell dissolution step and digestion step were found 1:1 when feeding *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana* and *Pavlova lutheri*, while cell dissolution step was mostly seen when feeding *Nannochloris oculata* and *Tetraselmis seucica*.

In 5 hours after feeding, digestion step was mainly observed in all experiments. When fed with *I. galbana* and *P. lutheri*, over 95% on average was found at digestion step, and some even excreted. The similar tendency was seen in the digestive index produced 3 and 5 hours after feeding. In 8

hours, all objects were seen excrete, digestion of *N. oculata* was relatively inactive with the digestion index below 0.6, and other food digestion was active with the digestion index over 0.95.

6. Growth of spats on food organism concentration

As for growth and survival of the spat depending on feeding amount, they were $408 \pm 24.3 \mu\text{m}$ when the experiment started to grow into $522 \pm 32.5 \mu\text{m}$ and $670 \pm 41.9 \mu\text{m}$ in 30 and 60 days respectively when giving 10^6 cell per ml, with the survival rate at 13%. When giving 5×10^5 cell per ml, they developed into $524 \pm 41.2 \mu\text{m}$ and $668 \pm 32.5 \mu\text{m}$ 30 and 60 days later respectively, with the highest survival rate of 16%.

In terms of growth and survival rate by cultural population, they grew into 670~680 μm in 60 days in all experiments, and survived 22% in 60 days in the experiment with 1 spat per ml, with the highest survival rate of 22%.

Given those results, it is believed that the optimal feeding amount and cultural population when culturing spat and larva of the trumpet shell are 5×10^5 cell per ml and 1 per ml, respectively.

7. Cryopreservation

This study was conducted to improve the cryopreservation of trumpet shell larvae and to assess the survival rate of thawed larvae of trumpet shell in this study, trumpet shell larvae were respectively diluted in four cryoprotectants (dimethyl sulfoxide, glycerol, 1,2-propanediol and ethylene glycol) with two

different concentrations of 1.5 M and 2.0 M. Then the diluents were frozen using liquid nitrogen vapour in program freezer for controlled rate freezing, finally plunged into liquid nitrogen at the temperature of -196°C for storage. After stored for different periods (1 hour, 1 day, 7 days, 15 days), the larvae were thawed and experienced 20 minute equilibration time and the survival rates were estimated. After storage for 1 hour, the best result was obtained using 1.5 M dimethyl sulfoxide and then 2.0 M dimethyl sulfoxide, but the survival decreased as the time elapsed. After storage for long time (1day, 7 days, 15 days) thawed larvae using 1.5 M dimethyl sulfoxide showed the best result than using other three cryoprotectants at the same concentration of 1.5 M, and the same result was achieved in the group at the concentration of 2.0 M. Besides 1,2-propanediol the 1.5 M group displayed the better result than the 2.0 M group. There was no obvious difference for cryopreservation of larvae from 1 day to 15 days.

8. Environmental tolerance

As a result of observing the tolerance on water temperature and salinity of adult trumpet shells, it showed that, in the event of water temperature, 100% survived in the $5-25^{\circ}\text{C}$ until the experiment was completed, however, on the other hand, all died at 0°C after 8 hours after experiment began. In addition, at the water temperature of 30°C , all died by the 10th hour from the commencement of the experiment.

In the salinity tolerance experiment, 100% survival was observed at 30‰ for 40 hours, the completion time of the experiment, while showing 90% and 80% of the survival rate at 20‰ and 40‰, respectively.

As a result of the water temperature tolerance experiment of larvae, 100% survival rate was shown after 72 hours at the temperature of 5–20°C, and a relatively high survival rate was shown with 92% at the temperature of 25°C. In addition, at 0°C and 30°C, they all died within 12 hours and 24 hours, respectively.

As a result of making salinity tolerance experiment after setting the water temperature at 20°C where the survival rate was highest, the highest survival rate was shown with 100% at 30‰ and 40‰ where it was similar to the natural condition, and a relatively high survival rate was shown at 20‰ and 50‰ with 92% and 94%, respectively. On the other hand, they all died at 10‰ and 70‰ after 6 hours from the beginning of the experiment, and at 0‰ and 80‰ of salinity, they lost the vitality immediately from the beginning of the experiment and showed a little movement on the bottom and died within one hour.

9. Predation

In this experiment, we cultured *Charonia* sp. with various invertebrate prey, including the starfish, *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis*, abalone (*Haliotis discus hannai*), Ark shell (*Anadara broughtonii*) and Manila clam (*Tapes philipinarum*), as well as the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus* and *Anthocardia crassispina*, to perform some preliminary investigation to characterize predation in this trumpet shell. We divided the trumpet shells into three groups to form a large group, a middle group and a small group. When the various prey were introduced into the tanks, predation of the trumpet shell on the prey was observed. The intensity of predation was calculated as the

weight of the prey (g) at intervals of 5 days.

During the entire experiment, the predation of trumpet shells on economically important shellfish, including *Anadara broughtonii*, *Tapes phillipiarum* and *Haliotis discus hannai*, was not observed. Thus, the trumpet shells fed on only other 8 kinds of prey. In the six groups, the sea star, e.g. *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis*, was most preferred by the trumpet shell. At the end of the experiment (30th day), the large group of *Charonia lampas sauliae* consumed 1935 g of the sea star, *Asterina pectinifera*, which was the highest amount in the six groups. The small group of *Charonia lampas macilenta* only consumed 164 g of *Asterina pectinifera*, which was the lowest value. In with respect to predation on *Asterias amurensis*, the large group of trumpet shells from *Charonia lampas macilenta* consumed the highest weight, 1952 g. In the small group of *Charonia lampas sauliae*, consumption was only 213 g, the lowest value.

10. Growth of adult

As a result of surveying the growth of trumpet shells while breeding them in indoor laboratory, for *Charonia lampas sauliae*, the average total weight at the time of commencing the experiment in July 2003 was 654.2 g, but it was enlarged to 672.6 g after 60 days, 692.4 g after 120 days with the increase of approximately 40 g in the total weight, but it was 660.3 g after six months, in January 2004, and it had 642.3 g after 8 months, in March that the average total weight rather had the decline. The case of *Charonia lampas macilenta* showed the similar trend, and the cause of such trend is deemed to be resulted by the reduction of weight following the calculation of eggs in the fertilization

period.

IV. Suggestion for the practical application of this study

If artificial seed production of the trumpet shell in large quantities is possible in near future, it will highly contribute to higher income of fishermen and cleaner maritime environment by removing the starfish which is seriously undermining the submarine ecosystem. If the starfish is thoroughly wiped out through artificial seed production of the trumpet shell, a main enemy of the starfish, it is expected that academic knowledge drawn from diverse researches conducted in industrial and educational environment can be utilized as lecture material, and the number of the endangered trumpet shell can be efficiently increased.

The trumpet shell, a large gastropoda preying on the starfish, is the only marine invertebrates among endangered species designated by the Environmental Ministry as well as a species to be strictly protected by the world. With few studies done on culturing method of the trumpet shell worldwide, this is the first one about bio conservation and production of the trumpet shell. Since it takes more time to carry out larval culture of the trumpet shell which is more likely to fall a victim to its enemies, only a few are settled and largely perish in high temperature in the summer season. Therefore, it is recommendable to install high-performing facilities, such as aquatic plant keeping constant temperature. Besides, even settled trumpet shells may become prey to sea breams and puffers, so they need to be cultured over

5 cm before released.

In the regard, it is desirable to conduct more researches on production and bio conservation of the endangered trumpet shell on a long-term basis under governmental support.

C O N T E N T S

Chapter 1. Introduction	1
Chapter 2. The present state of technique	1
Chapter 3. The contents and result of the study	1
Section 1. Research of classification and distribution	
1. Material and methods	
1) Classification	
2) Distribution	
3) Habitat environment	
2. Result and discussion	
1) Classification	
2) Distribution	
3) Habitat environment	
Section 2. Reproductive cycle	
1. Material and methods	
2. Result and discussion	
Section 3. Spawning induction	

1. Material and methods	
2. Result and discussion	
1. Material and methods	
2. Result and discussion	
Section 5. Larval feeding and digestion index	
1. Material and methods	
2. Result and discussion	
Section 6. Growth according to food organism concentration and larval densities	
1. Material and methods	
2. Result and discussion	
Section 7. Cryopreservation	
1. Material and methods	
1) Cryopreservation of sperm	
2) Cryopreservation of larvae	
2. Result and discussion	
1) Cryopreservation of sperm	
2) Cryopreservation of larvae	
Section 8. Environmental tolerance	
1. Material and methods	
2. Result and discussion	

Section 9. Predation	
1. Material and methods	
2. Result and discussion	
Section 10. Rearing of brood stock	
1. Material and methods	
2. Result and discussion	
Section 11. Discussion	
Chapter 4. Research achievement and contribution	1
Chapter 5. Application	1
Chapter 6. Reference	1

목 차

제 1장 서론	1
제 2장 국내외 기술개발 현황	1
제 3장 연구개발수행 내용 및 결과	1
제 1절 분류 및 분포조사	
1. 재료 및 방법	
가. 분류	
나. 분포	
다. 서식환경조사	
2. 결과 및 고찰	
가. 분류	
나. 분포	
다. 서식환경조사	
제 2절 생식주기 조사	
1. 재료 및 방법	
2. 결과 및 고찰	
제 3절 산란유발	

1. 재료 및 방법	
2. 결과 및 고찰	
제 4절 난발생 및 치패사육	
1. 재료 및 방법	
2. 결과 및 고찰	
제 5절 나팔고둥 유생의 먹이섭취 및 소화지수	
1. 재료 및 방법	
2. 결과 및 고찰	
제 6절 먹이공급량과 수용밀도에 따른 치패의 성장	
1. 재료 및 방법	
2. 결과 및 고찰	
제 7절 동결보존	
1. 재료 및 방법	
가. 정자의 동결보존	
나. 부유유생의 동결보존	
2. 결과 및 고찰	
제 8절 나팔고둥의 환경내성	
1. 재료 및 방법	
2. 결과 및 고찰	
제 9절 나팔고둥의 포식특성	
1. 재료 및 방법	

2. 결과 및 고찰	
제 10절 모폐사육	
1. 재료 및 방법	
2. 결과 및 고찰	
제 11절 종합고찰	
제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	1
제 5장 연구개발결과의 활용계획	1
제 6장 참고문헌	1

제 1장 서론

1970년대 이후 패류양식은 기존의 굴, 홍합, 바지락 등에서 피조개, 새조개, 키조개, 전복, 가리비 등 새로운 품종의 양식이 추가 개발됨으로써 우리나라 동서남해안의 연안 양식장화가 가속화 되어가고 있다.

양식품종이 다양화되고 양식장도 확대되어 가는 과정에서 연안역은 양식생물의 고밀도화로 인하여 서식생물상의 변화로 인한 많은 문제가 발생되고 있다. 패류 양식장에 있어서도 예외는 아니어서 수질이나 서식지의 환경과는 별도로 불가사리에 의한 피해가 연안어민들의 두통거리가 되고 있는 실정이다. 실제로 동해안의 경상북도 공동어장의 경우 불가사리 피해가 크게 늘어서 전복, 성게, 우렁챙이, 해삼 등 종류를 가리지 않고, 엄청난 피해를 입히고 있는데, 전복의 경우 불가사리 1마리가 1년에 포식하는 양이 3~4 kg에 달하고, 불가사리에 의한 피해는 1999년 한 해 동안 3천여 ha에 이른다. 따라서 연안 패류양식장의 불가사리의 포식에 의한 피해를 최소화하기 위해서는 불가사리의 구제방법에 대한 연구가 체계적으로 진행되어야 할 것이라 생각되어진다.

지금까지 불가사리 구제에 관한 많은 연구들이 진행되어 왔으나 이는 모두 어구어법에 의한 인위적 제거방법으로서 기하급수적으로 늘어나는 불가사리의 번식력을 감안할 때 어구어법에 의한 불가사리의 포획 방법은 한계가 있는 것으로 생각되며 지금까지 불가사리의 양이 줄어들지 않고 있는 것이 이를 대변한다. 이러한 점에서 볼 때 자연천적에 의한 불가사리 구제방법이 모색되어야 할 것으로 판단되며 그 대상이 바로 나팔고둥이라고 생각된다.

나팔고둥은 우리나라의 제주도, 필리핀, 인도네시아 등에 분포하는 수염고둥과로서 우리나라 복족류 중 가장 크고 수심 20~30 m 깊이의 저질이 모래 또는 자갈이 많은 암초 지역에 서식하며 육식성으로 불가사리를 먹이로 한다. 이러한 나팔고둥은 예로부터 식용 및 약기로 이용되어져 왔으나, 우리나라에서의 어획량은 연간 몇 마리에 불과할

정도로 자원이 고갈되어 있는 실정이며 환경부가 지정한 멸종위기 동물이다.

지금까지 나팔고둥의 번식생물학에 관한 기초연구는 전혀 이루어지고 있지 않았으며 단지 불가사리의 포식능력이 크다는 연구결과가 있을 뿐이다. 나팔고둥의 불가사리에 대한 포식특성 실험 결과, 불가사리 외에 유용 패류는 포식하지 않은 것으로 나타나 나팔고둥을 이용한 불가사리 제거는 연안생태환경 복원 및 패류자원관리에 획기적 전환점을 마련해 줄 것이라고 확신한다.

해양생태계에서 불가사리는 패류를 먹이로 하는 해적생물로 제거 대상생물이다. 이러한 불가사리의 자연천적인 나팔고둥을 패류양식어장에 방류하는 것은 불가사리의 구제효과와 더불어 멸종위기 동물인 나팔고둥의 자원을 증대시키는 이중의 효과를 거둘 수 있게 될 것이다.

불가사리를 포식하는 나팔고둥에 관한 연구는 국외적으로 찾아 볼수 없는 실정이고, 단지 유용 패류들을 포식하는 불가사리에 대한 보고만이 있을 뿐으로 1953년에 Bullock이 조간대에서 불가사리를 피해서 도피하는 복족류의 행동에 관한 연구를 시작으로, Ansell (1969)이 연체동물의 불가사리에 대한 방어기작에 관하여, Cameron and Endean (1982)이 불가사리류인 *Acanthaster planci*에 대한 포식특성, Babcock and Mundy (1992)이 불가사리의 생식생태에 관하여, 그리고 Laxton (1974)이 호주의 산호초에 서식하는 불가사리류 *Linckia laevigata*의 생물학적인 국내의 경우도 유용 패류에 대한 불가사리의 포식특성에 관한 연구(강 등, 2000)와 어구어법을 이용한 불가사리 구제에 관한 연구보고(박 등, 1997)가 대부분이다.

그러므로 본 연구에서는 나팔고둥의 종보전 및 증식기법의 전 단계로 나팔고둥의 분류 및 분포, 성숙과 산란, 난발생 및 유생사육, 포식특성 및 환경내성에 관하여 조사하였고, 종보전의 일환으로 나팔고둥 정자 및 부화유생의 동결보존에 관하여 조사하였다.

제 2장 국내외 기술개발 현황

1) 국외

지금까지 나팔고등에 대한 연구는 산호가 군락을 이루는 생태계에서의 위치 및 서식생태에 관한 연구(Cameron and Endean, 1982), tetrodotoxin에 관한 연구와 본 종과 유사한 *Charonia*속의 산란생태에 관한 연구 (Shimoike, 1997; Lelong, 1993; Cazaux, 1972; Percharde, 1972; 藤田, 1987)를 제외하면 전무한 실정으로 멸종위기종인 본 종의 보존 및 증식을 위한 적극적인 노력은 시도되어지지 않았다. 이러한 원인은 세계적으로 보호받고 있는 나팔고등의 모패확보가 어려울 뿐만 아니라 본 종의 번식생태가 다른 종과 달리 특이성을 가지고 있어 증식에 관한 연구가 계속적으로 이어지지 못하였고, 이는 멸종위기종이 된 배경과 무관하지 않다. 따라서 나팔고등의 종 보존 및 증식기법개발에 관한 본 연구 결과로 산란 후 5개월까지의 치패를 생산할 정도로 기술적으로 많은 진보를 이루었으며 본 연구수행 시 문제점들을 개선하여 향후 계속적으로 연구가 진행 된다면 체계적인 인공종묘생산의 공정을 구축할 수 있을 것이라 생각된다.

2) 국내

국내의 경우 나팔고등은 환경부가 지정한 멸종위기동물로 이에 관한 연구는 전혀 시도되어지지 않았고 본 연구팀에서 수행한 연구결과가 국내뿐만 아니라 세계적으로도 나팔고등에 관한 가장 선진적인 연구로 생각되어진다. 현재 나팔고등에 관한 연구는 생물학적 종 다양성을 위한 종 보존 차원에서 유생을 동결하여 보존하고 있고, 증식기법 개발의 일환으로 생식주기, 난 발생 및 치패사육에 관한 전반적인 연구를 수행했다. 다만 나팔고등을 포함한 수염고등과 고등의 유생기간이

길고 사육 또한 까다로워 사계절이 뚜렷한 우리나라의 기후에서는 본 중의 사육을 위한 사육시설의 개발이 이루어져야 할 것이라 생각된다. 그러나 이러한 나팔고둥의 사육방법 및 사육시설의 개발은 끊임없는 실험의 결과로 얻어지는 만큼 그에 따른 연구비 지출이 불가피하다. 따라서 나팔고둥의 완전한 증식기법 공정의 체계를 구축하기 위해서는 본 연구의 지속적인 지원이 필요할 것이라 생각된다.

제 3장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 분류 및 분포 조사

1. 재료 및 방법

가. 형태적 분류

형태적 분류에 사용한 나팔고둥(*Charonia lampas sauliae*)과 담색나팔고둥(*Charonia lampas macilenta*)은 제주도 연안에서 스쿠버다이빙과 대형 기선저인망에 의하여 채집한 모패로서, 여수대학교 양식학과 복원생태학실험실로 운반하여 패각에 부착한 잡물들을 세척 후 각장, 각고 및 전중을 계측하였다.

나. RAPD 변이 분석

DNA 추출을 위하여 실험생물의 근육조직을 액체질소가 든 막자사발에서 분쇄하였다. 분쇄된 시료는 microtube에 약 35 mg을 정량하여 넣고 extration buffer [10 mM Tris · Cl(pH 8.0), 0.1 M EDTA (pH 8.0), 20 μ g/ml pancreatic RNase, 0.5% SDS]를 첨가하여 37°C에서 1시간동안 보관 후 2 mg/ml인 proteinase K를 최종농도 100 μ g/ml가 되도록 첨가하여 50°C water bath에서 3시간 동안 방치하였다. 그 후 phenol을 1:1 volum으로 첨가하여 10분간 교반한 다음 상층액을 수거하여 3 M sodium acetate 10 μ l와 100% EtOH를 1:1로 첨가하였고 -20°C에서 30분간 방치한 후 4°C에서 13,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA는 70% EtOH로 세정한 후 13,000 rpm으로 4°C에서 5분간 원심분리하여 다시 침전시킨 후 30 μ l 3차 멸균 증류수에 녹여서 4°C에 보관하였다.

Table 1. Sequence of arbitrary primers used in the experiment

Primer	Size(mer)	Sequence	G+C content(%)	T _m (°C)
OPD-01	10	5' -CAGGCCCTTC	70	34
OPD-02	10	5' -TGCCGAGCTG	70	34
OPD-03	10	5' -AGTCAGCCAC	60	32
OPD-04	10	5' -AATCGGGCTG	60	32
OPD-05	10	5' -AGGGGTCTTG	60	32
OPD-06	10	5' -GGTCCCTGAC	70	34
OPD-07	10	5' -GAAACGGGTG	60	32
OPD-08	10	5' -GTGACGTAGG	60	32
OPD-09	10	5' -GGGTAACGCC	70	34
OPD-10	10	5' -GTGATCGCAG	60	32
OPD-11	10	5' -GTGATCGCAG	60	32
OPD-12	10	5' -TCGGCGATAG	60	32
OPD-13	10	5' -CAGCACCCAC	70	34
OPD-14	10	5' -TCTGTGCTGG	60	32
OPD-15	10	5' -TTCCGAACCC	60	32
OPD-16	10	5' -AGCCAGCGAA	60	32
OPD-17	10	5' -GACCGCTTGT	60	32
OPD-18	10	5' -AGGTGACCGT	60	32
OPD-19	10	5' -CAAACGTCGG	60	32
OPD-20	10	5' -GTTGCGATCC	60	32

※ Estimating value calculated as $T_m = 4 (G+C) + 2 (A+T)$.

또한 20가지로 된 10-mer arbitrary primer kit A(Operon Technologies Inc. California)중에서 Table 1과 같이 20개의 primer를 이용하여 PCR반응을 하였으며, 20 μ l의 PCR반응액은 Premix-Top (Bioneer inc.)을 사용하여 1 μ l의 template DNA (3 ng/ μ l), 1 μ l의 primer(5 pM/ μ l)와 3차 멸균 증류수 18 μ l를 첨가하여 구성하였다. GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer Applied Biosystems)을 사용하여 94℃에서 5분간 1회 denature한 후, 94℃에서 30초간 denature, 34℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 30초간 extension을 35회 실시하고 나서, 최종 72℃에서 5분간 extension하였다.

PCR 증폭산물은 1% agarose gel에서 100V, 30분간 전기영동하여 ethidium bromide로 염색한 뒤 UV transilluminator 위에서 육안으로 확인 후 image-analyzer에서 촬영하였다.

유사도는 predominant band가 각 개체에 대하여 동일하게 생성되는지의 여부에 따라 Jaccard의 식, 즉 $C_j = j/(a + b - j)$ 에 의해 계산하였다. 여기에서 j는 비교되는 두 분리주 A와 B에서 공통으로 나타나는 밴드의 수이고 a, b는 A와 B에서 각각 나타난 총 밴드 수이다(Sneath and Sokal, 1973).

다. 서식지 분포

나팔고둥의 서식지 분포 조사는 2002년 12월부터 2003년 11월까지 예비 조사 후 본 조사를 실시하였다. 예비 조사의 경우 동해안은 강원도 고성, 경상북도 울진을 조사하였고, 서해안은 전라북도 부안, 충청남도 태안, 남해안은 전라남도 완도, 여수와 경상남도 통영, 제주도 대정 등의 주요 어촌계별로 스쿠버다이빙 및 자망을 설치하여 분포 유무를 조사하였다. 본 조사는 예비 조사 결과를 토대로 나팔고둥이 깊은 수심에 서식하는 것을 고려하여 자망을 설치하였고, 대정, 남원, 성산포, 구좌, 애월, 한림, 한경 등 지역별로 월별 어획량을 조사하였다.

라. 서식지 환경

서식지 환경조사는 2003년 1월부터 2003년 12월까지 제주도의 나팔고둥 서식 해역인 대정, 남원, 성산포, 구좌, 애월, 한림, 한경 등 7개 정점을 정하여 수온, 염분, 수소이온농도, 용존산소, 총질소, 총인, 부유물질 등을 해양환경 공정실험법에 준하여 조사 및 분석하였다(Fig. 1).

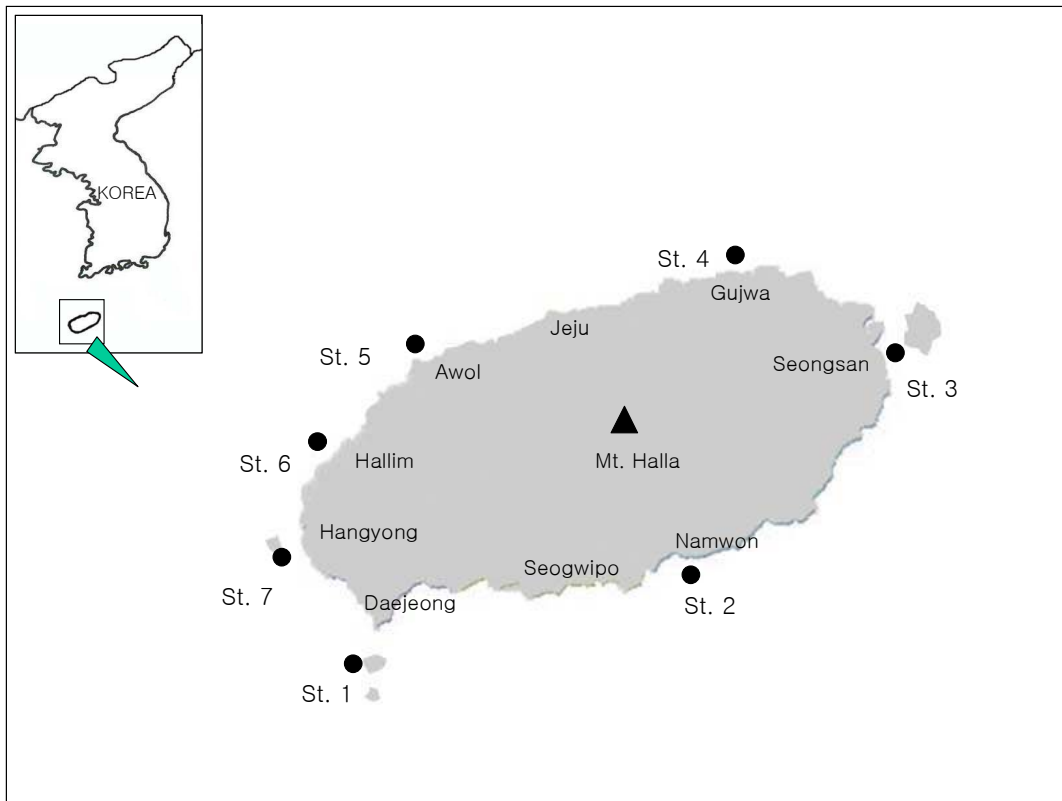


Fig. 1. Map showing the sampling stations.

2. 결과 및 고찰

가. 형태적 분류

◆ 나팔고둥 *Charonia lampas sauliae* (Reeve, 1844)

수심 20~50 m에 서식하고, 패각은 중대형, 나탑은 높은 원추형, 나층은 8층이다. 태각과 위의 나층은 주홍색이고 체층을 비롯한 아래의 나층에서는 황색 바탕에 자갈색 구름무늬나 백색무늬가 있다. 각 나층은 비교적 가늘고 부풀지 않았지만 체층은 크고 둥글게 부풀어 있다. 봉합은 얇고 경계가 명확하지 않으며 나탑 상층부에서는 보통 석회질의 부착물이 많아 나층의 경계는 식별하기 어려울 때가 많다. 체층의 건각은 각이 지며 주연은 둥글다. 체층과 차체층에는 굵고 낮은 돌기로 된 나특이 2줄 또는 1줄로 배열되어 있고, 그 위의 나층들에서는 불규칙한 돌기가 있다. 패각 표면에는 매우 얇은 나특과 나구가 물결모양을 이루는데, 성체에서는 나특이 상당히 굵고 뚜렷해진다. 내순벽과 체공 윗부분의 봉대가 합쳐지면서 판상으로 되어 체층에 종장특을 이루는데 어린 개체에서는 체층에 붙어 있으나 성체에서는 체층과 떨어져 있다. 각구는 방추형이고 외순은 두껍고 단단하며 내면은 백색, 외순연 안쪽은 넓고 길쭉한 주름 위에 흑갈색 띠가 안쪽을 향해 있다. 내순은 활층으로 체벽을 덮고 윗부분에는 백색활층으로 된 일자형의 긴 돌기 1개가 있다. 축순은 넓고 황갈색의 활층으로 윤이 나며 안쪽으로 7개 내외의 축습이 있다. 수관취는 굵고 짧으며 뒤로 젖혀져 있고 수관구는 넓다 뚜껑은 혁질의 난타원형, 핵은 중앙에 있다. 체색은 붉은색이다(Fig. 2).

◆ 담색나팔고둥, *Charonia lampas macilenta*

수심 50~250 m의 사니질에 서식하고, *Charonia lampas sauliae*와 패각 및 내부 형태는 같으나 패각의 색채가 묽고 패각의 돌기가 낮으며 체색은 주황색이다.

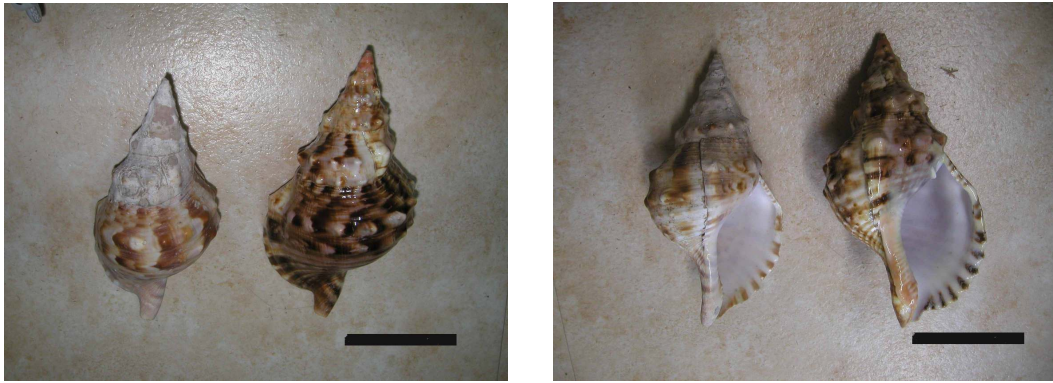


Fig. 2. Photograph of *Charonia lampas sauliae* and *Charonia lampas macilenta*.

Scale bar: 10 cm.

나. RAPD 변이 분석

우리나라에 서식하는 수염고둥과 고둥인 *Charonia lampas sauliae*, *Charonia lampas macilenta*, *Tutufa bufo*, *Monoplex ehco*를 대상으로 하여 이들의 유전자를 냉동시킨 시료 1 g당 50~180 μ g정도 추출할 수 있었다. 추출된 DNA를 0.5% agarose gel 상에서 전기영동한 결과 모든 시료에서 분자량이 50 kb이상의 DNA와 다량의 RNA가 함께 추출되었고, DNA 추출량을 볼 때 *C. l. macilenta*에서 가장 많은 DNA 추출량을 보였다(Fig. 3).

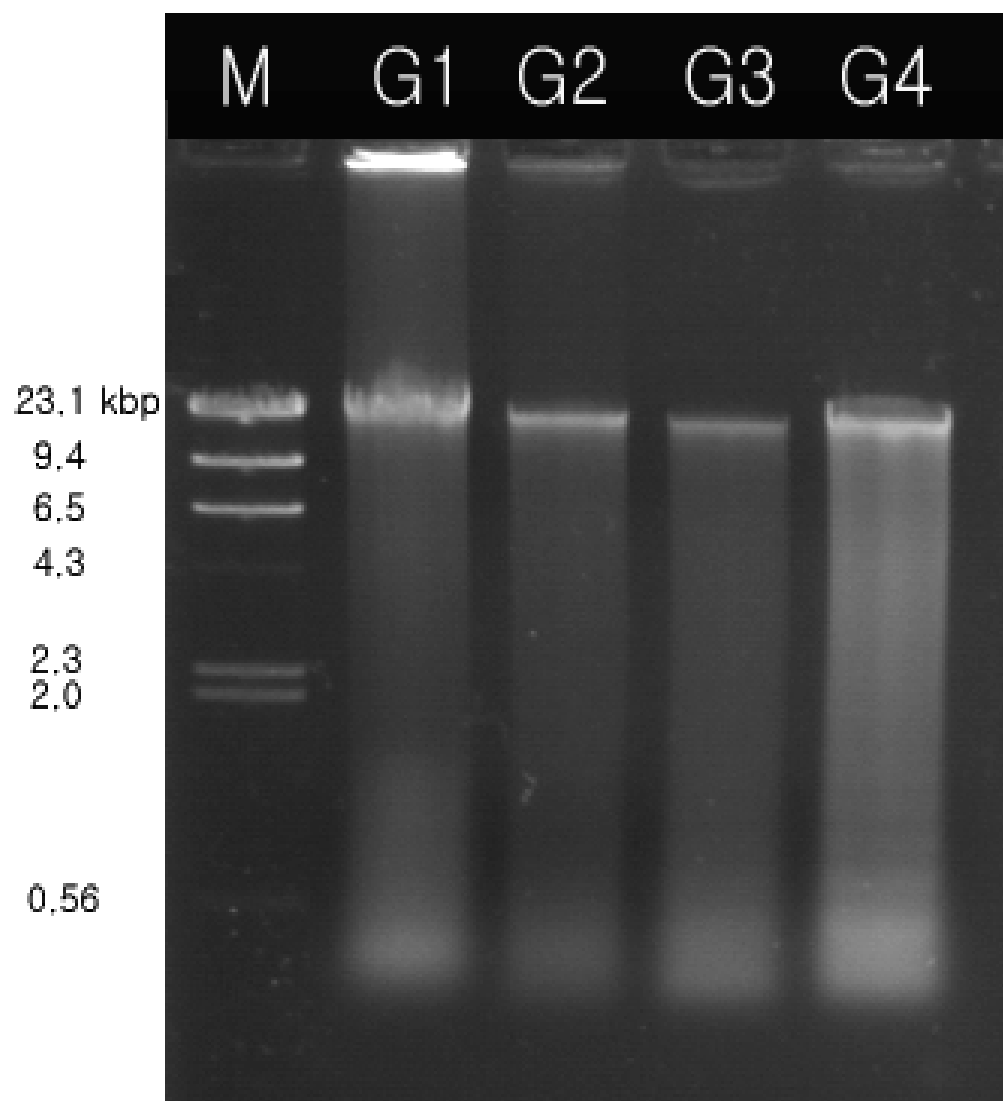


Fig. 3. Electrophoretic patterns of 1% agarose gel stained by ethidium bromide showing total DNAs from gastropods.

G1: *Tutufa bufo*, G2: *Monoplex ehco*, G3: *Charonia lampas sauliae*, G4: *Charonia lampas macilenta*.

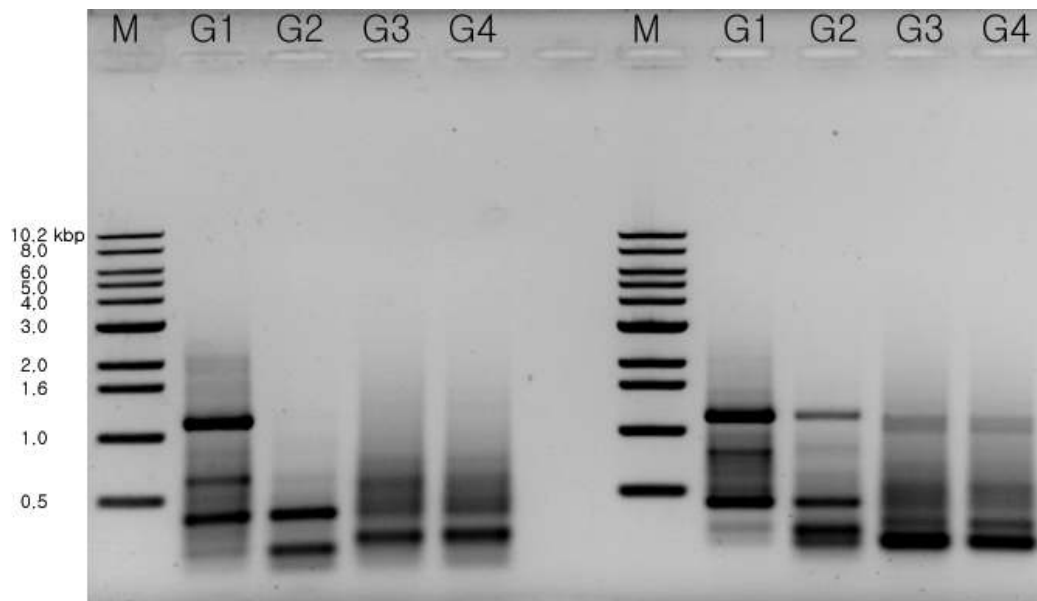


Fig. 4. Random amplified polymorphic DNAs from gastropods using arbitrary OPA-9 and OPA-10. G1: *Tutufa bufo*, G2: *Monoplex ehco*, G3: *Charonia lampas sauliae*, G4: *Charonia lampas macilenta*.

10개의 염기로 구성된 arbitrary primer를 단일로 사용한 20종류를 PCR반응 실험에 사용한 결과 그 중에서 18가지 종류의 primer들로부터 증폭이 일어났다. 대표적으로 primer OPA-9와 OPA-10에서 *C. l. macilenta*의 경우 각각 7개와 5개의 생성물이 만들어졌고, 모든 개체에서 차이가 나타나는 polymorphic pattern을 나타내었다(Fig. 4). 이와 같이 polymorphic DNA pattern들을 Jaccard의 방법을 통해 서로간의 유사도를 계산하였다. 유사도 상수값 1과 0을 완전 일치하는 경우와 완전 불일치 경우로 계산하여 각각 개체 서로간의 유사정도를 조사한 결과, *Charonia*속에 속하는 나팔고둥과 담색나팔고둥에서 0.89로 가장 높은 유사도를 발견할 수 있었으며, *Charonia*속과 그 외 고둥에서는 0.12~0.17로 낮은

유사도를 보였다(Table 2). 이것으로 미루어 볼 때 형태학적으로 나팔고둥과 담색나팔고둥은 *Charonia*속에 속하고 그 외 고둥은 *Tutufa*속, *Monoplex*속이므로 유전자 수준에서도 유연관계가 먼 것을 알 수 있다. 이와 같이 PCR을 통한 각 고둥의 종에 따른 공통적이거나 또는 특징적인 genomic DNA 단편들을 증폭할 수 있었으며, 또한 간단히 증폭된 다형상들을 유용한 유전자 표지로도 이용 될 수 있음을 알 수 있었다.

Table 2. Genetic distance index between populations of based on band sharing analysis for OPD-10 mer primers

Species	G1	G2	G3	G4
G1				
G2	0.62			
G3	0.15	0.12		
G4	0.12	0.17	0.89	

G1: *Tutufa bufo*, G2: *Monoplex ehco*, G3: *Charonia lampas sauliae*, G4: *Charonia lampas macilenta*.

다. 서식지 분포

우리나라 연안에서 나팔고둥의 서식지 분포를 조사한 결과, 제주도를 제외한 동해안, 서해안, 남해안에서는 분포하지 않는 것으로 조사되었으며, 제주도 지역에서도 서식 분포 개체수가 가장 많은 지역은 가파도-모슬포, 남원, 성산포를 잇는 제주도 남부 해역으로 1~12월까지 가파도-모슬포를 포함하는 대정 해역의 경우 166마리, 한경 해역 42마리, 남원 해역은 50마리, 성산포 해역은 96마리가 채집되었다. 이에 반해 한림, 애월, 구좌 등의 제주도 북부 해역은 30마리 내외로 서식개체수가 낮게 분포하는 것으로 나타났다(Fig. 5).

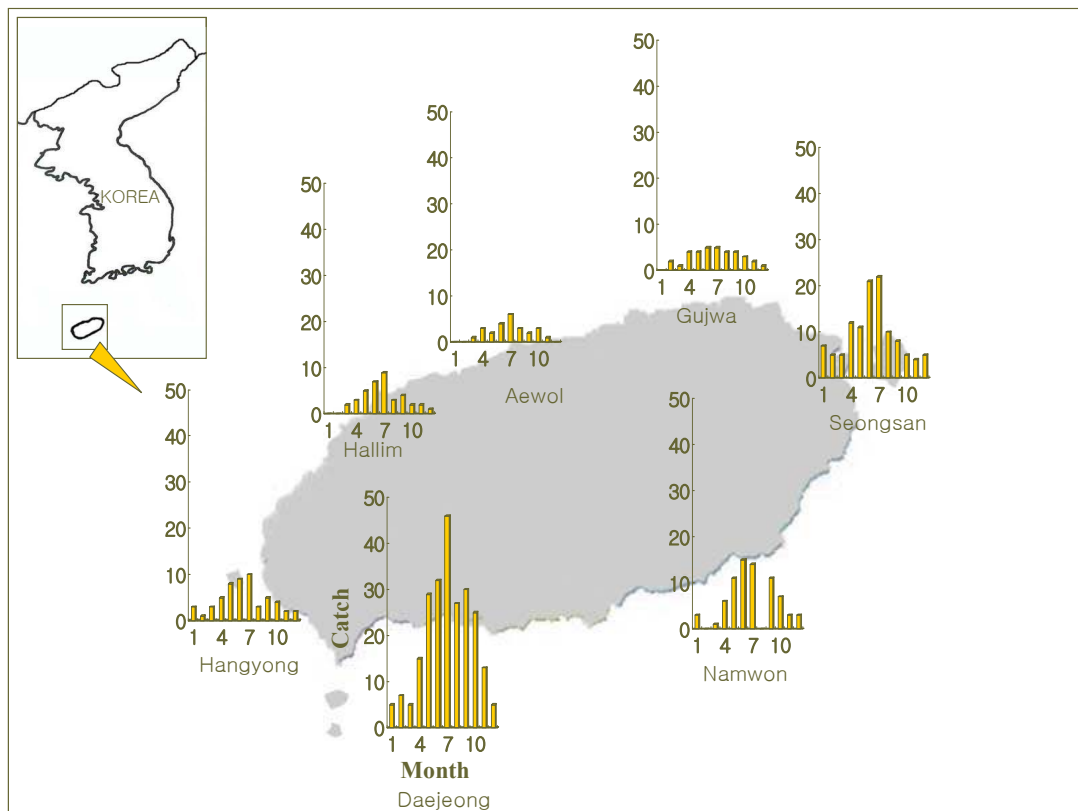


Fig 5. Geographical distribution of *Charonia lampas sauliae* in Jeju-do, Korea.

매월 제주도 연안에서 채집된 나팔고둥 어미들의 월별 각장(SL)과 각폭(SW) 및 전중(TW)을 측정한 결과는 Fig. 6~11와 같다. 즉, 제주도 연안의 *Charonia lampas sauliae*와 *Charonia lampas macilenta* 어미의 각장과 전중에 대한 상대성장식은 Fig. 6과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 $TW = 0.0012SL^{2.453}$ ($r^2 = 0.7670$), $TW = 0.0006SL^{2.5781}$ ($r^2 = 0.8675$)의 지수함수관계를 보여 *Charonia lampas sauliae*에 비해 *Charonia lampas macilenta*가 각장에 대한 전중이 더 큰 것으로 나타났다. 각장과 각폭에 대한 상대성장식은 Fig. 8과 Fig. 9에서 보는 바와 같이 $SW = 0.5568SL - 3.358$ ($r^2 = 0.8620$), $SW = 0.5849SL - 7.1302$ ($r^2 = 0.4294$)의 회귀직선식을 보여 *Charonia lampas macilenta*에 비해 *Charonia lampas sauliae*의 각장에 대한 각폭이 더 큰 것으로 나타났다.

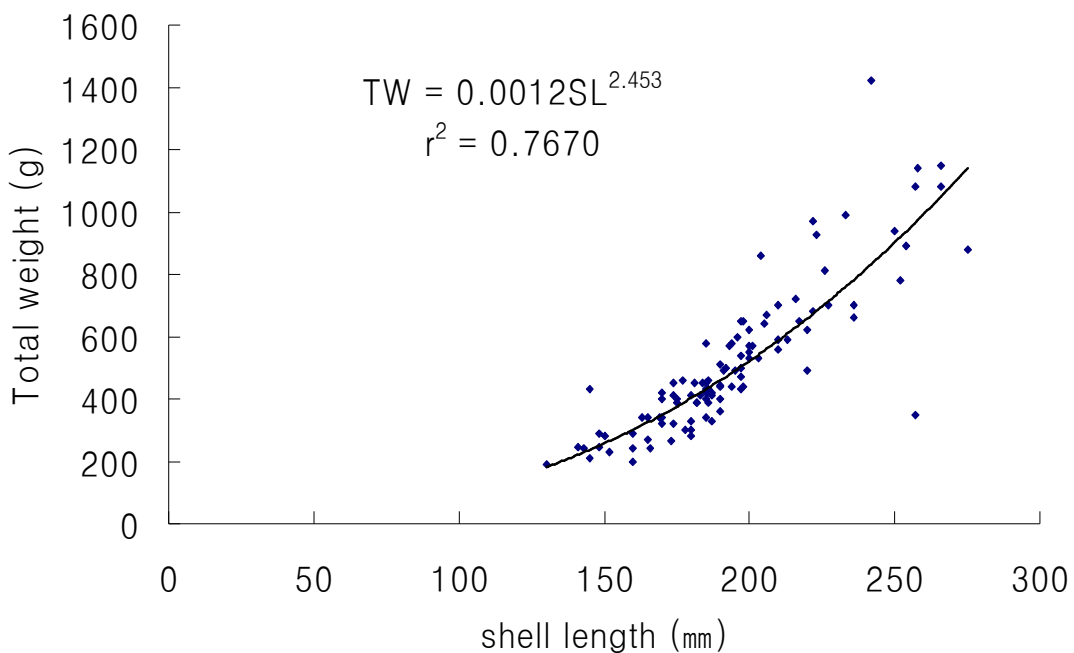


Fig. 6. Relationships between shell length and total weight of *Charonia lampas sauliae*.

또한 전중과 각폭에 대한 상대성장식은 Fig. 10와 Fig. 11에서 보는 바와 같이 $TW = 0.0149SW^{2.2342}$ ($r^2 = 0.8104$), $TW = 0.6938SW^{1.4115}$ ($r^2 = 0.5127$)의 지수함수 관계를 보여 *Charonia lampas macilenta*에 비해 *Charonia lampas sauliae*의 전중에 대한 각폭이 더 큰 것으로 나타났다.

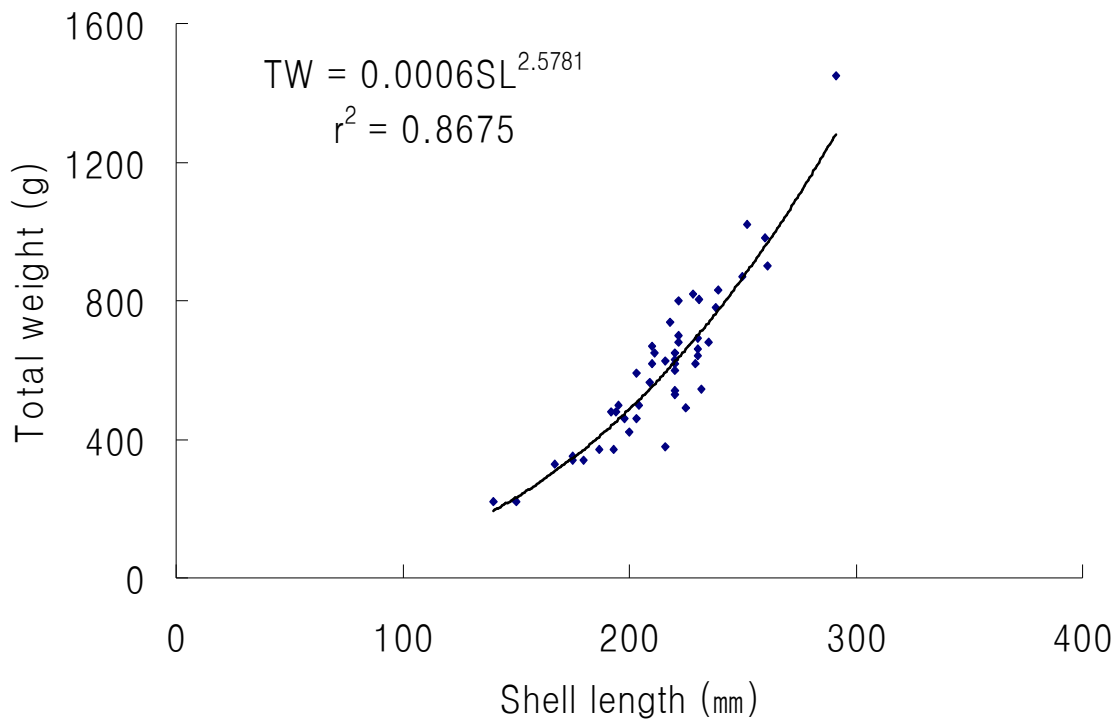


Fig. 7. Relationships between shell length and total weight of *Charonia lampas macilenta*.

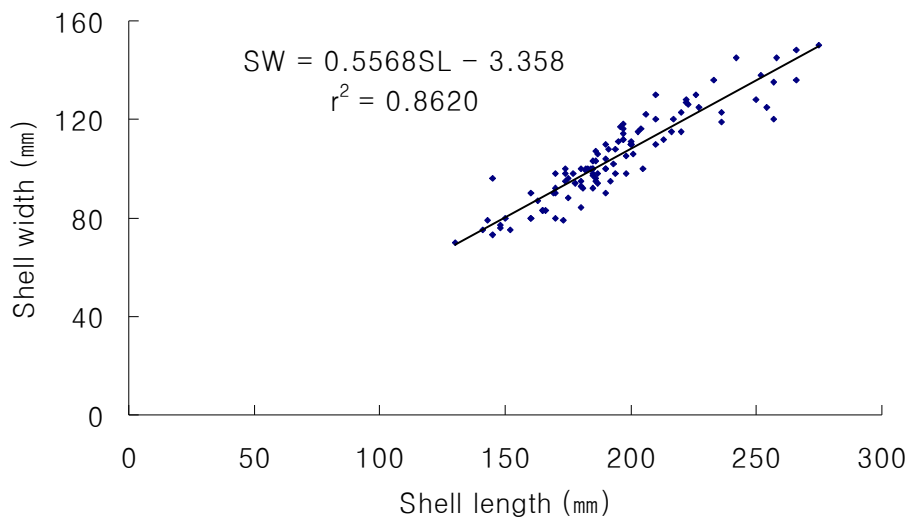


Fig. 8. Relationships between shell length and shell width of *Charonia lampas sauliae*.

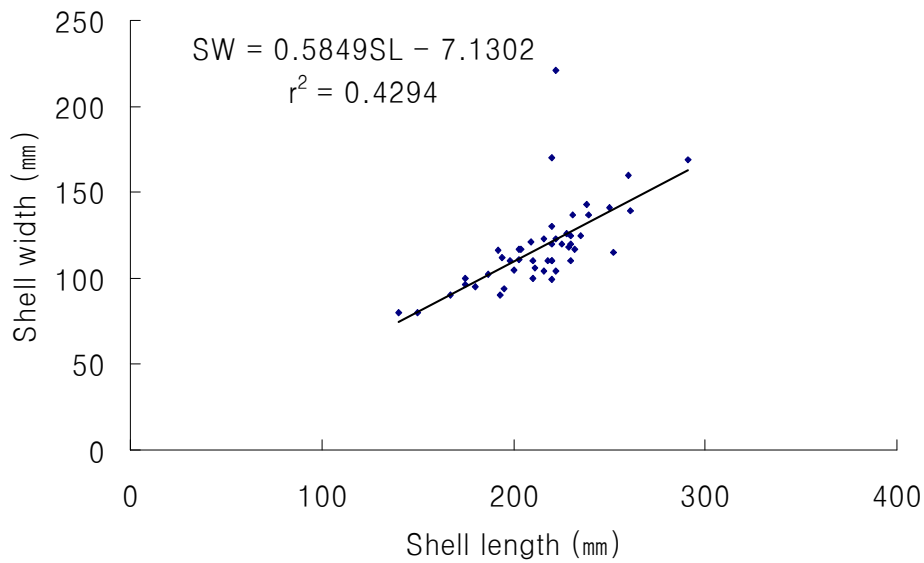


Fig. 9. Relationships between shell length and shell width of *Charonia lampas macilenta*.

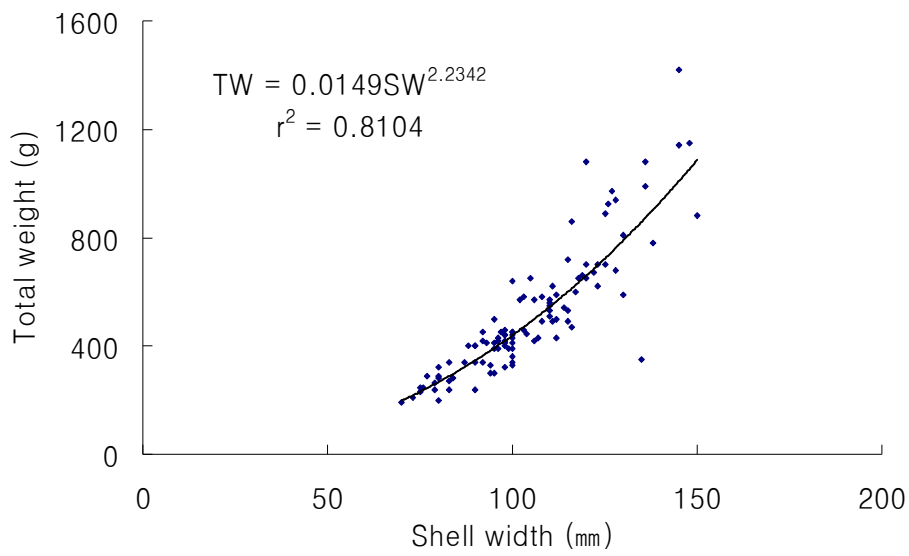


Fig. 10. Relationships between shell width and total weight of *Charonia lampas sauliae*.

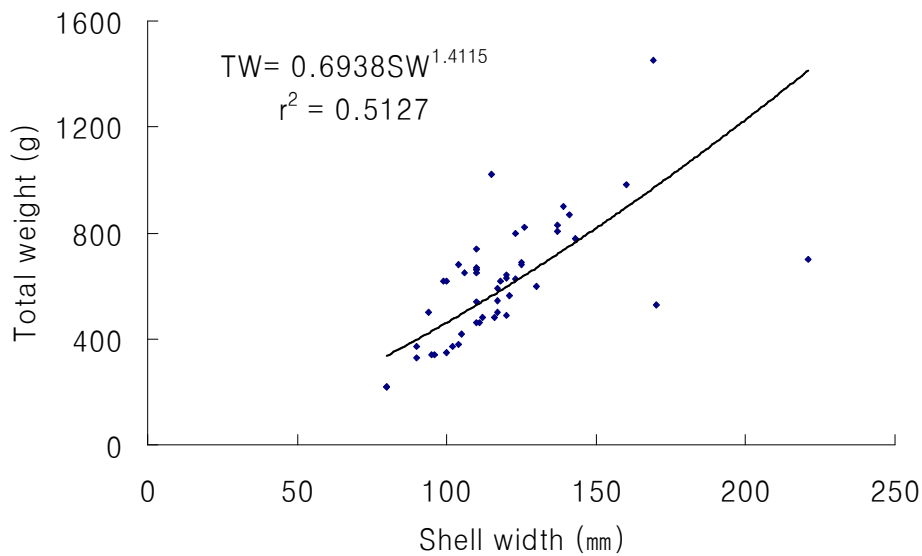


Fig. 11. Relationships between shell width and total weight of *Charonia lampas macilenta*.

Fig. 12는 조사기간동안 *Charonia lampas sauliae*와 *Charonia lampas macilenta*의 월별 각장 분포를 나타낸 것으로서, *Charonia lampas macilenta*가 개체수는 적었으나 각장 209~228 mm범위로 *Charonia lampas sauliae*보다 15 mm정도 크게 나타났다. Fig. 16은 채집된 나팔고둥의 전중 분포를 도식화 한 것으로서 3월을 제외한 1, 2, 4, 5, 6월은 대체로 *Charonia lampas macilenta*의 전중이 높은 분포로 나타났다.

Fig. 13은 조사기간동안 채집한 나팔고둥의 성비를 나타낸 것으로서 *C. l. sauliae*의 성비는 암컷과 수컷이 63:37의 비율을 보여 상대적으로 수컷이 암컷에 비해 개체수가 현저히 적음을 알 수 있었다. 또한 종묘생산시 성비 불균형 해소와 생물학적 최소형 조사의 일환으로 나팔고둥의 각장에 따른 성비를 조사한 결과 각장 180 mm 이상 크기에서 암수가 전체 개체수 대비 52:15의 결과를 보여 비교적 대형개체에서 암컷의 개체수가 수컷보다 3배 이상 많은 것을 알 수 있었다. 이에 반해 180 mm 이하의 소형 개체군에서는 암수의 비율이 11:21로 조사되어 종합적으로 비교적 대형개체는 암컷, 소형개체에서는 수컷이 우점하였다. 또한 *Charonia lampas macilenta*의 경우도 전체적인 성비가 70:30으로 비슷한 결과(Fig. 14, 15)를 보여 암수 성비 불균형 원인에 대하여는 차후 연구가 수행되어야 할 것이라 생각된다.

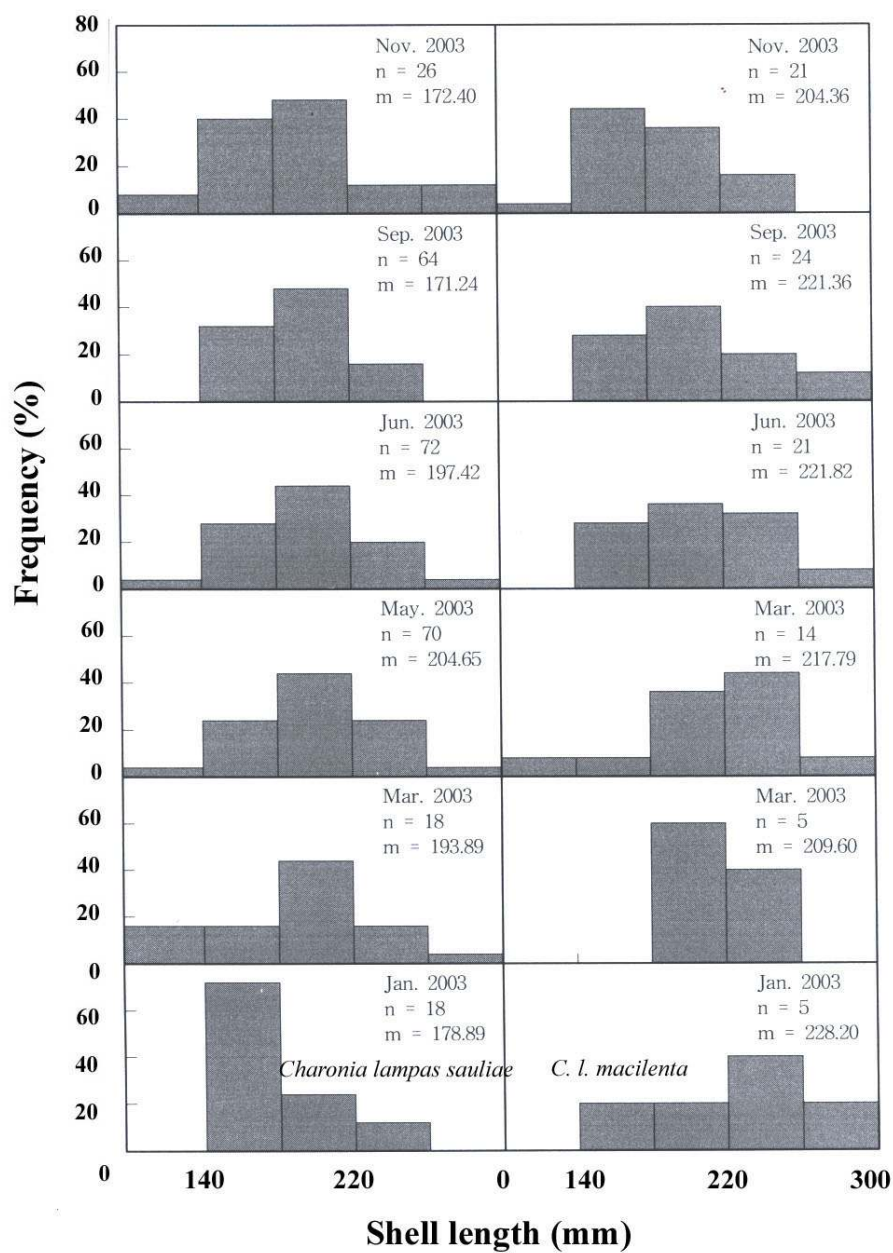


Fig. 12. Distribution of shell length (mm) *Charonia lampas sauliae* and *Charonia lampas macilenta*.

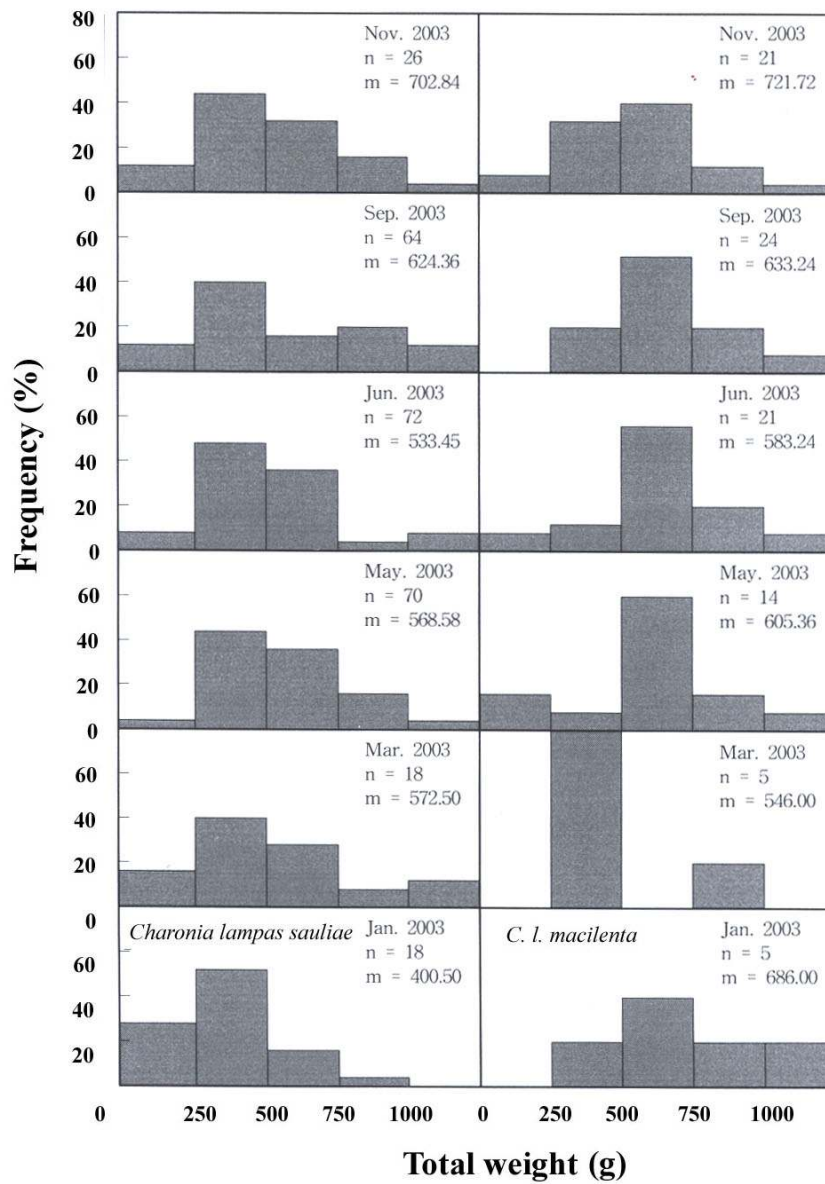


Fig. 13. Distribution of total weight (g) *Charonia lampas sauliae* and *Charonia lampas macilenta*.

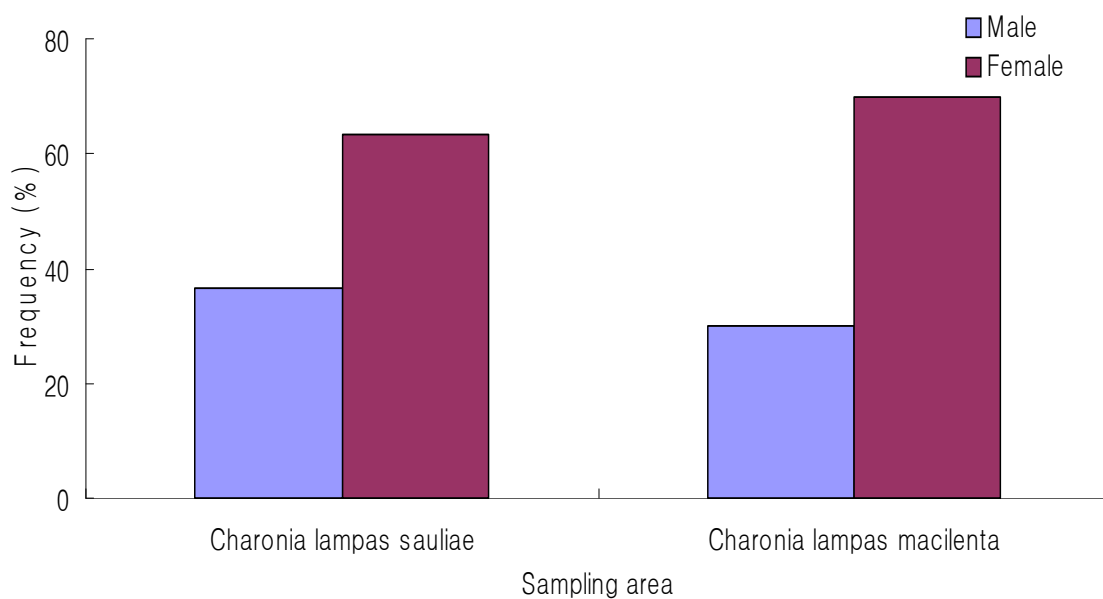


Fig. 14. Frequency of *Charonia* sp. males to females.

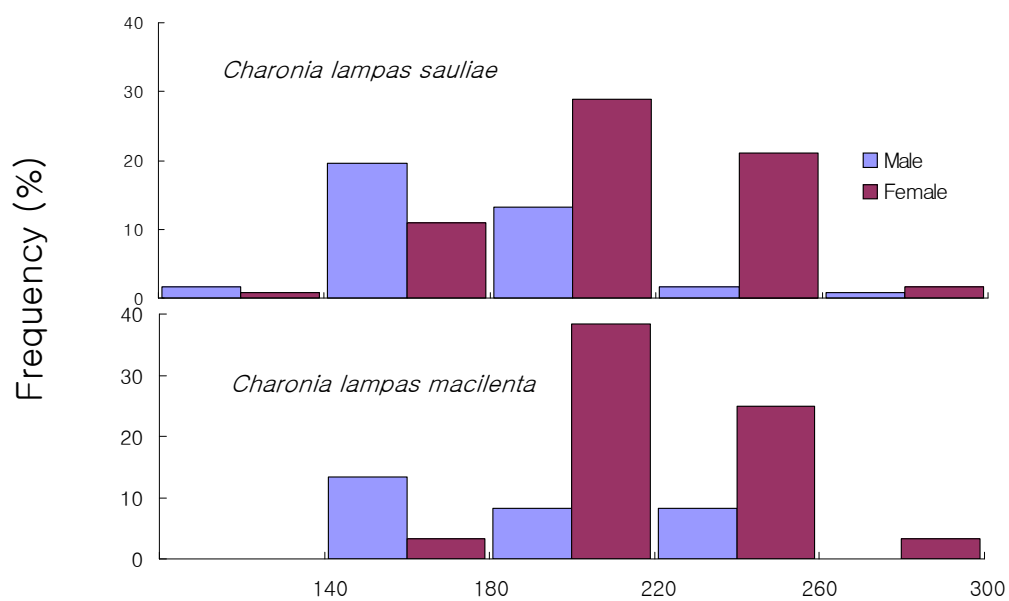


Fig. 15. Frequency of *Charonia* sp. males to females according to shell length.

라. 서식지 환경

나팔고둥 서식지의 지역별 수질환경을 2002년 12월부터 2003년 11월까지 측정한 결과, 수온은 12.9~24.0℃의 범위로, 모든 해역에서 비슷한 수온 변화 양상을 보였는데, 그 중 남원 해역이 12.0℃ 이상의 수온 변화를 보여 가장 수온 변화의 폭이 컸으며, 대정 해역의 수온 변화가 가장 적었다(Fig. 16).

염분은 7개 정점 해역에서 32.8~34.6‰의 범위를 보였고, 겨울철 애월과 구좌 등 제주도 북부 해역에서 낮은 염분을 나타내었으며 남원과 대정, 한경 등의 남부와 서부 해역에서 비교적 높은 염분을 보였다(Fig. 17).

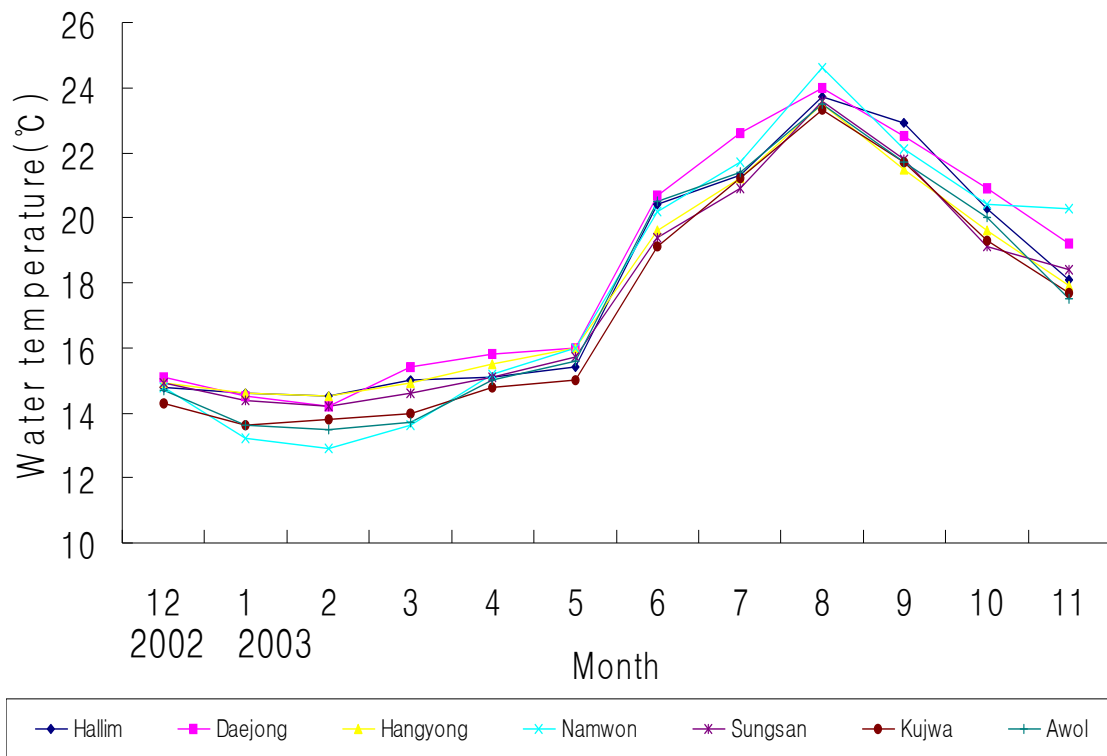


Fig. 16. Variations of water temperature on different sea areas during the research period.

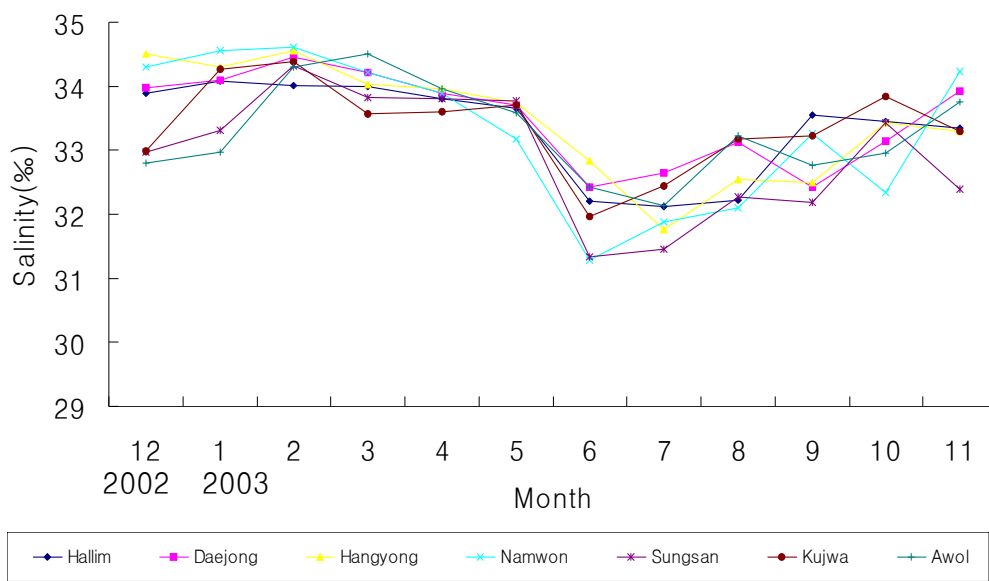


Fig. 17. Variations of salinity on different sea areas during the research period.

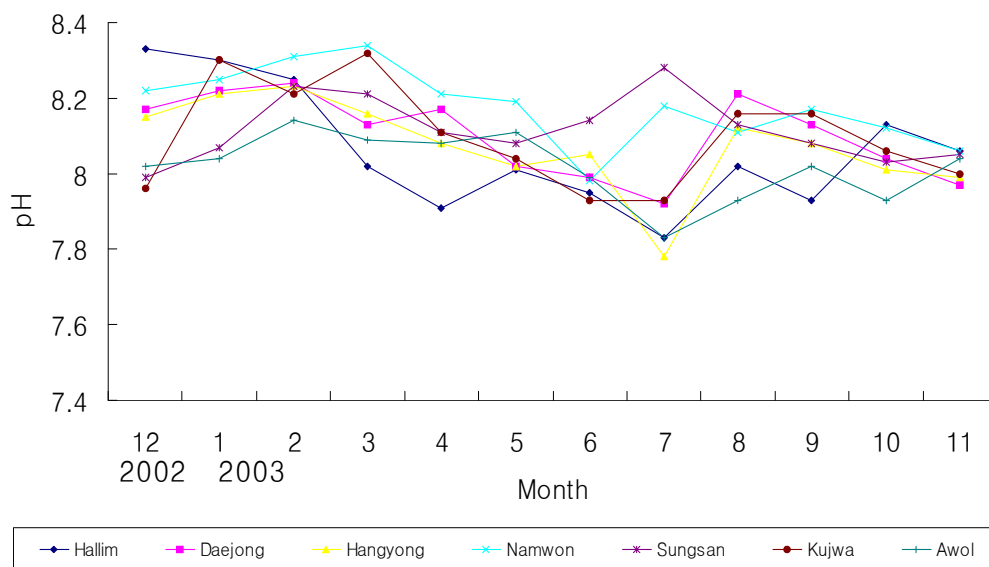


Fig. 18. Variations of pH on different sea areas during the research period.

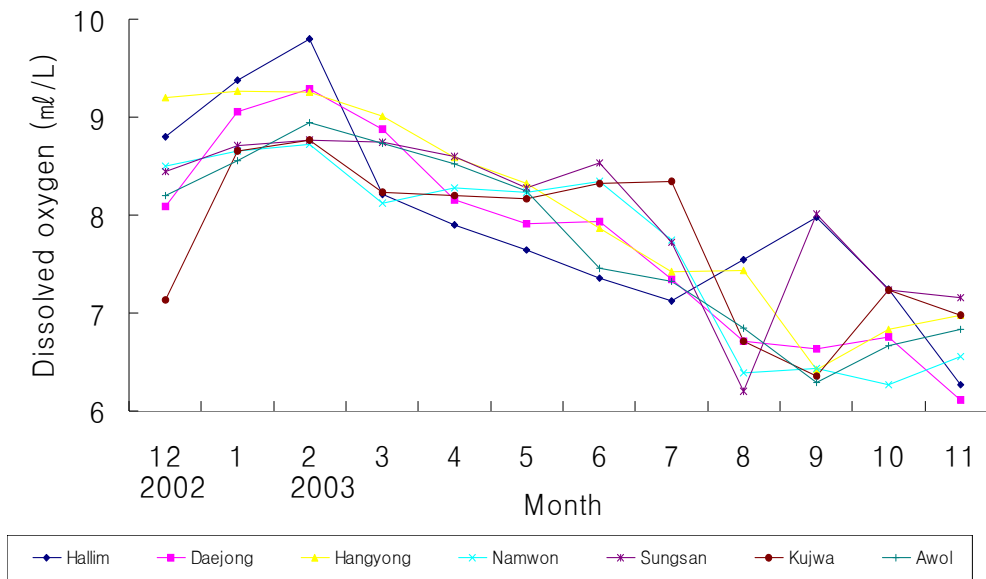


Fig. 19. Variations of dissolved oxygen on different sea areas during the research period.

수소이온 농도는 조사기간 동안 모든 해역에서 7.91~8.34의 범위였는데 한림이 최저·최고 수소이온 농도 차가 0.42로 가장 컸으나 대부분의 해역에서 해역 I 등급(7.8~8.3) 이내의 양호한 상태였다(Fig. 18).

용존산소는 조사기간 동안 모든 해역에서 7.13~9.38 mg/L의 변화폭을 보였고 해역 I 등급(6 mg/L 이상) 이내였다(Fig. 19).

총 질소는 모든 해역에서 0.17~0.35 mg/L로 변화의 폭이 컸으며 특히 구좌와 남원이 해역 II등급(0.1 mg/L 이하)의 기준에 속하는 것 외에 나머지 모든 해역이 해역 III등급(0.2 mg/L 이하) 이상의 수질을 나타내었다(Fig. 20).

총인은 모든 조사지역에서 애월을 제외한 6개 정점에서 0.3 mg/L로 해역 III등급(0.03 mg/L 이하)의 수준을 유지하였으나 애월 해역의 경우 최고 0.041 mg/L로 해역 III등급의 기준을 초과하였다(Fig. 21).

부유물질은 모든 해역에서 5 mg/L로 해역 I 등급(10 mg/L)기준 이내였으나 한림의 경우 4월과 5월에 각각 13.8 mg/L, 27.3 mg/L의 농도를 보여 해역 I 등급의 기준을 3배 초과하였다(Fig. 22).

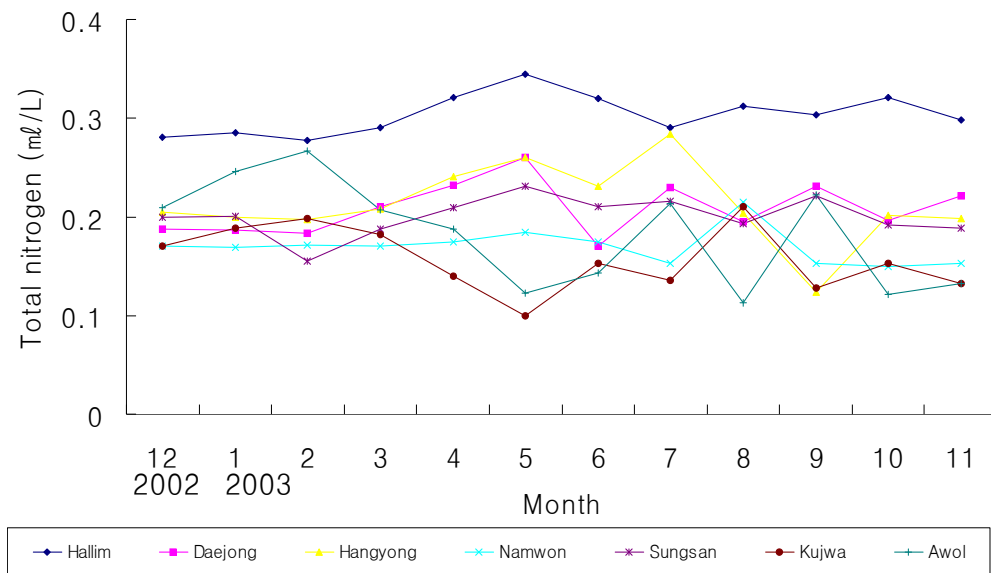


Fig. 20. Variations of total nitrogen on different sea areas during the research period.

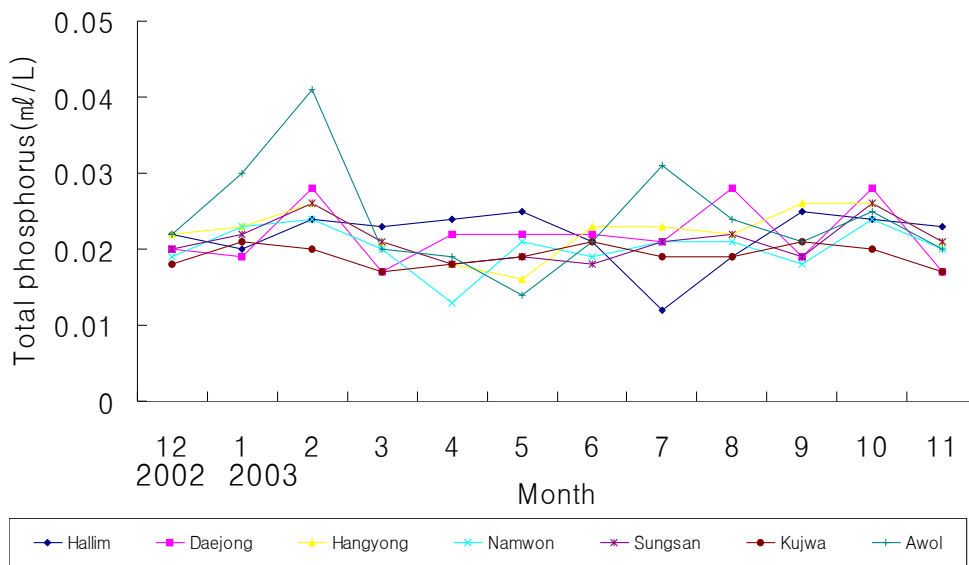


Fig. 21. Variations of total phosphorus on different sea areas during the research period.

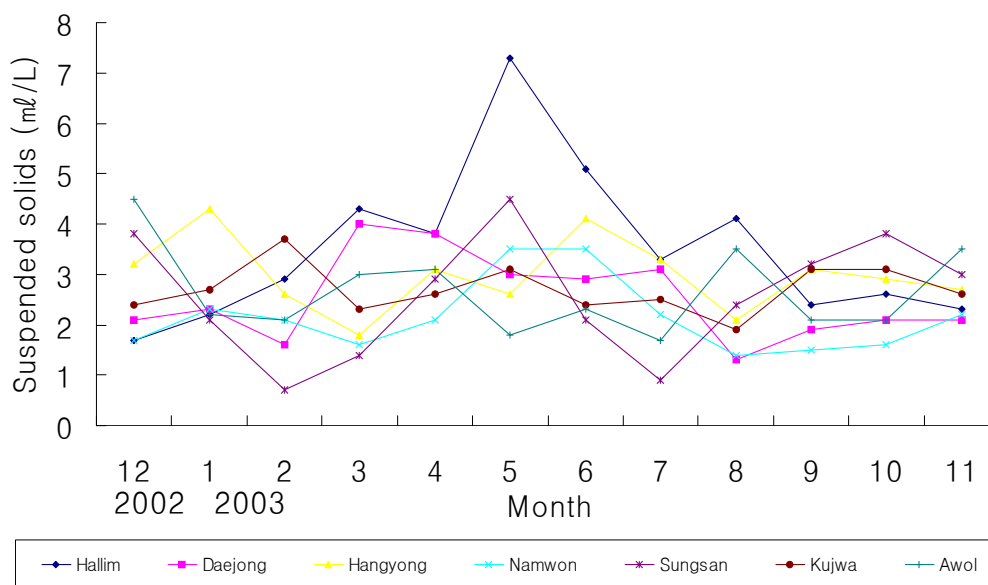


Fig. 22. Variations of suspended solids on different sea areas during the research period.

제 2절 생식주기 조사

1. 재료 및 방법

나팔고둥의 산란기를 파악하기 위하여 매일 나팔고둥 어미 5마리를 무작위 채취 후 생식소 조직 관찰에 의한 생식주기를 조사하였다. 조직관찰에 사용한 나팔고둥은 제주도 대정읍 가파도 해역에서 채집한 어미를 사용하였다(Fig. 23). 채집된 나팔고둥의 각장 및 각쪽은 버니어캘리퍼스로 0.01 cm까지 측정하였고, 전중 및 육중은 정밀저울을 이용하여 0.01g까지 측정하였다.

생식소 발달과정을 관찰하기 위하여 생식소 일부를 절취한 후 Bouin's solution에 24시간 고정하였다. 고정된 조직은 탈수 과정을 거친 후 paraffin으로 포매시켜 5 μ m의 두께로 연속 절편하여 조직표본을 제작하였다. 표본은 Hansen's haematoxylin과 0.5% eosin으로 이중염색 하였고, 생식세포는 광학현미경하에서 관찰하였다.

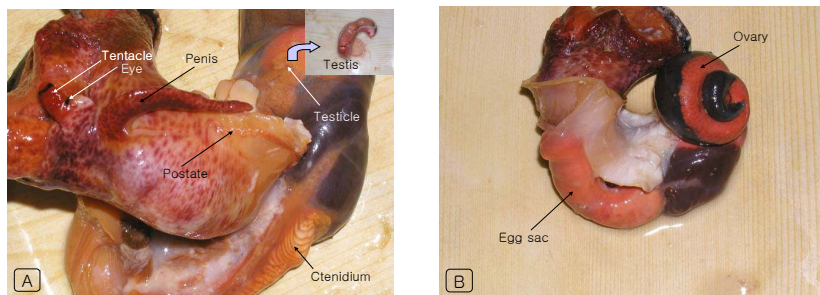


Fig. 23. Anatomy of the *Charonia sauliae* adults. A: Male, B: Female.

또한 교미 및 산란행동을 관찰하기 위하여 사용된 나팔고둥 모패는 2002년 11월부터 2003년 9월까지 제주도 연안에서 채집한 것을 실험실내 순환사육수조와 여수, 돌산 2곳의 양식장에서 사육하였다. 사육시 먹이는 별불가사리와 아무르불가사리를 충분히 공급하였고 양식장의 경우 월동을 위해 겨울철에 가온 사육하였으며, 사육하는 동안 교미 및 산란 행동에 관하여 관찰하였다.

2. 결과 및 고찰

나팔고둥은 자웅이체로서 생식소는 패각 내 나선상 내장 표면의 중반부 이후부터 끝까지 발달하였다. 생식소가 성숙하면 암컷의 경우는 짙은 주홍색을 나타내고, 수컷의 경우 옅은 주홍색을 나타내며 암수의 구별은 수컷이 패각 안쪽의 오른쪽 tentacle 바로 뒤쪽에 생식기를 가지고 있어 쉽게 구별할 수 있다.

나팔고둥의 난소를 싸고 있는 외피는 단층으로 원주상 피막과 내층의 결체섬유와 근섬유가 혼합된 섬유성 막으로 구성되어있다. 이 섬유성막에서 시작하여 안쪽 간중장선 쪽으로 발달하는 2중 결체성 섬유막이 난소 소엽상피를 이루고 있고, 이곳에서 난원세포들이 분열증식하고 있었다. 난원세포들이 분열증식하고 있는 난소 소엽 상피에는 조직절편시 eosin에 강하게 염색되며, 크기가 난원세포들과 거의 비슷한 과립성세포와 미분화된 세포들이 풍부하게 나타나는데, 이 세포들은 난소의 발달과 더불어 그 수가 점차 감소하였다. 난원세포들은 구형이며 핵은 한 개의 작은 인과 과립상의 핵질을 가지고 있었다. 난소의 가장자리에서는 새로운 난원세포들이 계속 분열·증식하는 한편 난소의 전단부에서는 보다 일찍 형성된 난원세포들이 전형적으로 패류에서 볼 수 있는 난병을 부착한 채 난소의 중앙에 위치한 관을 향해 발달해 간다. 난모세포들은 현저하게 세포질을 증가시키면서 포도송이 모양으로 난소에 부착되어 있었다. 또 핵은 거의 구형을 나타내고 있으며, 중앙에는 haematoxylin에 양성반응을

나타내는 한 개의 인을 갖고 있었다(Fig. 24-C). 난소에 부착하여 성장하던 서양배 모양의 난모세포들은 난병을 소실하고 원형으로 변해가면서 소엽사이로 유리되어 자리잡는다. 난모세포가 성장을 하면 세포질에는 차츰 난황을 축적하기 시작한다. 이후 난소가 성장을 함에 따라 난소 상피의 과립세포 및 간충직세포들의 양이 현저히 감소하면서 난소소엽은 얇아지고, 또 간섬유직을 싸는 근섬유막과 외측 근섬유막도 얇아졌다. 완숙된 난소의 난소소엽들 사이에는 성숙한 난모세포들로 가득 채워지고 있고, 완숙한 난포세포는 거의 구형으로 1개의 뚜렷한 인이 존재하였다. 세포질 내에는 균일하게 분포하는 많은 양의 난황과립과 약간의 지방과립을 가지며, 난막의 바깥쪽에는 뚜렷한 gelatin 피막에 싸여있다.

난소와 마찬가지로 정소를 싸는 외피는 단층 원주상피층의 피막과 Mallory triple 염색에서 청색을 나타내는 결체섬유층과 적색을 나타내는 근섬유층으로 결합되어 있었다. 이 근섬유층에서 시작하여 안쪽 간중장선쪽의 섬유층으로 발달하는 정소에서 정원세포들이 분열·증식한다. 정원세포들이 분열증식하고 있는 정소에서와 같이 정원세포들이 분열증식하고 있는 정소는 eosin에 강하게 염색되며 크기가 정원세포들과 거의 비슷한 과립성세포와 미분화간충직들이 풍부하게 나타났다(Fig. 25-A). 이들 정소 상피의 간충직과 과립성세포들 사이에서 정원세포들이 분열, 증식하게 되는데 정원세포들은 세포질이 빈약하며, 세포질에 비하여 커다란 핵과 뚜렷한 단일 인을 갖고 있었다(Fig. 25-B). 정소가 점점 비대됨과 동시에 정소소엽은 안쪽의 간중장선을 싸고 있는 섬유층쪽으로 신장되어 갔다.

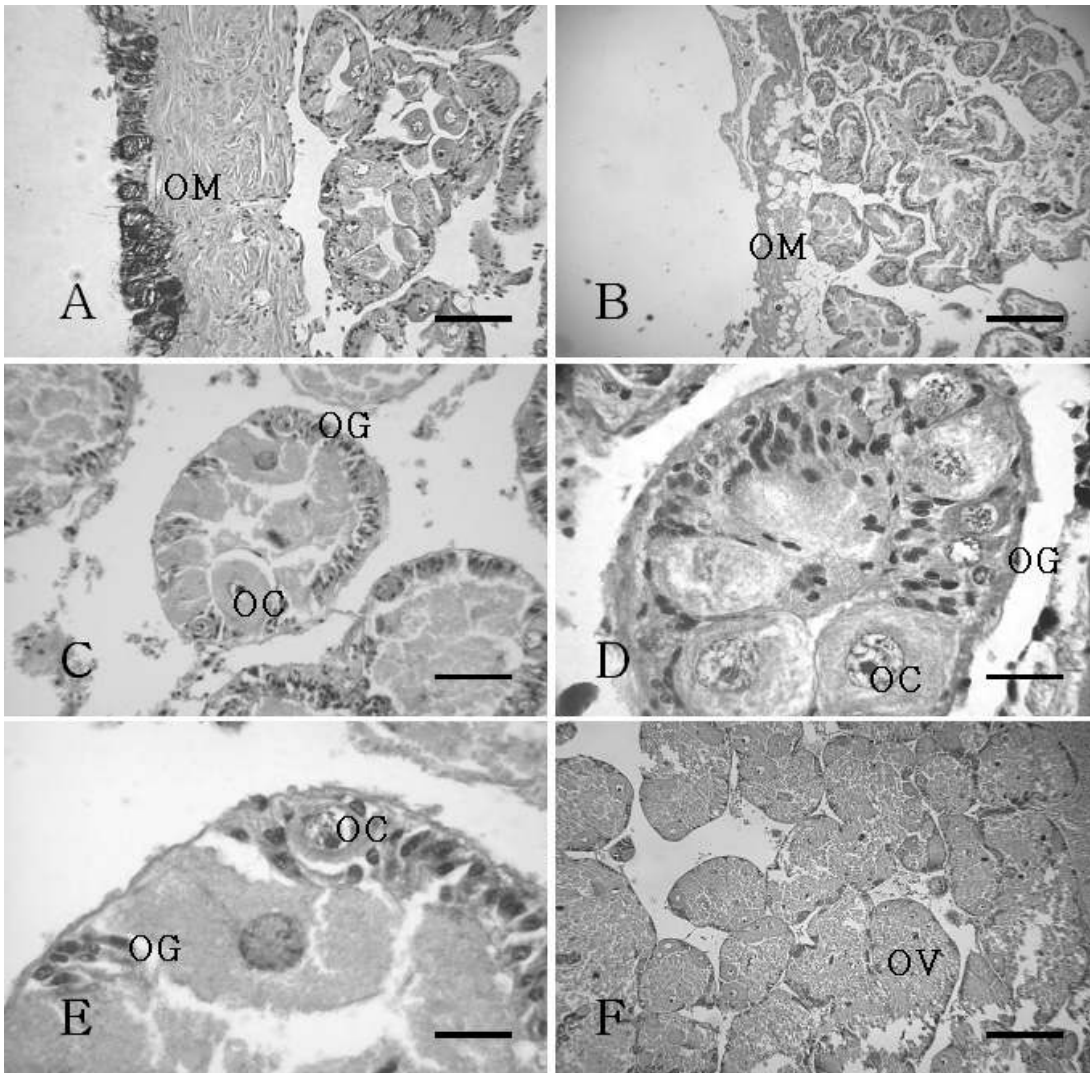


Fig. 24. The ovary of the trumpet shell at different sample time.

A, B: the growing stage; C, D, E: the mature stage; F: the spent stage, OG: oogonium; OC: oocyte; OV: ovum; OM: ovarian membrane. Scale bar: A: 100 μm ; B: 50 μm ; C: 15 μm ; D: 100 μm ; E: 25 μm ; F: 15 μm .

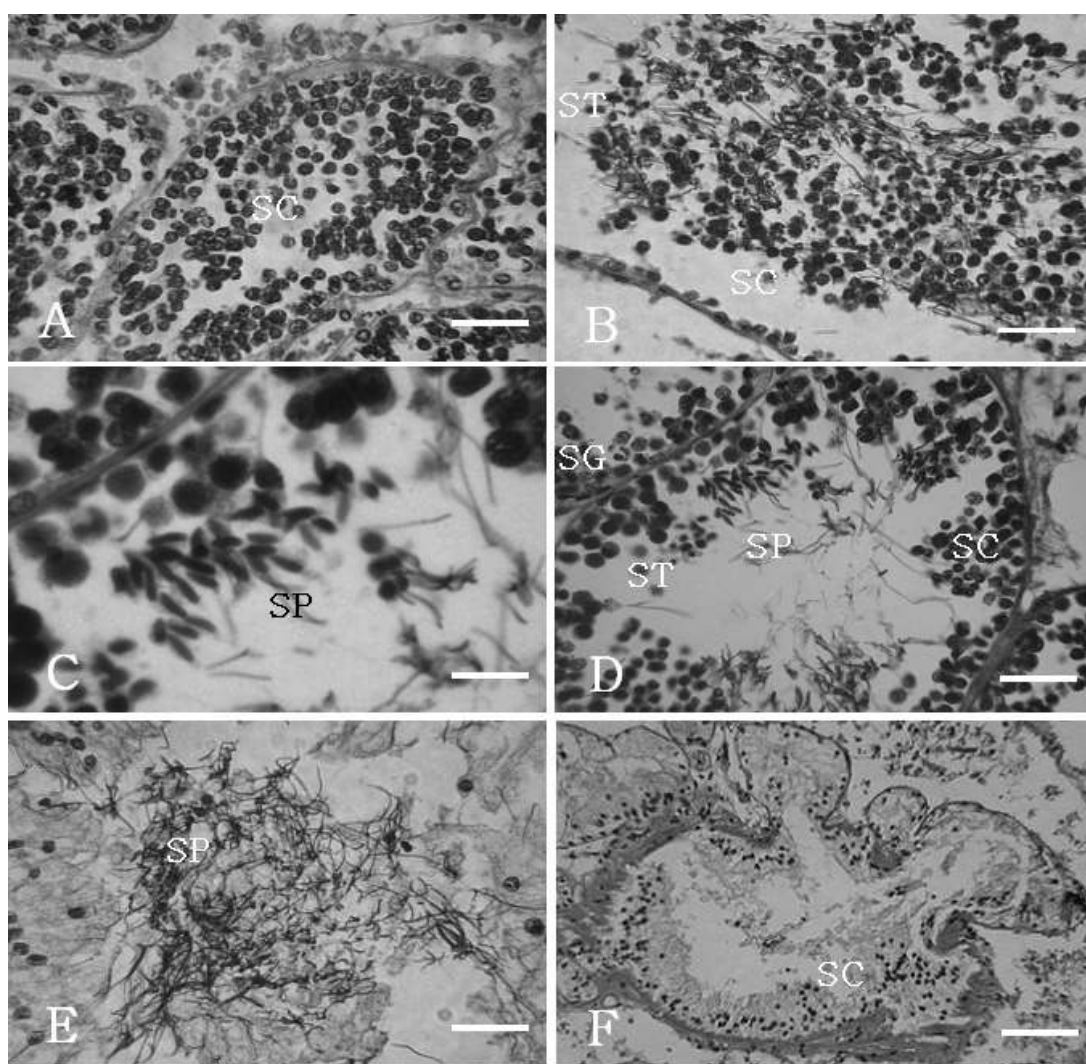


Fig. 25. The testis of the trumpet shell. A: Growing stage; B, C, D: Mature stage; E: Spent stage; F: Resting stage. SP: sperm; ST: spermatid; SC: spermatocyte; SG: spermatogonium. Scale bar: A, B, D, E: 25 μm ; C: 6 μm ; F: 150 μm .

정소 소엽의 생식상피층의 정원세포들이 정모세포로 성장되면 핵질에는 염색질이 과립상으로 뚜렷이 산재하게 된다. 정소가 더욱 발달함에 따라 바깥쪽 근섬유막과 안쪽 근섬유막은 점차 얇아지면서 정소 소엽과 소엽사이에 변태를 마친 정자가 나타나기 시작한다(Fig. 25-C). 이어서 정소는 더욱 비대되며 정소 소엽의 생식상피에는 정원세포와 정모세포가 줄어드는 대신 정소 소엽상피 가까이까지 변태를 마친 정자들로 채워지게 되어 완숙정소에서는 거의 정자만으로 가득 채워지게 된다(Fig. 25-D). 이시기의 정소는 최대로 비대되고 얇아진 정소의 상피에는 소수의 정원세포만이 존재한다. 정자의 방출이 일어나기 시작하면서부터 정소내에 가득차 있던 정자는 대부분 방출되나, 일부 남은 정자가 존재하고 있으며, 이들 정자는 차츰 흡수된다(Fig. 25-E, F).

제 3절 산란유발

1. 재료 및 방법

실험에 사용된 나팔고둥 모패는 제주도 연안에서 채집한 암컷 210마리와 수컷 70마리를 육상양식장으로 운반 후 자연해수를 이용하여 사육하였는데 그 외부적 형태는 암컷의 경우 각장 20.4 ± 2.3 cm, 전중 723.6 ± 23.2 g, 수컷의 경우 각장 16.9 ± 1.4 cm, 전중 365.7 ± 22.8 g 이었다. 먹이는 어미의 성 성숙을 위하여 나팔고둥이 가장 선호하는 별불가사리와 아무르불가사리를 충분히 공급하였다.

나팔고둥의 교미 및 산란유발을 위하여 5℃부터 30℃까지 5℃간격으로 6개 실험구를 설정하였고, 모패를 실험실내 순환사육수조로 운반 후 암컷 30마리와 수컷 10마리씩 각 수온별로 수용하였으며, 대조구로 자연수온을 두어 교미 및

산란 행동을 관찰하였다.

2. 결과 및 고찰

수온별 나팔고둥의 산란유발 및 산란행동을 조사한 결과, 15℃에서 2003년 11월13일에 최초로 교미하는 암수가 관찰된 이후 2004년 3월까지 이루어졌다. 교미시에는 수컷이 암컷에 접근하여 교미기를 암컷 패각 속의 생식공에 넣어 교미가 이루어졌으며(Fig. 26) 일반적으로 1일정도 지속되었으나 10℃에서는 3일까지도 관찰되었다. 교미형태는 일정한 모양을 유지하지 않았고 밤낮의 구별은 없었다. 암컷은 다회교미에 다회산란 하였고, 산란은 2일동안 지속되었다. 산란한 어미는 난피에 붙어서 알을 보호하였고, 산란 중에도 교미는 이루어졌다. 산란시에는 3마리 또는 4마리 정도가 집단을 이루어 난피를 형성하였으며 공동으로 보호하였다(Fig. 27). 산란기에는 먹이포식량이 현저히 적었으며, 산란을 마친 개체들에 있어서 일시적인 포식이 관찰되었다. 난낭의 난막은 젤라틴질로 이루어져 난을 수용하고 있었으며, 난낭속의 난은 알부민성 점액질로 충격으로부터 보호되었다(Fig. 28).

수온별 나팔고둥의 산란양을 조사한 결과, 15℃에서 전체 암컷이 2003년 11월에 113개의 난낭을 산란하였고, 12월 345개, 2004년 1월 1232개, 2월에 1045개의 난낭을 산란하여 우리나라에서 나팔고둥의 산란기는 1월과 2월임을 알 수 있었다. 그 후 3월에 124개의 난낭을 산란하였고, 4월이후에는 산란하지 않았다. 또한 10℃에서는 1월에 1043개의 난낭을 산란하여 최고치를 보이다가 4월에 8개의 난낭을 산란한 후 산란을 멈추었다. 20℃에서는 1월과 2월에 각각 998개, 968개의 산란양으로 최고치를 보이다가 4월 이후에 산란하지 않았다. 이에 반해 25℃에서는 1월에 124개의 난낭을 산란하였을 뿐 매월 20~30개의 산란양을 보여 극히 저조하였고, 5℃에서는 산란이 전혀 이루어지지 않았다(Fig. 29).



Fig. 26. Copulation behavior of female and male individuals. Scale bar: 1 cm.

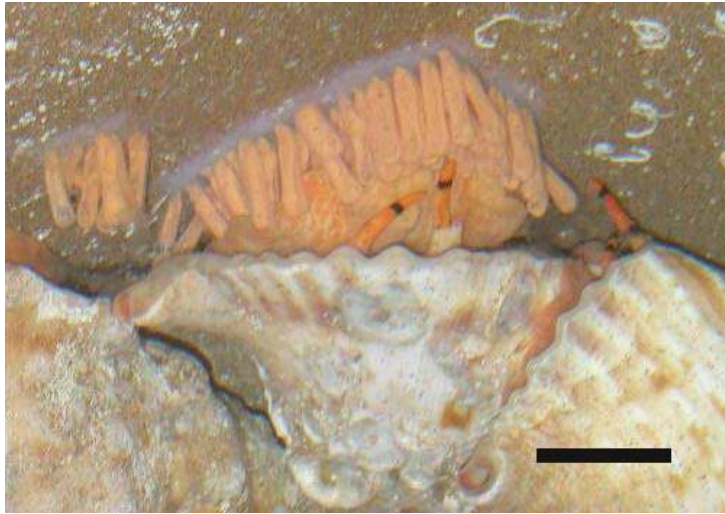


Fig. 27. The Trumpet shell, *Charonia lampas sauliae* with its egg mass.

Scale bar: 2 cm.



Fig. 28. The egg sac of *Charonia lampas sauliae*. Scale bar: 1 cm.

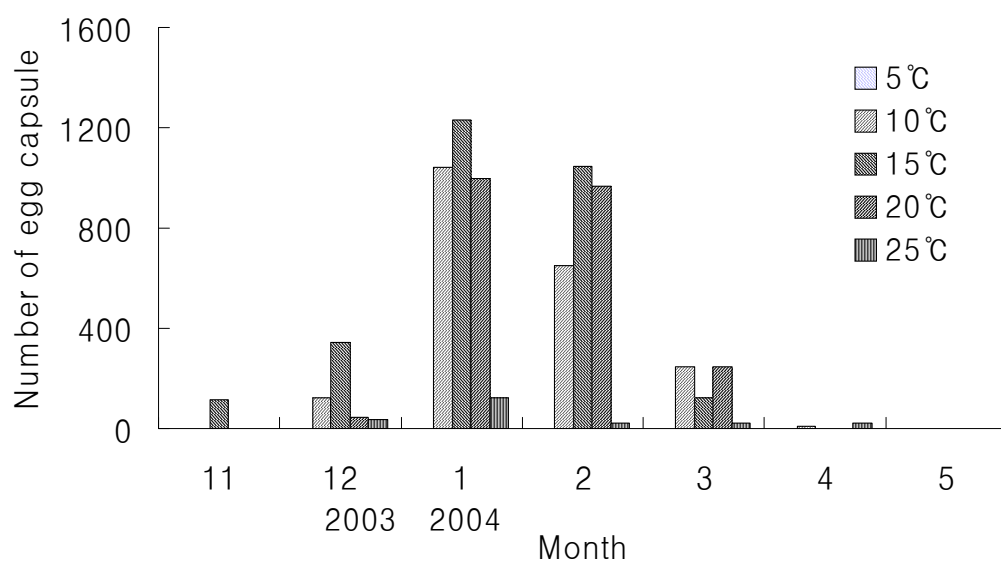


Fig. 29. Number of egg capsules of *Charonia lampas sauliae* during experimental period.

산란된 난낭의 외부적 형태는 난낭길이 15~22 mm, 난낭폭 5~7 mm, 난낭 중량은 0.4~0.7 g의 범위였고, 난낭속의 난은 4000~10,000개의 범위였다. 이러한 결과를 토대로 난낭길이와 난낭폭의 관계를 회귀식으로 나타내 보면 $CW=0.639CL+4.7501$ ($r^2=0.0597$)로 나타났고(Fig. 30), 난 중량과 난수의 관계식은 $NE=8923.7CW^{0.6297}$ ($r^2=0.0597$)으로 나타나(Fig. 31) 난낭이 클수록 난이 많은 것을 알수 있었다. 또한 산란한 어미의 전중과 산란된 난낭수 및 난피층중량과의 관계식은 각각 $NE=0.0157BW^{1.2893}$ ($r^2=0.6638$), $BE=0.1261BW-49.352$ ($r^2=0.7977$)로 나타나 어미의 전중이 클수록 난낭수가 많음을 관찰할 수 있었다(Fig. 32, 33).

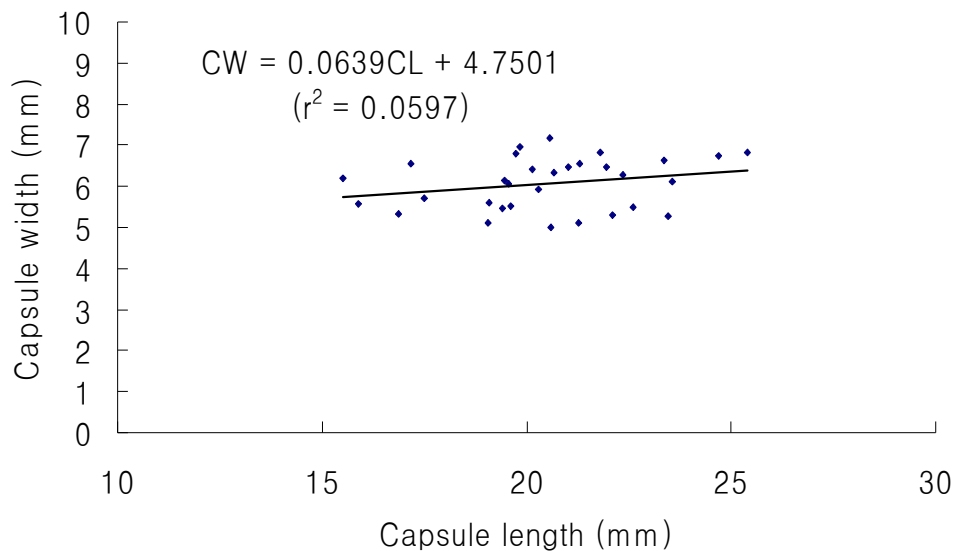


Fig. 30. Relationships between capsule length and capsule breadth of *Charonia lampas sauliae* egg capsules.

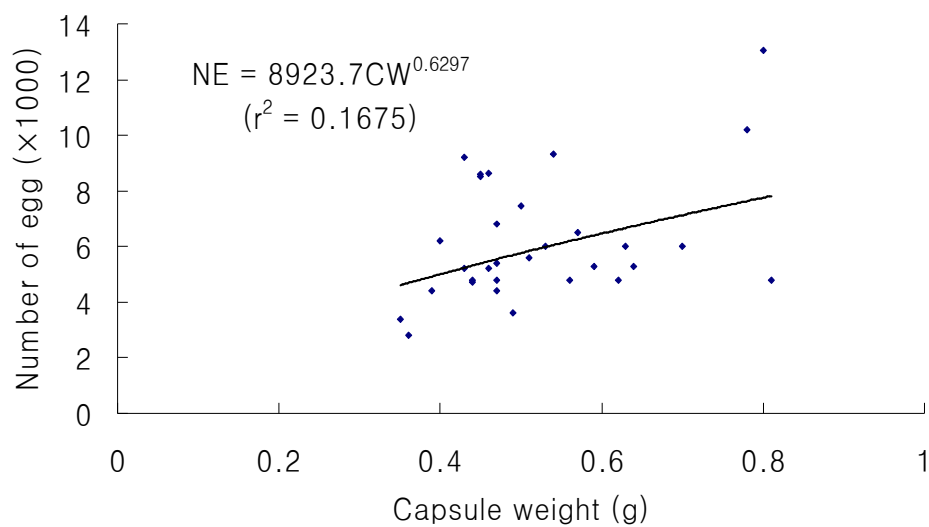


Fig. 31. Relationships between capsule weight and number of egg on *Charonia lampas sauliae* egg capsules.

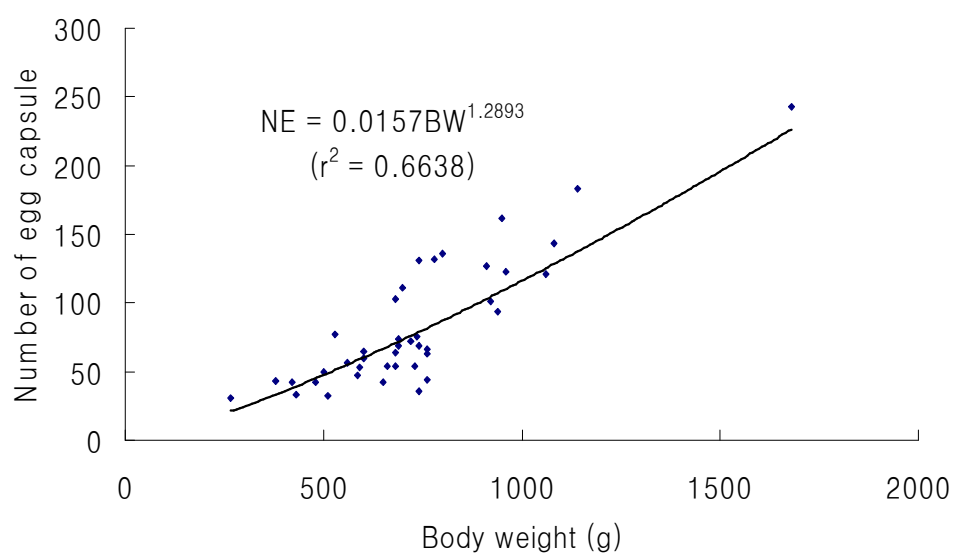


Fig. 32. Relationship between body weight (g) and number of egg capsules.

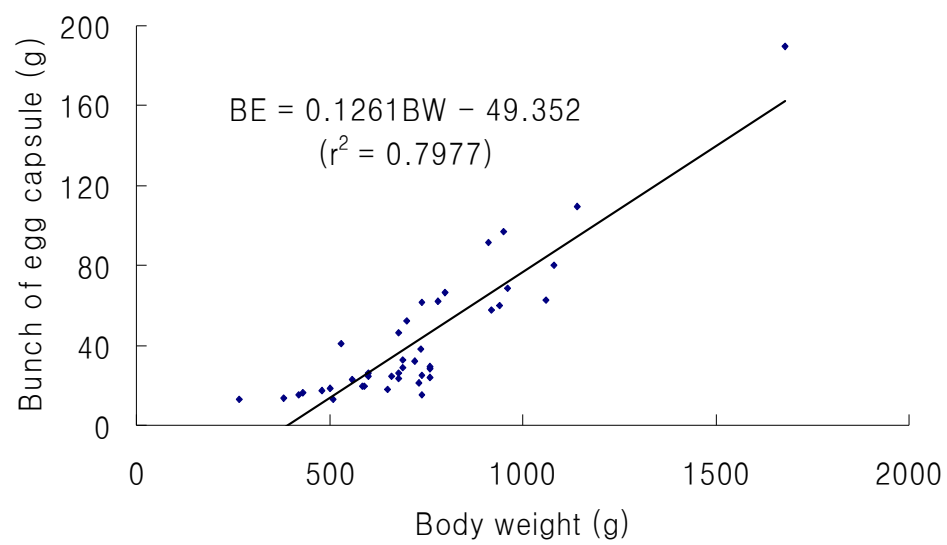


Fig. 33. Relationship between body weight (g) and egg mass (g).

제 4절 난발생 및 치패사육

1. 재료 및 방법

수온별 난발생 속도를 알아보기 위하여 실험수온은 5℃부터 30℃까지 5℃간격으로 6개 실험구를 설정하였고, 난 및 유생의 발생과정은 각 수온구별로 20 L 용기에 난낭 50개씩을 수용한 뒤 난 발생의 경우 2일, 유생발생은 3일 간격으로 난낭을 절개하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

수온별 유생 및 치패의 성장을 조사하기 위하여 부화 직후의 평균체장 $408 \pm 21.5 \mu\text{m}$ 인 veliger 유생을 이용하였고 30 L 수조에 1 ind./ml 밀도로 수용하여 사육하였다.

먹이는 연속 통기배양법으로 순수배양된 *Chaetoceros calcitrans*, *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana*를 혼합하여 공급하였고 먹이배양시 사용한 영양배지는 Conwy culture medium (Walne, 1974)이었으며 사육수는 매일 전환수 하였다. 먹이공급량은 매일 30,000 cells/ml 농도로 공급하였고 유생이 30 μm 씩 성장함에 따라 10,000 세포씩 증가하여 공급하였으며 성장은 5일마다 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

나팔고둥의 발생속도를 파악하기 위한 난발생과 유생의 성장 단계는 수정란, 4세포기, 8세포기, 상실기, trochophore, veliger, hatching veliger로 구분하였는데(Fig. 34, 35) 난낭을 뚫고 부화하기까지 약 50~60일 정도의 기간이 소요되었다. Table 6과 Fig. 36는 각 발생 단계의 수온별 소요시간을 나타낸 표로서 8세포기까지 10℃에서는 10일, 15℃에서 7일이 걸렸고 20℃와 25℃에서는 5일이 소요된 반면, 5℃와 30℃에서는 발생이 관찰되지 않았다. 상실기까지는 소요된 시간은 10℃ 28일, 15℃ 15일, 20℃ 12일 및 25℃에서 10일이

소요되었는데(Table 3) 이 시기에는 난의 전후 및 회전운동이 관찰되었다. 또한 trochophore 까지 25℃에서 12일, 20℃에서 14일, 15℃에서 18일이 소요되었던 반면 10℃에서는 33일이 소요되었고, 비교적 활발한 운동을 보였다. 최종적으로 veliger 유생이 난낭막을 뚫고 부화까지 걸린 시간은 25℃에서 50일, 15℃에서 64일이 소요되었는데, 초기 veliger는 후단부에 패각선이 생기고 점점 패각이 발달하며 면반과 섬모가 발달하여 난낭 속을 활발하게 헤엄쳐 다니게 된다. 중기 veliger에는 면반이 2장의 낙엽모양을 하고 그 밑에 발이 발달한다. 또한 패각이 발달하고 안점이 형성되며, 유생 전체가 갈색색소를 띠게 된다. 심장박동이 확인되고, 뚜껑이 생긴다. 부화직후에는 패각은 유생 전면을 덮고, 나선을 감기 시작하며, otocyst가 출현한다. 그리고 우측에 촉각이 형성되고 위장이 분화되며, 위내에는 섭이물이 관찰된다. 한편 부화시 각 수온구별 난낭의 생존율을 보면 15℃에서 62%, 20℃ 40%, 25℃ 18%, 10℃ 10% 순으로 나타나 난발생시 적정 수온은 15℃라고 판단되고(Fig. 36), 이러한 난 발생시 유생의 각장과 각폭의 상대성장식은 $SW=0.5925SL+65.234$ ($r^2=0.5353$) 으로 나타났다(Fig. 37).

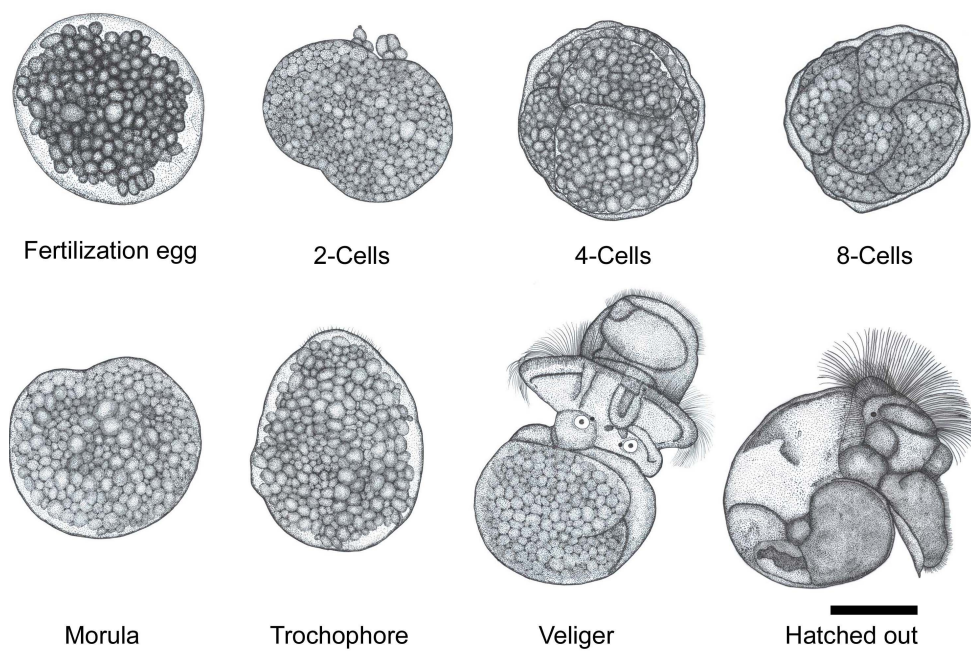


Fig. 34. Egg developmental stage of Trumpet shell. Scale bar: 100 μm

Table 3. Relationships between water temperature and time (day) required to reach to each developmental stage from fertilization

Developmental stage	Water temperature (°C)					
	5	10	15	20	25	30
4 cell	24	10	7	5	5	–
8 cell	–	17	10	8	7	–
Morula	–	28	15	12	10	–
Trochopore	–	33	18	14	12	–
Veliger	–	50	34	27	24	–
Hatching veliger	–	83	64	54	50	–

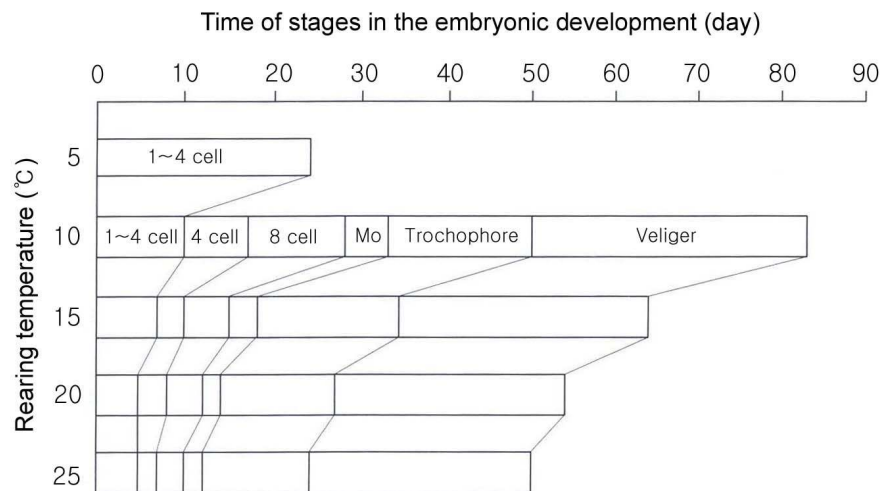


Fig. 35. Influence of water temperature on egg development in Trumpet shell, *Charonia lampas sauliae*. Mo: morula.

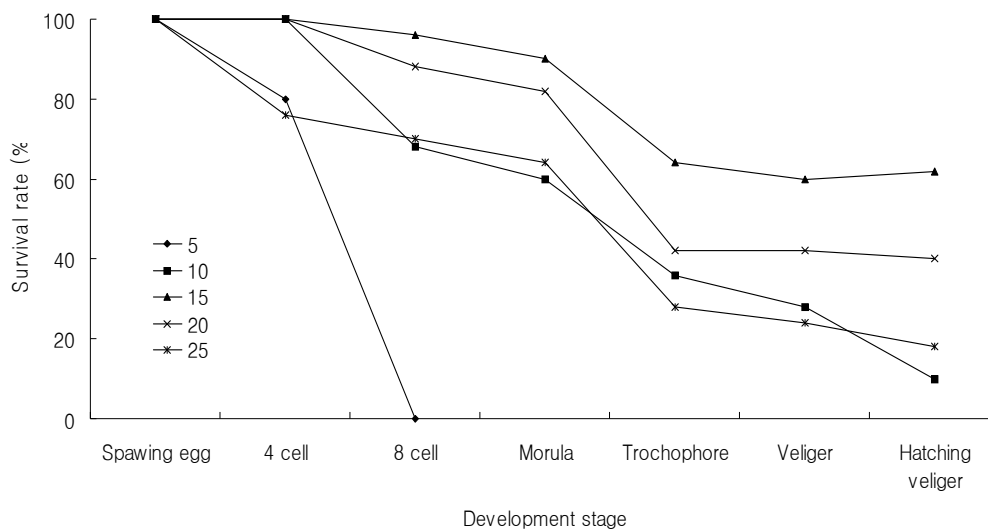


Fig. 36. Survival rate of egg mass on developmental stage.

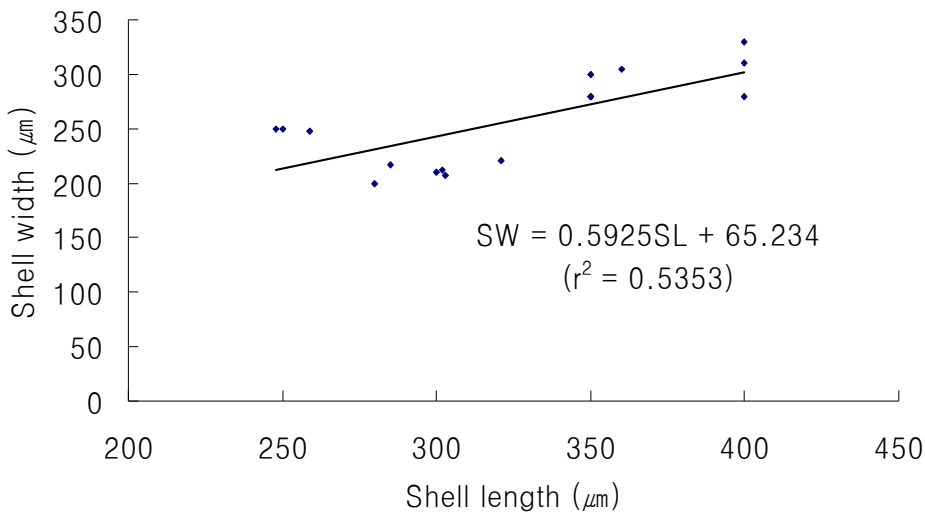


Fig. 37. Relationships between shell length and shell width of *Charonia lampas sauliae* larvae.

또한 무척추동물의 먹이생물로 가장 많이 이용되는 순수배양된 *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*를 먹이로 공급하여 나팔고둥 유생의 수온별 성장을 조사한 결과, 10℃와 30℃에서는 모든 유생이 폐사하였고, 25℃의 경우 실험개시시 평균체장 408±21.5 μm이던 유생의 30일 경과 후 544±23.2 μm, 60일 경과후 683±19.8 μm로 성장하여 가장 높은 성장을 보였으나, 생존율은 10%로 가장 낮았다. 또한 20℃의 경우 30일 경과후 509±18.3 μm, 60일 후 625±19.8 μm로 성장하였고, 생존율은 20%로 나타났다. 15℃에서는 30일 후 491±23.65 μm, 60일 후 561±21.9 μm의 성장과 23%의 생존을 보여 치패사육시 가장 적절한 수온은 15~20℃라 판단된다(Fig. 38, 39)..

이러한 결과를 이용하여 가장 생존율이 높게 나타났던 15℃ 실험구에서 사육일수에 따른 체장과 체폭의 상대성장식은 $SW=0.5732SL+91.942$ ($r^2=0.2852$)로 나타났다(Fig. 41).

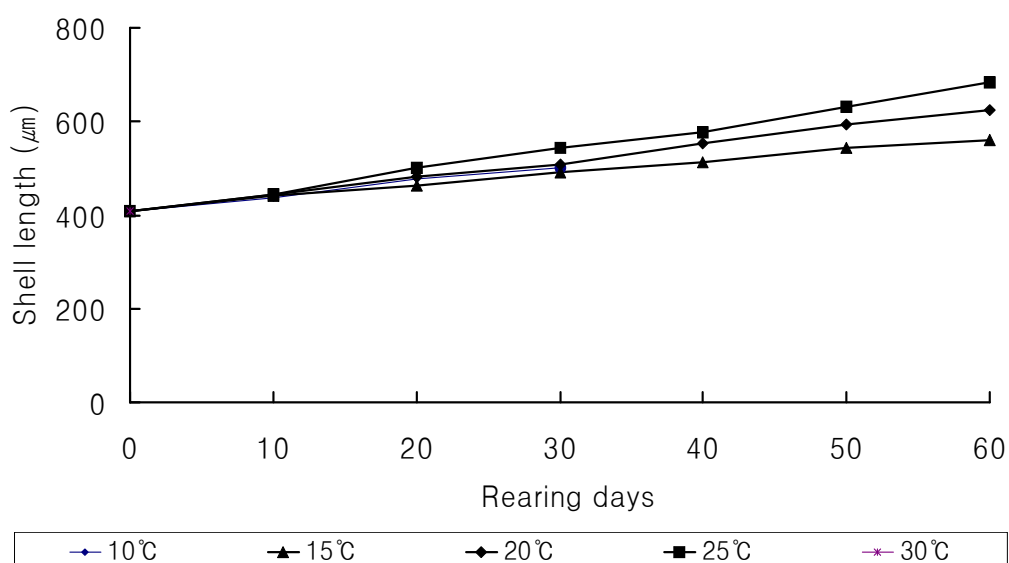


Fig. 38. Growth of *Charonia lampas sauliae* larvae on different water temperature tank.

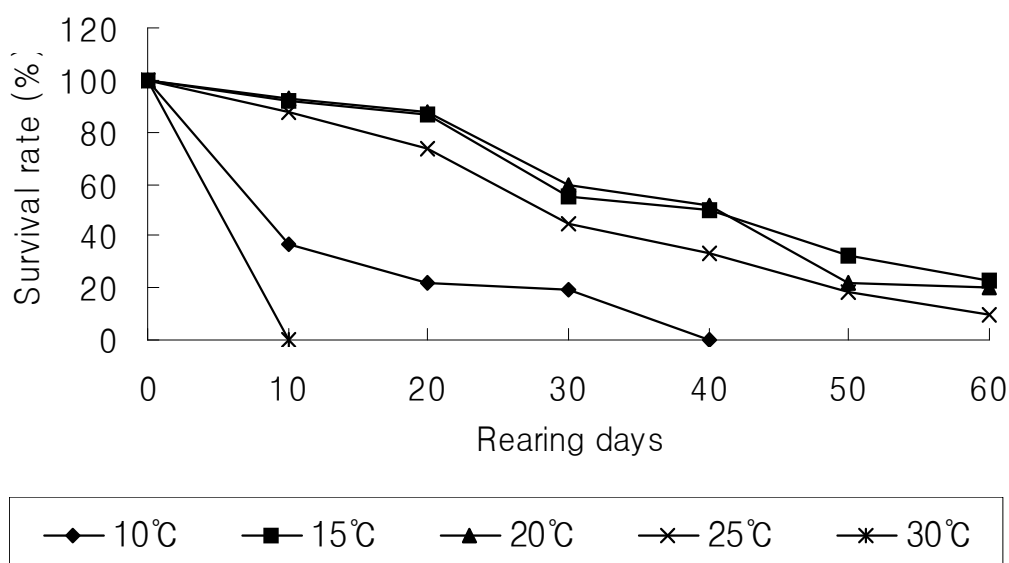


Fig. 39. Survival rate of *Charonia lampas sauliae* larvae on different water temperature tank.

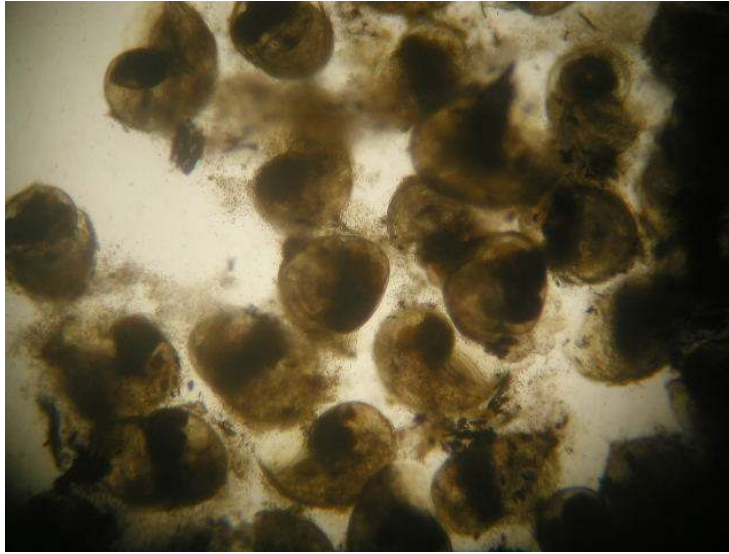


Fig. 40. Settled spat of *Charonia lampas sauliae*.

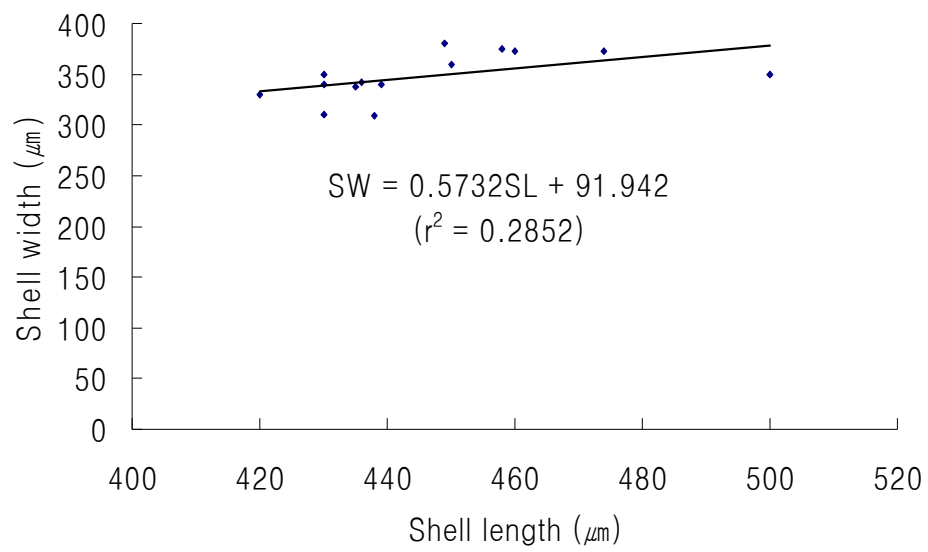


Fig. 41. Relationships between shell length and shell width of *Charonia lampas sauliae* larvae.

제 5절 나팔고둥 유생의 먹이섭취 및 소화지수

1. 재료 및 방법

먹이섭취 및 소화율을 조사하기 위하여 부화후 30일되는 나팔고둥 유생을 ml당 1개체로 수용하였고, 공급한 먹이생물은 여수대학교 무척추동물양식실험실의 먹이 배양실에서 순수배양된 *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Nannochloris oculata*, *Phaeodactylum tricornutum* 및 *Tetraselmis seucica* 등의 6종이었다. 먹이섭취 및 소화단계는 먹이섭취단계, 세포용해단계, 소화단계 그리고 배설 후 공복단계의 4단계로 나누었다(Fig. 42). 먹이섭취와 소화율 실험은 먹이생물별로 공급 3시간, 5시간, 8시간 후 200 μ m 물러 가제로 수거하여 멸균해수로 3회 세척하였다. 세척한 유생은 멸균해수가 채워진 50 ml 비이커에 각각 30마리를 수용하여 먹이섭취지수 (ingestion index, II)와 소화지수 (digestion index, DI)를 계산하였다.

먹이섭취지수(Ingestion index, II)= N_1/N_0

소화지수(Digestion index, DI)=(N_2+N_3)/ N_1

(N_0 : 관찰 개체수; N_1 : 섭취단계 개체수; N_2 : 혼합단계 개체수; N_3 : 소화단계 개체수)

2. 결과 및 고찰

먹이공급후 3시간째 각 먹이생물을 대상으로 먹이섭취율을 조사한 결과 모든 먹이공급구에서 100% 섭취율을 보여 나팔고둥 유생은 모든 먹이생물의 섭취가 가능한 것으로 나타났다(Fig. 43). 먹이공급후 3시간째 먹이생물별 소화단계는 *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*에서 세포용해 단계와

소화단계가 약 1:1의 비율을 보였고, *Nannochloris oculata*와 *Tetraselmis seucica*는 변화가 없이 대부분 세포 용해단계 였다. 이러한 이유는 *C. calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*가 녹조류인 *Nannochloris oculata*와 *Tetraselmis seucica*에 비해 소화가 잘 되기 때문에 세포용해와 소화가 동시에 일어나기 때문인 것으로 생각된다.



Fig. 42. Larval *Charonia lampas sauliae* used in the experiment. Scale bar: 100 μ m. A: lysed, B: digested.

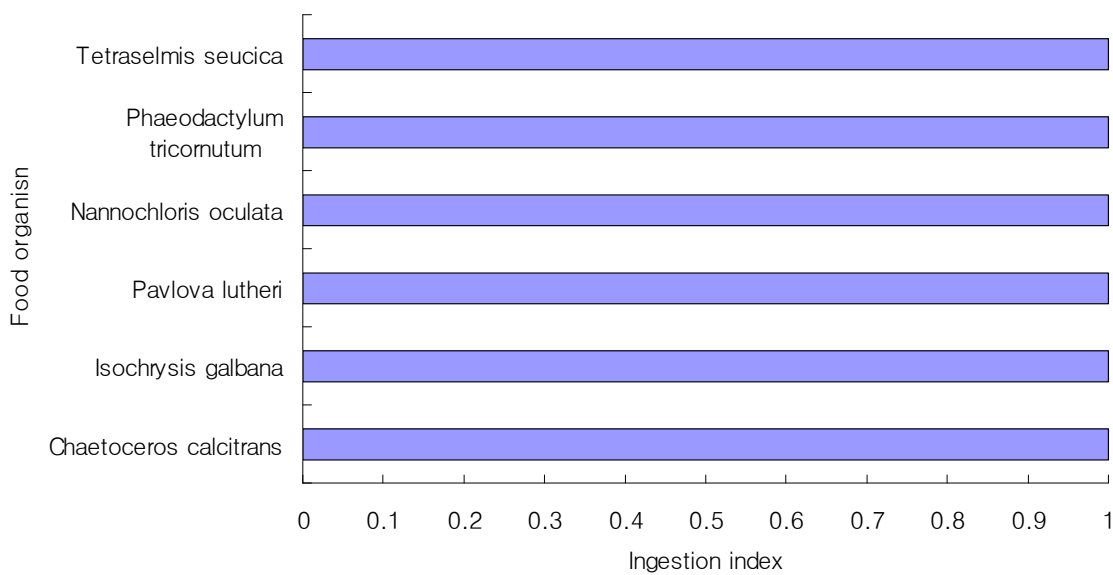


Fig. 43. Ingestion index rate (%) of six microalgal species by *Charonia lampas sauliae* larvae in three hours after fed.

먹이공급후 5시간 쯤 먹이생물의 종류별 소화단계는 실험구별 큰 차이 없이 대부분 소화단계였다. *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*에서 평균 95%이상이 소화를 완료하였고, 일부 배설하는 개체도 관찰되었다. 섭취가 확인된 *Nannochloris oculata*를 공급한 유생에서는 아직 세포용해단계가 관찰되었는데 이는 *Nannochloris oculata*의 세포벽이 두꺼워 소화진행 시간이 늦어지기 때문인 것으로 생각된다(Fig. 45, 46). 먹이공급 후 3시간과 5시간 쯤 조사된 먹이생물의 종류별 소화지수는 *Nannochloris oculata*를 제외하고 비슷한 경향을 보였다(Fig. 47). 8시간 후 모든 실험구에서 배설이 관찰되었고, *Nannochloris oculata*는 섭취는 되었지만, 0.6 이하로 비교적 소화가 부진한 것으로 관찰되었으며, 나머지 먹이생물에서는 소화지수 0.95 이상으로 소화가 활발하게 이루어졌다(Fig. 48).

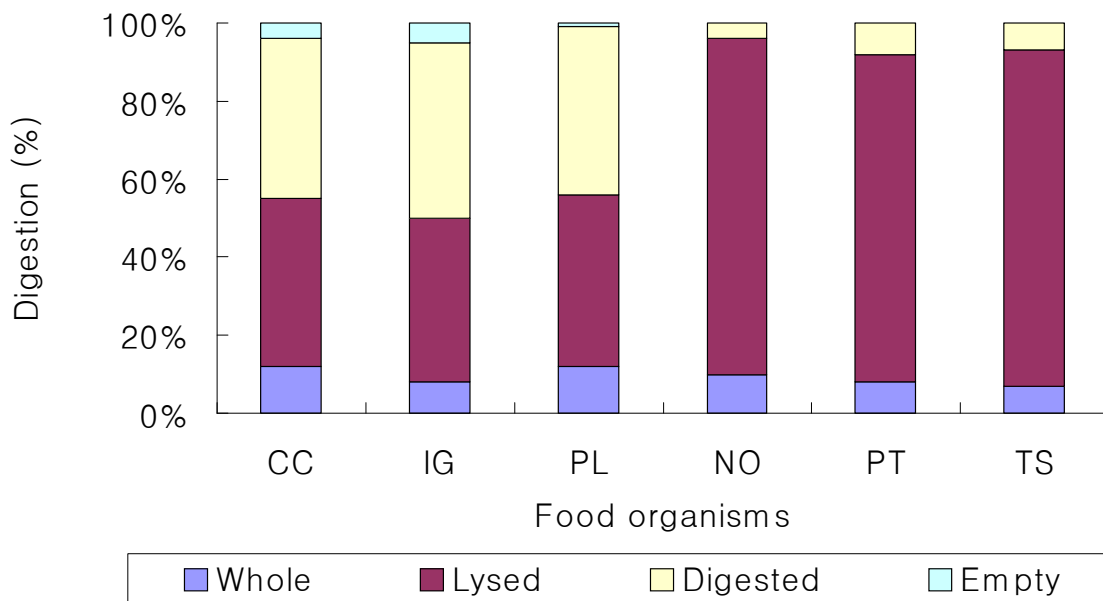


Fig. 44. Digestion rate (%) of six microalgal species by *Charonia lampas sauliae* larvae in three hours after fed. CC: *Chaetoceros calcitrans* IG: *Isochrysis galbana*, PL: *Pavlova luthri* NO: *Nannochloris oculata* PT: *Phaeodactylum tricornutum* TS: *Tetraselmis seucica*

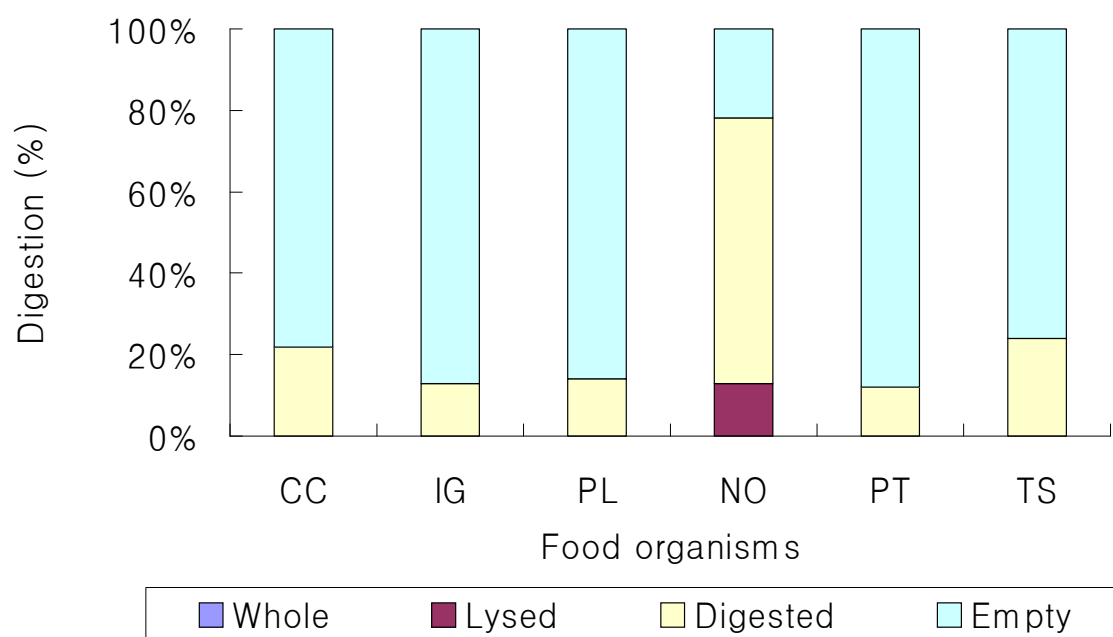


Fig. 45. Digestion rate (%) of six microalgal species by *Charonia lampas sauliae* larvae in five hours after fed.

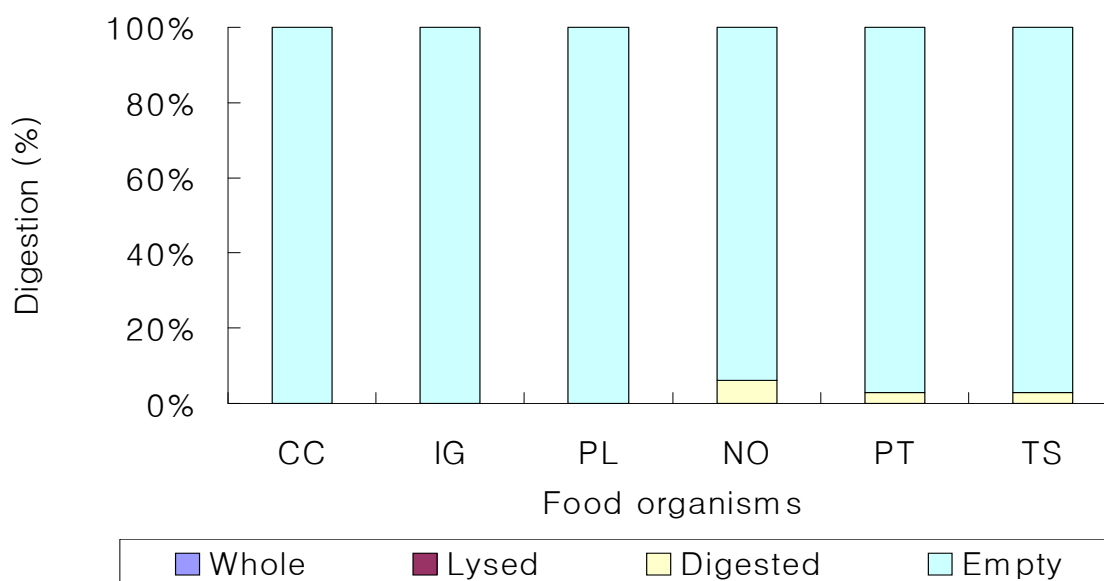


Fig. 46. Digestion rate (%) of six microalgal species by *Charonia lampas sauliae* larvae in eight hours after fed.

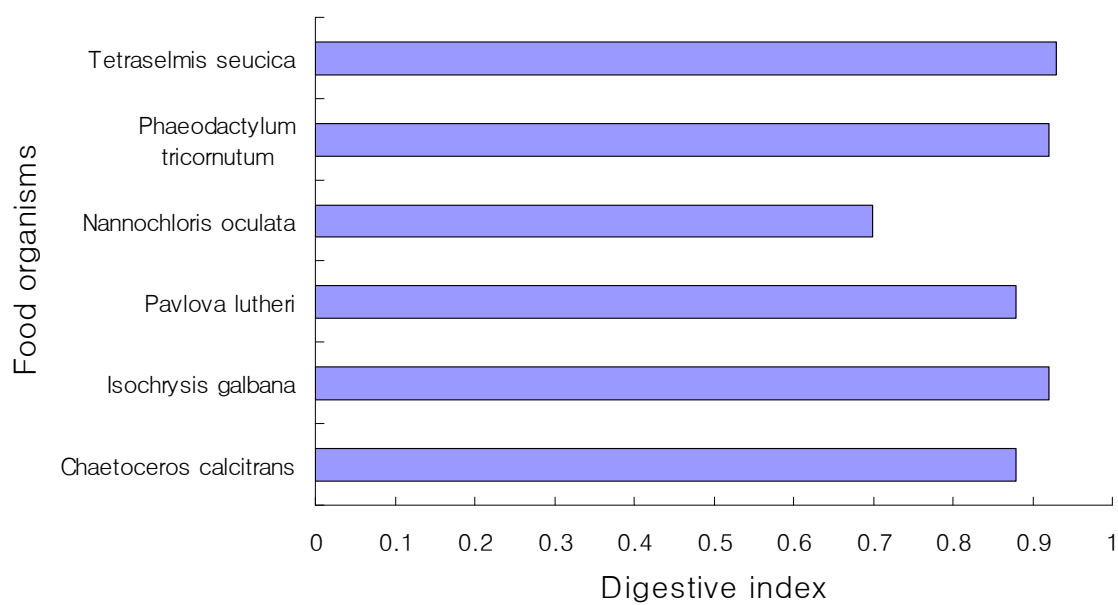


Fig. 47. Digestion index of six microalgal species by *Charonia lampas sauliae* larvae in three hours after fed.

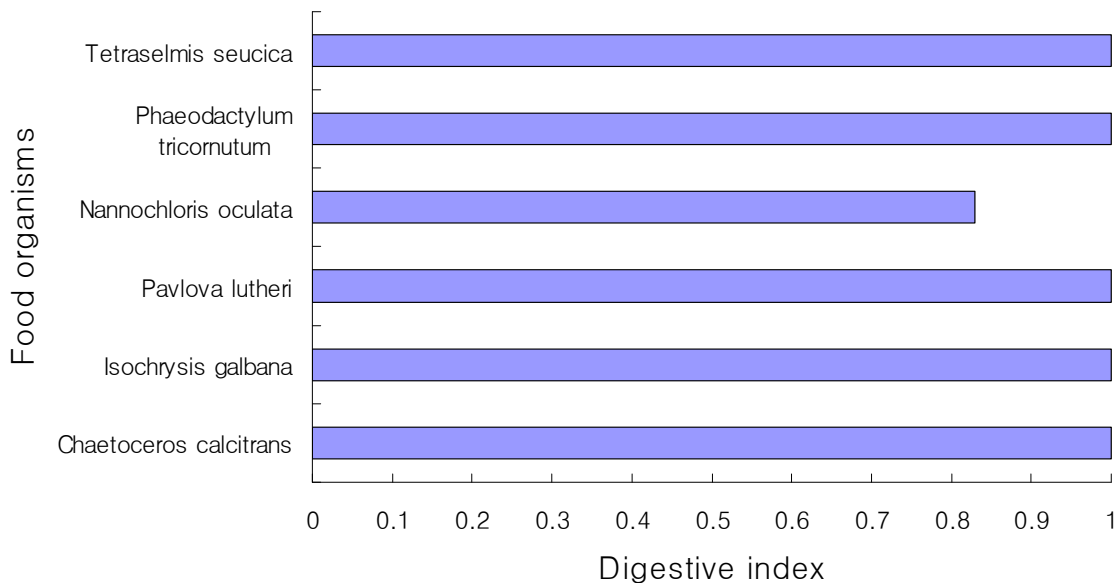


Fig. 48. Digestion index of six microalgal species by *Charonia lampas sauliae* larvae in three hours after fed.

제 6절 먹이공급량과 수용밀도에 따른 치패의 성장

1. 재료 및 방법

나팔고둥 유생 및 치패사육시 적정 먹이공급량을 알아보기 위하여 난양에서 나온 유생을 30 L 수조에 ml당 1마리의 밀도로 수용하였고 먹이로 이용한 식물성플랑크톤은 여수대학교 무척추동물양식연구실의 먹이생물배양실에서 순수배양된 *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*를 혼합 사용하였다. 먹이생물의 공급은 실험개시시 사육해수의 ml당 10^4 cell, 10^5 cell, 5×10^5 cell, 10^6 cell로 투여하였고 이후, 유생의 성장단계에 따라 매 5일마다 공급량의 10%씩

추가하였다.

밀도별 사육실험구의 설정은 ml당 1개체의 수용구를 A 실험구로 하였고, ml 당 2개체를 B, 3개체를 C로 나누어 *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*를 혼합한 후 사육수 ml당 5×10^5 cell이 되도록 하여 매일 공급하였다. 사육수는 매일 1회 전환수하였고, 성장 및 생존은 실험개시 후 5일마다 조사하였으며, 실험기간중 수온은 17°C로 유지시켰다(Table 4).

Table 4. Range of temperatures, algal diets, feeding rates and larval densities tested for the larval *Charonia lampas sauliae*

	Water temperature(°C)	Algal diets	Feeding rate (cells/ml/day)	Larval density (ind./ml)
1. Experimental feeding rate	17±1	<i>Isochrysis galbana</i> , <i>Pavlova lutheri</i>	10^4 cell	1
			10^5 cell	1
			5×10^5 cell	1
			10^6 cell	1
2. Experimental larval density	17±1	<i>Isochrysis galbana</i> , <i>Pavlova lutheri</i>	5×10^5 cell	1
				2
				3

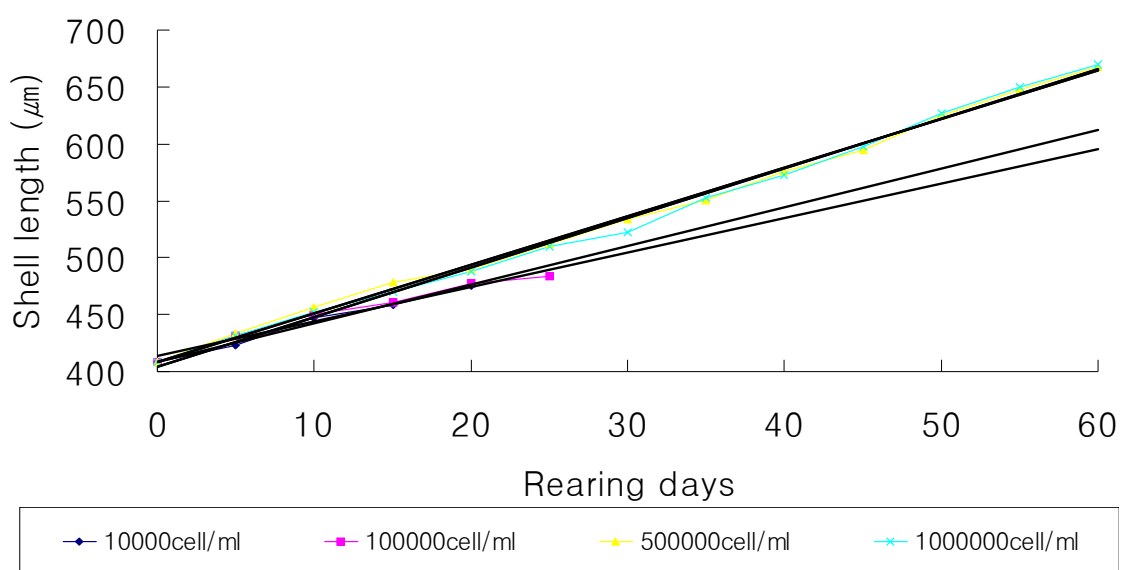


Fig. 49. Growth of larval *Charonia lampas sauliae* at different feeding rates.

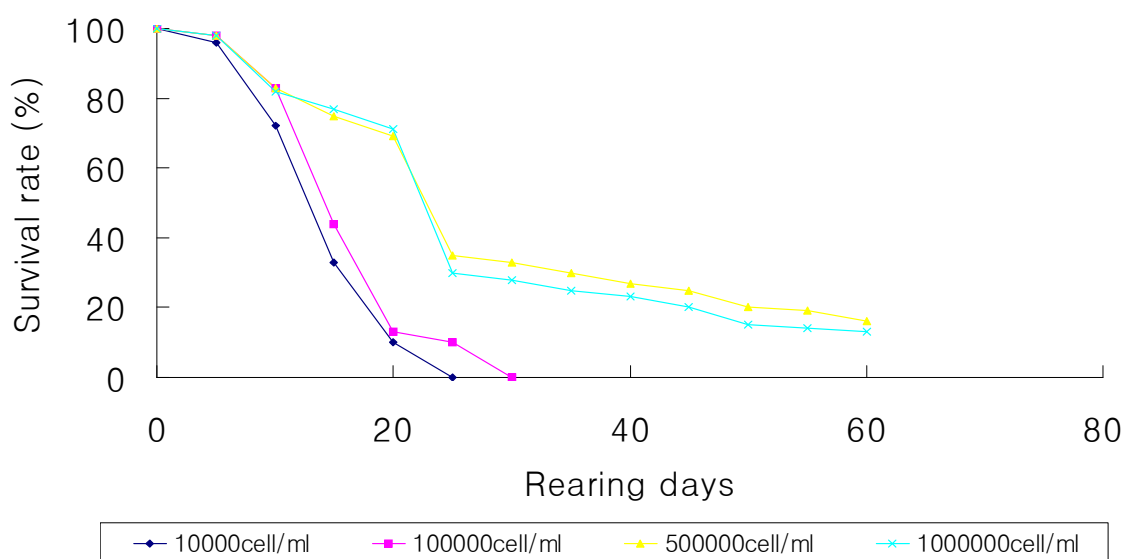


Fig. 50. Survival rate of larval *Charonia lampas sauliae* at different feeding rates.

Table 5. Linear regression equations for shell length of conch veliger from each feeding rates

Experimental feeding rate	Linear regression equation
10^4 cell	SL=3.4RD+408.4 $r^2=0.99$
10^5 cell	SL=3.0229RD+414.05 $r^2=0.9725$
5×10^5 cell	SL=4.3538RD+404.08 $r^2=0.9955$
10^6 cell	SL=4.2527RD+408.8 $r^2=0.9971$

2. 결과 및 고찰

먹이공급량별 나팔고둥 치패의 성장 및 생존을 조사한 결과, ml당 10^6 cell을 공급한 실험구에서 실험개시시 $408 \pm 24.3 \mu\text{m}$ 이던 것이 30일 후 $522 \pm 32.5 \mu\text{m}$, 60일 후 $670 \pm 41.9 \mu\text{m}$ 로 성장하여 가장 높은 성장을 보였고, 13%의 생존율을 보였다. ml당 5×10^5 cell공급구는 30일 후 $524 \pm 41.2 \mu\text{m}$, 60일 후 $668 \pm 32.5 \mu\text{m}$ 의 성장을 보였고, 생존율은 16%로 가장 높게 나타났다. 이에 반해 ml당 10^4 cell와 10^5 cell을 공급한 실험구에서는 실험개시 20일 후 각각 $475 \pm 52.2 \mu\text{m}$, $484 \pm 46.3 \mu\text{m}$ 의

성장을 보였으나 각각 23일과 28일째 전량 폐사하였다(Fig. 49, 50). 이는 초기 유생사육시 먹이부족으로 인한 기아 때문인 것으로 생각된다.

사육밀도별 성장 및 생존을 조사한 결과, 모든 실험구에서 60일 후 670~680 μm 로 비슷한 성장을 보였고, 생존의 경우 각 실험구에서 30일 후 A구 53%, B구 26%, C구 20%를 보였으며, 60일 후 생존율은 A구 22%, B구 10%, C구 6%를 보여 최종 밀도는 A, B, C 실험구 모두 약 5 ml당 1개체의 결과를 보였다(Fig. 51, 52).

이러한 결과를 종합해 볼 때 나팔고둥 유생 및 치패사육시 최적 먹이공급량 및 사육밀도는 각각 1 ml당 5×10^5 cell공급구와 1 ml당 1개체의 사육밀도로 판단된다.

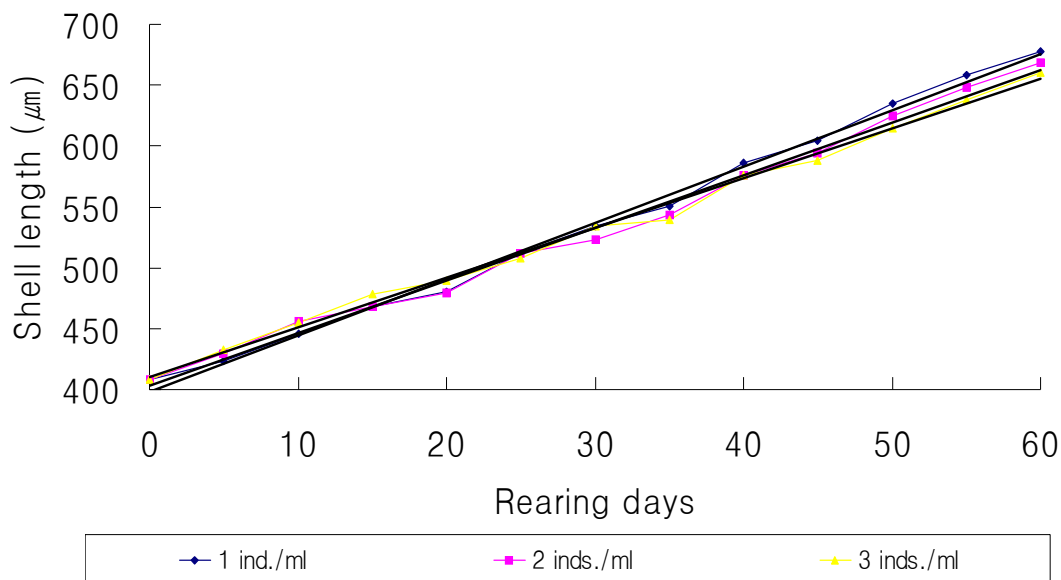


Fig.51 . Growth of larval *Charonia lampas sauliae* at various larval densities.

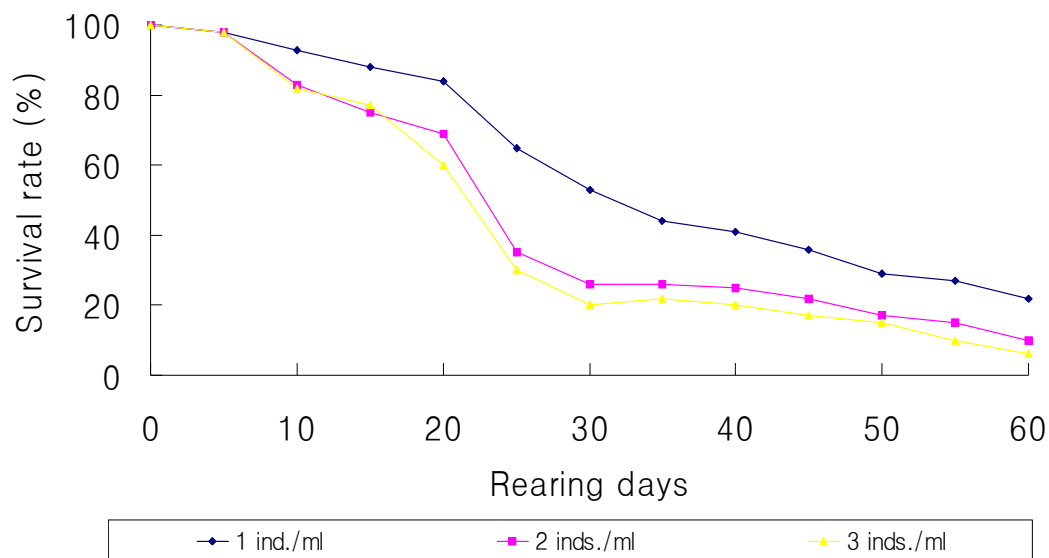


Fig. 52. Survival rate of larval *Charonia lampas sauliae* at various larval densities.

제 7절 나팔고둥 정자 및 유생의 동결보존

1. 재료 및 방법

가. 정자

정자의 동결보존 전 단계로 동결보존시 적정 희석액 종류 및 농도를 파악하기 위하여 희석액의 종류와 농도에 따른 정자의 냉장보존 효과를 조사하였다. 실험에 사용된 희석액은 Alsever's solution, marine fish ringer solution, 0.1 M, 0.3 M, 0.5 M glucose로 각각 5:1의 비율로 정액과 희석한 후 0.5 ml vial에 분주하였다. 이후 각 vial을 4°C의 냉장고에 보존하면서 1일 간격으로 8일 동안 정자의 운동성과 생존율을 조사하였다. 정자의 냉동보존은 동해방지제 농도별 실험에서는 dimethyl sulfoxide를 최종 농도가 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 및 40% 되도록

하였으며, 평형시간은 1, 2분 이내로 하였다.

해동한 정자의 운동성과 생존율은 냉장보존의 경우 24시간마다 조사하였고, 냉동보존의 경우 24, 48, 72시간 경과 후 조사하였다.

냉동보존 실험에서 정자의 냉동은 희석정액이 주입된 0.5 ml 용량의 straw를 액체질소 증기(-76℃)에 의해 1차 냉동한 다음 즉시 액체질소(-196℃)에 넣어 급속 냉동하였고, 냉동된 정자는 실험하기 전까지 액체질소 탱크에 보존하였다.

나. 부화유생

냉동보존 시 사용된 재료는 산란 후 61일 경과한 부화직후의 veliger 유생으로서 평균각장 $412 \pm 23.3 \mu\text{m}$ 였다(Fig. 53). 나팔고등 유생의 냉동보존 시 적정 동해방지제와 농도를 조사하기 위하여 동해방지제로서 dimethyl sulfoxide, ethylene glycol, glycerol 및 1,2-propanediol를 사용하였으며, 각각 최종 농도가 1.5 M 및 2 M이 되도록 하여 냉동보존을 실시하였다. 각 용액의 삼투질농도는 삼투압측정기(VS-15000N)를 사용하여 측정하였고(Table 6), 평형시간은 모두 20분씩으로 설정하였다. 각 동해방지제에서 평형시간을 가진 유생은 0.5 ml straw (Japan, FHK)에 넣어 봉입하였으며, 프로그램 냉동기 (Kryosave integra, Rovers Polska, UK)에 의해 -35℃까지 1차 냉동한 다음, -196℃의 액체질소통 (USA, MVE)에 넣어 2차냉동하였다(Fig. 54). 냉동보존된 유생의 해동은 30℃에서 급속 해동하였으며, 15일간 생존율을 조사하였다.



Fig. 53. Sperm and larva of Trumpet shell used in the experiment.

A: sperm, bar: 50 μm ; B: larva, bar: 100 μm

Table 6. Constituents and osmolality of cryoprotectants and diluents used in the larva cryopreservation of *Charonia lampas sauliae*.

Kind	Concentration (M)	Constituent (ml)	Osmolality (mOsm/kg)
DMSO	1.5	DMSO 10.76/Diluent 100	> 3000
	2.0	DMSO 14.25/Diluent 100	> 3000
Glycerol	1.5	Glycerol 11.16/Diluent 100	> 3000
	2.0	Glycerol 14.88/Diluent 100	> 3000
PD	1.5	PD 11.13/Diluent 100	> 3000
	2.0	PD 14.84/Diluent 100	> 3000
EG	1.5	EG 11.16/Diluent 100	> 3000
	2.0	EG 14.88/Diluent 100	> 3000

DMSO: dimethyl sulfoxide, PD: 1,2-propanediol, EG: ethylene glycol.

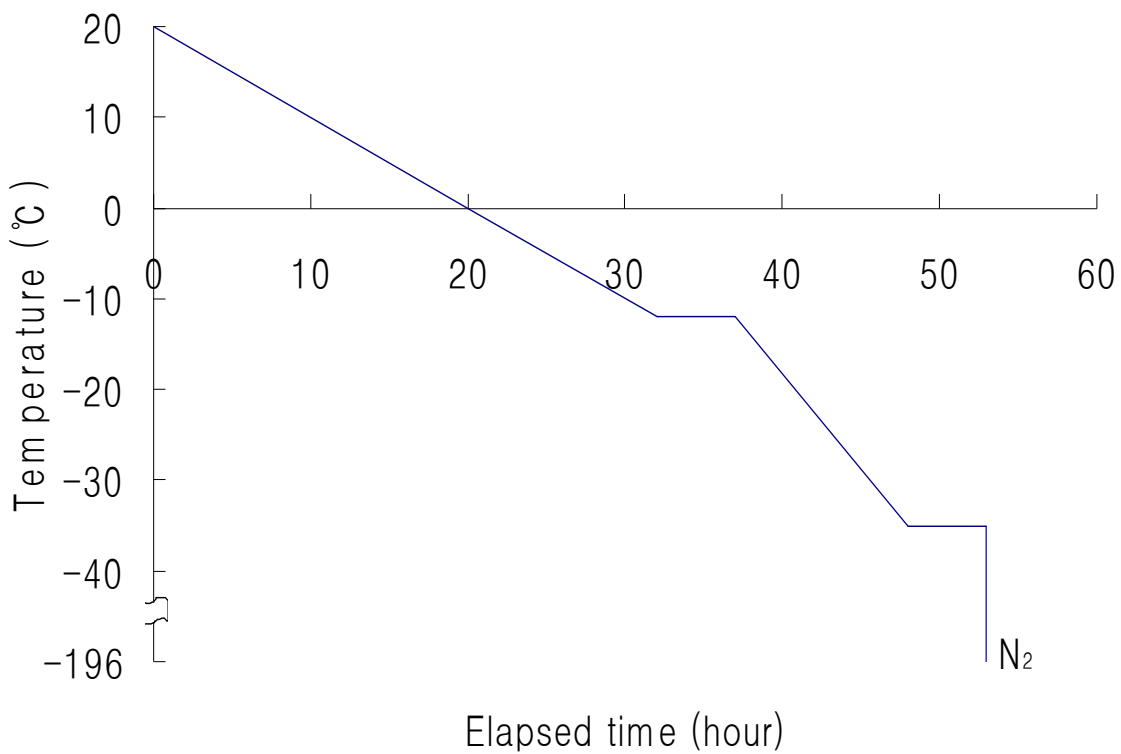


Fig. 54. Freezing rate graph used in the experiment.

2. 결과 및 요약

가. 정자

나팔고둥 정자의 동결보존 효과를 조사하기 위하여 채정 직후 정액을 희석액별로 혼합하여 4°C로 유지한 다음, 보존 기간에 따른 SAI (sperm activity index)와 정자의 생존율을 조사한 결과는 Fig. 55과 같이 희석액별 희석 직후의 SAI는 Control구와 marine fish ringer solution에서 4와 2.4로 가장 높았고, 0.5 M glucose에서 0.5로 가장 낮았다. 그러나, 보존 1일째 SAI는 Control구에서 급격히 떨어진 반면, marine fish ringer solution에서는 서서히 낮아지면서 보존 8일째 까지도 0.4로 비교적 높게 유지되어 보존 효과가 가장 좋았다. 희석액별 정자의 생존율에서도 보존기간별 SAI와 비슷한 경향을 보여, 보존 8일째 정자의 생존율은

marine fish ringer solution에서 40.4%로 가장 높았으나, 0.5 M glucose에서 11.5%로 가장 낮았다.

동해방지제인 dimethyl sulfoxide의 농도에 따라 혼합한 정액을 액체질소에서 냉동보존하여 해동 직후의 생존율을 조사한 결과는 Fig. 56과 같이 해동 직후 정자의 생존율은 평행시간을 1분 이내로 한 실험구에서는 dimethyl sulfoxide 20%의 농도에서 25.3%로 가장 높았고, dimethyl sulfoxide 40%에서는 5.4%로 가장 낮은 생존율을 보였다. 평행시간을 2분 이내로 한 실험구에서는 dimethyl sulfoxide 15%의 농도에서 33.7%의 생존율을 보여 평행시간 1분을 두었을 때보다 더 높은 생존율을 보였다. 이후 나팔고등 정자의 냉동보존 실험은 배우자의 구조와 생리적 특성 등을 잘 파악하여 적합한 액상보존 방법과 희석액의 종류 및 농도를 구명하고 냉동보존시 고려해야 하는 요인들에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 생각된다. 특히, 생존율에 큰 영향을 미친다고 보고하고 있는 배우자와 냉동률과의 관계, 동해방지제의 투과성 여부와 관련한 평행시간 등 복합요인의 작용과 적정 해동 조건 등의 조사를 통해 보다 안정적인 종 보전을 위해 심도 있는 연구가 진행되어야 할 것이다.

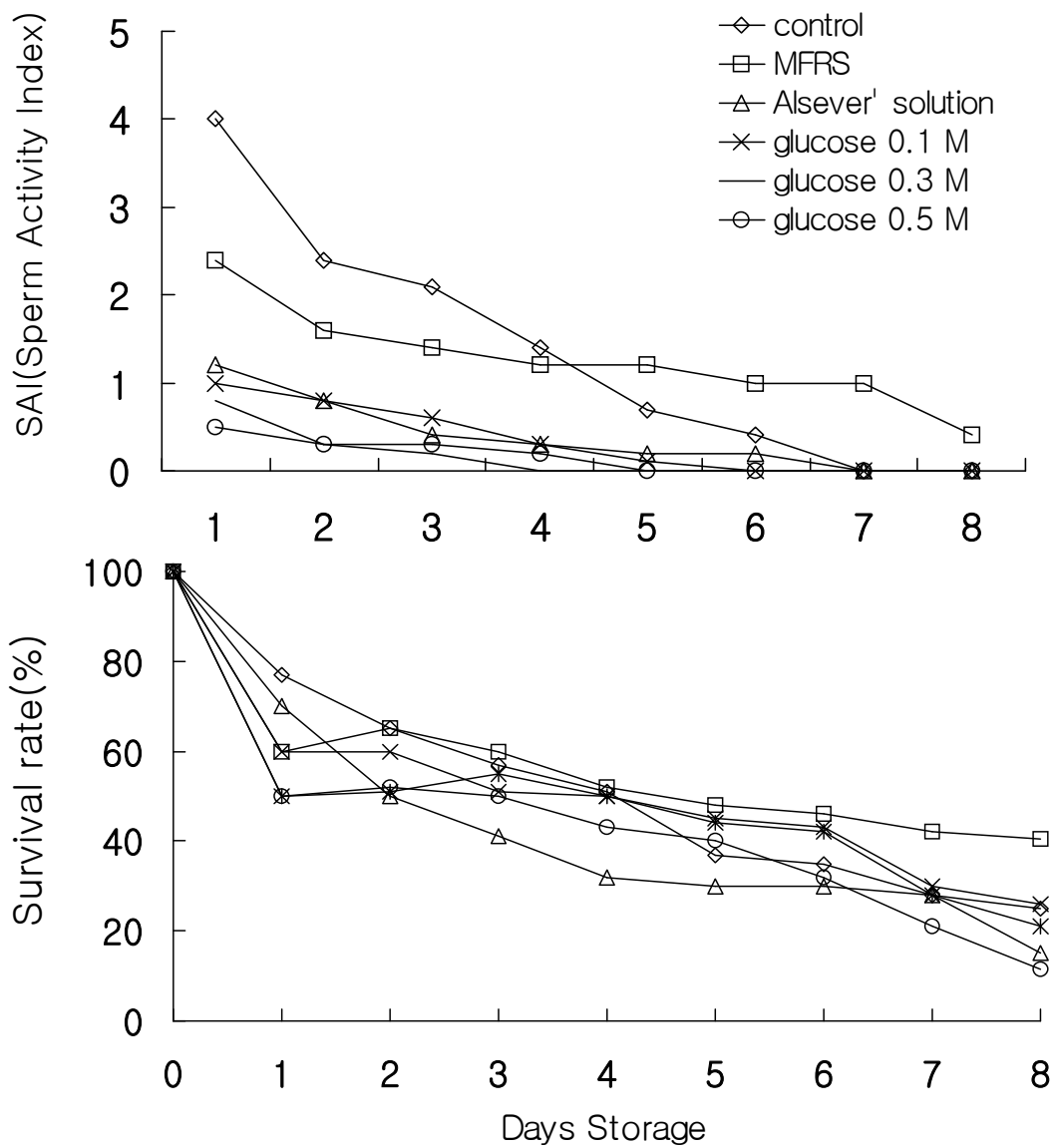


Fig. 55. Variation of Sperm activity index and survival rate in Trumpet shell, *Charonia lampas sauliae* sperm stored at 4 °C with six diluents.

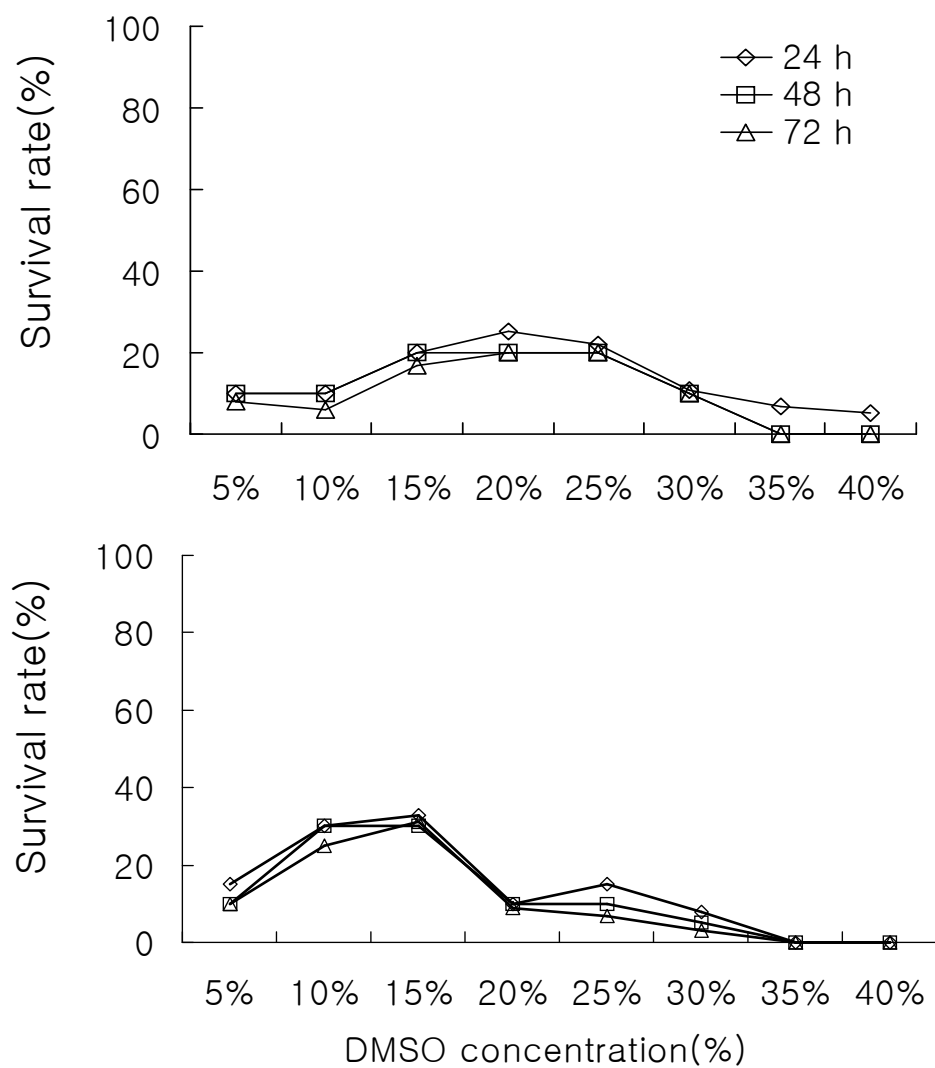


Fig. 56. Variation of survival rate in Trumpet shell, *Charonia lampas sauliae* sperm stored at -196 °C with dimethyl sulfoxide concentration. (equilibrium: 1, 2 min.).

나. 부유유생

나팔고둥 유생의 냉동보존시 적정 동해방지제를 알아보기 위하여 동해방지제 종류별, 농도별 평형시간에 따른 생존율을 조사한 결과, 평형시간을 20분 둔 실험구의 경우 dimethyl sulfoxide 1.5 M에서 81%로 가장 높았고, 2.0 M에서 61%, 1.0 M에서 58%의 생존을 나타내었다.

나팔고둥 유생의 냉동보존 결과, 냉동보존 1시간 후 각 동해방지제 1.5 M의 경우 dimethyl sulfoxide가 $72.67 \pm 7.51\%$ 로 가장 높은 생존율을 나타내었고, 그 다음으로 glycerol $11.7 \pm 4.7\%$, ethylene glycol $10.5 \pm 0.71\%$, 1,2-propanediol $7.0 \pm 1.3\%$ 순이었다. 또한 동해방지제 2.0 M의 농도에서는 DMSO $58.00 \pm 7.64\%$ 로 역시 가장 높은 생존율을 보였으며, glycerol과 ethylene glycol이 각각 $10.3 \pm 1.2\%$, $8.1 \pm 1.0\%$ 였던 반면 1,2-propanediol에서는 $18.1 \pm 2.1\%$ 의 생존율을 보여 1.5 M보다 높게 나타났다(Fig. 57).

냉동보존일수에 따른 생존율은 1일 후 dimethyl sulfoxide에서 $80.00 \pm 3.21\%$ 의 생존율을 보였던 반면, glycerol, 1,2-propanediol 및 ethylene glycol에서는 각각 $15.0 \pm 4.4\%$, $12.1 \pm 2.9\%$, $10.3 \pm 5.2\%$ 로 비슷한 결과를 보였다. 보관 15일째에도 dimethyl sulfoxide $77.3 \pm 5.0\%$, glycerol $14.1 \pm 3.1\%$, 1,2-propanediol $10.5 \pm 1.5\%$, ethylene glycol $8.6 \pm 0.7\%$ 로 비슷한 결과를 보여 냉동보존일수 따른 생존율의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다(Fig. 58, 59).

또한 난 발생 단계별 냉동보존 효과를 조사한 결과, 수정란의 경우 생존율 3%, Trochophore 39%, Veliger 79%로 Veliger에서 가장 냉동보존 효과가 높게 나타났다(Fig. 60).

Fig. 61은 나팔고둥 유생의 냉동보존 후 외부적 형태를 광학현미경 하에서 관찰한 것으로서 비정상개체의 경우 패각속의 내장기관이나 근육조직이 파열되어 폐사한 것을 관찰 할 수 있었다.

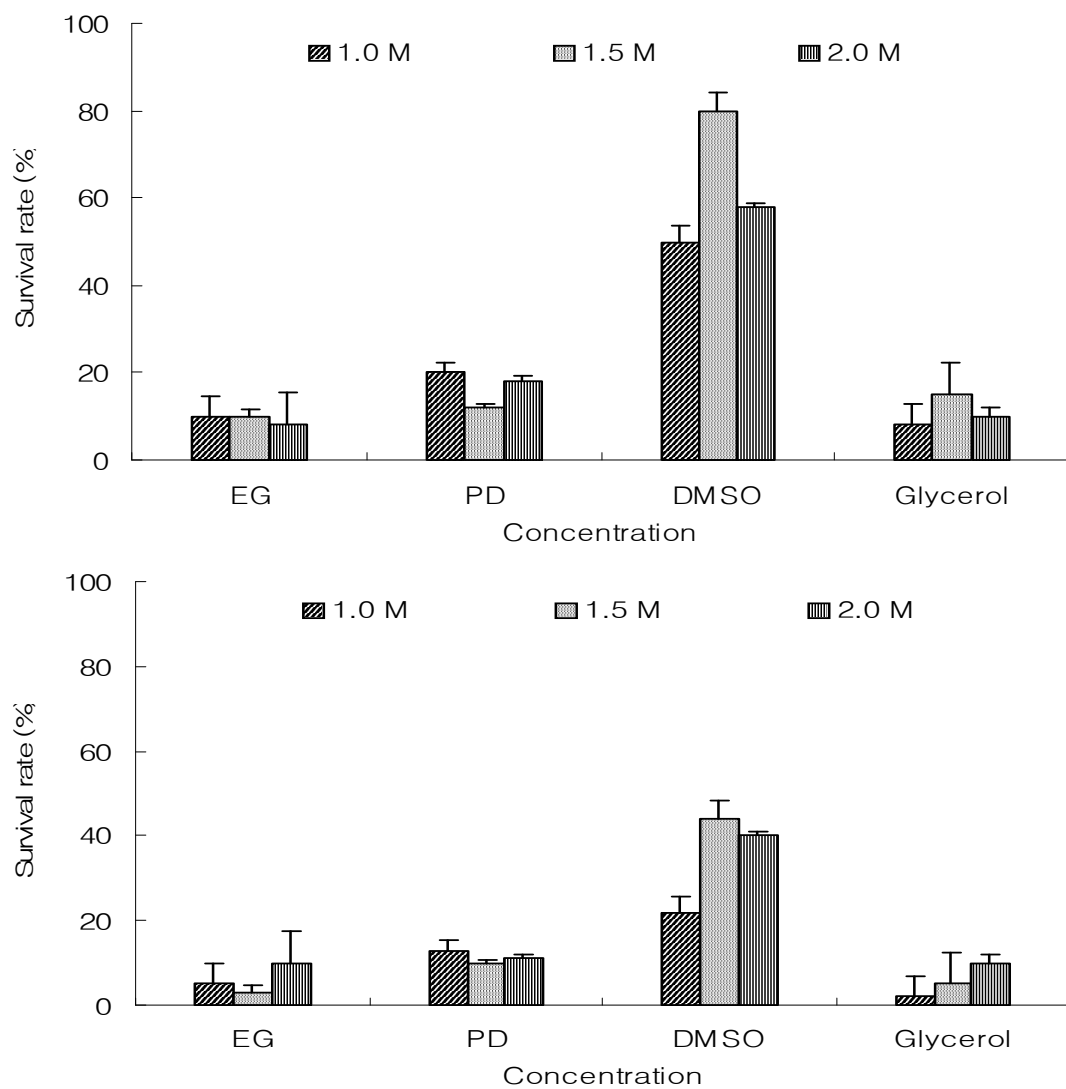


Fig. 57. The survival rate (mean \pm SE) of trumpet shell, *Charonia lamps sauliae* larvae, which had been frozen for 1 hr., and then passed through 1hr after being thawed. DMSO: dimethyl sulfoxide; PD: 1,2-propanediol; EG: ethylene glycol.

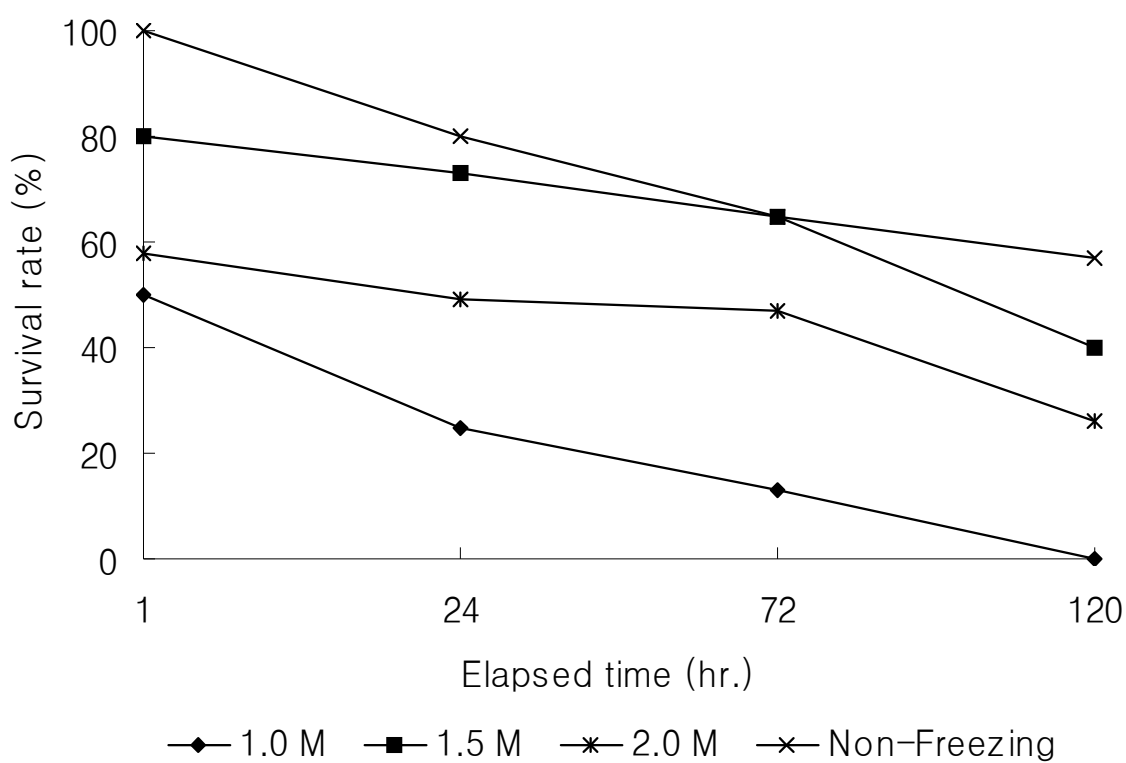


Fig. 58. The survival rate of trumpet shell, *Charonia sauliae* larvae, which had been frozen for 1 hr. using DMSO as cyroprotectant, and then were determined at different elapsed time after being thawed. DMSO: dimethyl sulfoxide.

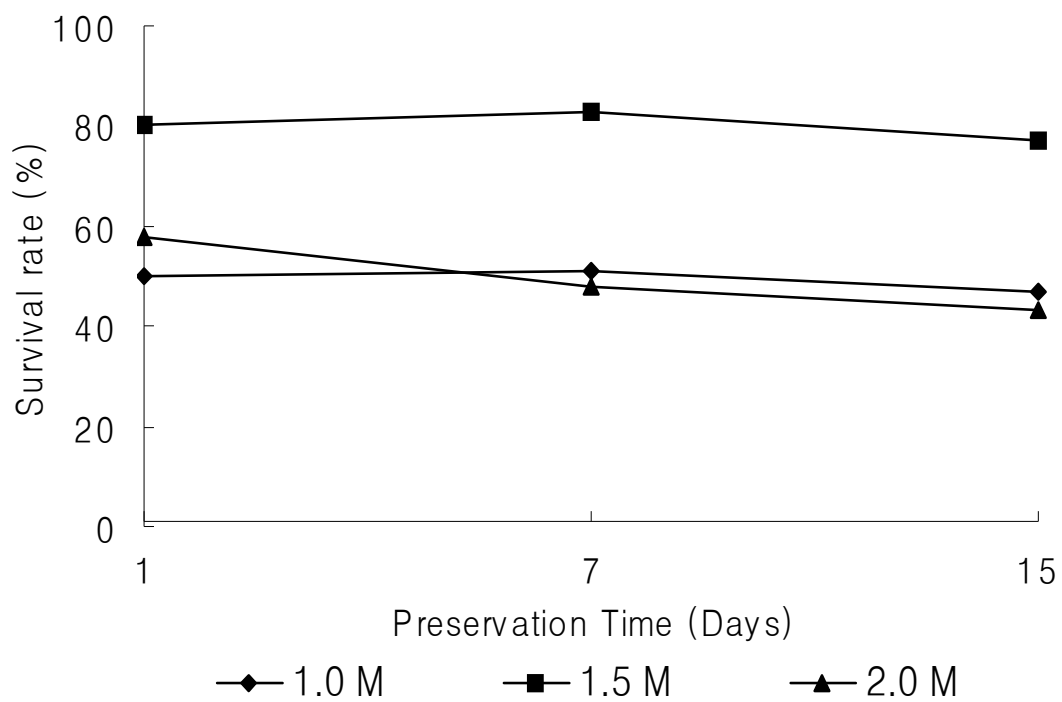


Fig. 59. The survival rate using DMSO at the concentration with the storage for 1 day, 7 days and 15 days. DMSO: dimethyl sulfoxide.

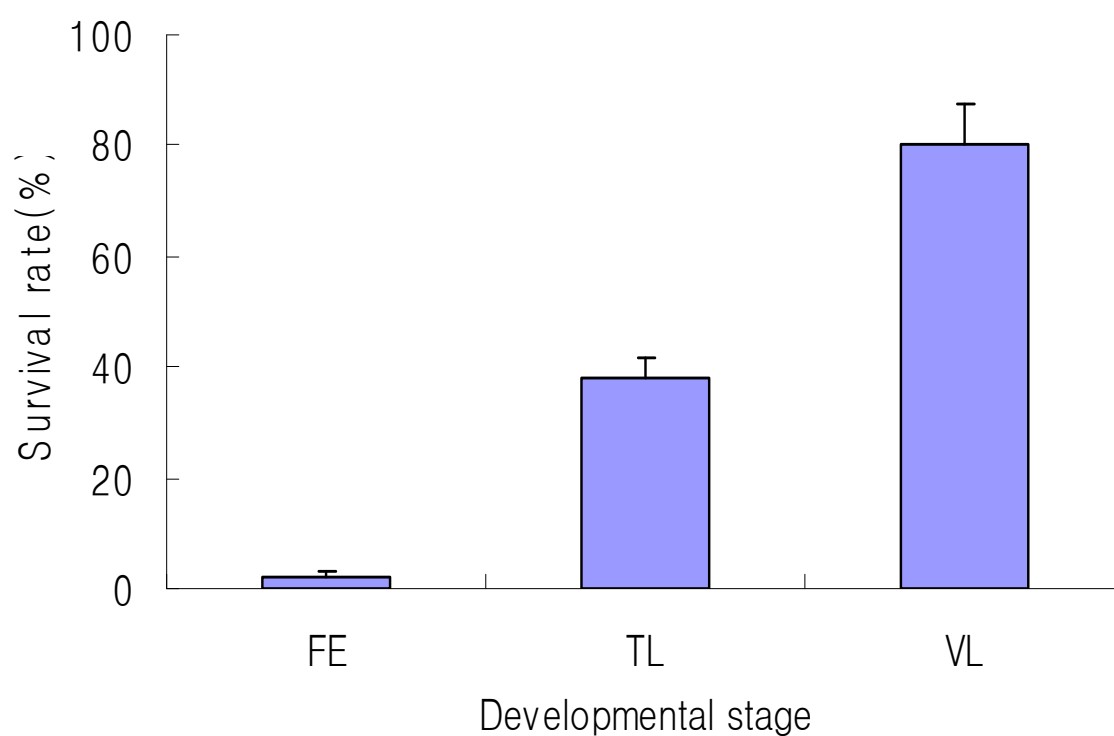


Fig. 60. Survival rate of post- thawed larvae in each developmental stage of *Charonia lampas sauliae*. FE: Fertilization egg, TL: Trochophore larvae, VL: Veliger larvae.



Fig. 61. Microscope photograph of post-thawed larvae of Trumpet shell, *Charonia lampas sauliae*. Scale bar: 100 μm , A: Normal, B: abnormal.

제 8절 나팔고둥의 환경내성

1. 재료 및 방법

해양생물의 실내 사육을 위한 환경요인으로 가장 중요한 수온과 염분에 대한 나팔고둥 어미와 유생의 내성에 관하여 실험하였다. 실험에 사용한 나팔고둥 어미는 실험실에서 실내사육중인 개체들로 버니어캘리퍼스와 전자저울로 외부적형태를 계측하였는데, 평균각장과 평균각폭 및 평균전중은 각각 153.0 ± 14.1 mm, 65.2 ± 13.9 mm, 261.7 ± 54.3 g이었다.

실험구 설정은 수온의 경우 0°C 부터 35°C 까지 5°C 간격으로 8개의 실험구로 나누어 2시간 간격으로 12시간까지 생존을 관찰하였고 염분은 0‰부터 60‰까지 10‰간격으로 7개 실험구로 나누어 10시간 간격으로 40시간까지 관찰하였다. 실험에 사용한 수조는 관찰을 용이하게 하기 위하여 50L 사각 유리수조를 사용하였고, 실험구당 10마리씩 수용하였다.

유생은 실험실에서 실내사육중인 개체들로 광학현미경 하에서 외부적형태를 계측하였는데, 평균각장 423.4 ± 34.1 μm 였다. 실험구 설정은 수온의 경우 0°C 부터 35°C 까지 5°C 간격으로 8개의 실험구로 나누어 3시간 간격으로 72시간까지 생존을 관찰하였고 염분은 0‰부터 100‰까지 10‰간격으로 11개 실험구로 나누어 3시간 간격으로 120시간까지 관찰하였다. 실험에 사용한 수조는 관찰을 용이하게 하기 위하여 2 L 용기에 ml당 유생 1마리의 밀도로 수용하였다. 유생의 폐사 여부 기준은 유생이 유영하지 않는다 하더라도 두부나 족부의 섬모가 움직이거나 심장박동이 관찰되면 살아있는 개체로 판단하였고, 아무런 움직임이 없는 경우 폐사한 것으로 판단하였다.

2. 결과 및 고찰

나팔고둥 어미의 수온과 염분에 대한 내성을 관찰한 결과 수온의 경우 5~25℃의 실험구에서는 실험종료시까지 100% 생존한 반면 0℃에서는 실험개시 8시간 후 모두 폐사하였다. 또한 수온 30℃에서는 4시간까지 100%의 생존율을 보였으나 10시간째에 모두 폐사하였고, 35℃에서는 실험개시 2시간 이내에 모두 폐사하였다. 이러한 결과로 나팔고둥은 고수온에 비하여 저수온에서 비교적 강한 내성을 보이는 것으로 판단된다(Table 7).

Table 7. Survival rate of *Charonia lampas sauliae* under various water temperature conditions

Duration (hr.)	Water temperature (°C)							
	0	5	10	15	20	25	30	35
Initial	100	100	100	100	100	100	100	100
2	100	100	100	100	100	100	100	–
4	60	100	100	100	100	100	100	–
6	30	100	100	100	100	100	70	–
8	–	100	100	100	100	100	30	–
10	–	100	100	100	100	100	–	–
12	–	100	100	100	100	100	–	–

Table 8. Survival rate of *Charonia lampas sauliae* under various salinity conditions

Duration (hr.)	Salinity (‰)						
	0	10	20	30	40	50	60
Initial	100	100	100	100	100	100	100
10	70	80	100	100	100	50	–
20	–	60	100	100	100	20	–
30	–	40	100	100	100	–	–
40	–	10	90	100	80	–	–

염분내성 실험에서는 30‰에서 실험종료시인 40시간까지 100% 생존하였고, 20‰와 40‰구에서 실험종료시 각각 90%와 80%의 생존율을 보인 반면에 10‰에서는 10%의 생존율을 보였고, 0‰와 50‰ 및 60‰ 실험구에서는 실험기간중 모두 폐사함으로써 고염분의 서식환경에 비해서 저염분의 환경에 강한 저항력이 있다고 생각된다(Table 8).

유생의 수온내성 실험결과, 5℃에서 20℃ 구간에서 72시간 후 모두 100% 생존하였고, 25℃ 구에서도 실험개시 92%의 비교적 높은 생존율을 보였다. 또한 0℃와 30℃에서는 각각 12시간, 24시간 이후 모두 폐사하였고, 30℃에서는 실험시작과 동시에 활발한 유영능력을 보이다가 실험개시 6시간 후부터 유영능력을 잃고 저면에 내려앉아 심장박동과 족부의 섬모운동만이 관찰되었으나 24시간 이후 모두 폐사하였다(Table 9).

수온 실험에서 가장 생존율이 높았던 20℃를 설정한 후 염분내성 실험을 한 결과, 자연상태와 비슷한 30‰와 40‰ 구에서 100%로 가장 높은 생존율을 보였고, 20‰와 50‰ 구에서도 92%, 94%로 비교적 높은 생존율을 보인 반면 10‰와 70‰ 구에서는 실험개시 6시간 이후 폐사하였고, 0‰와 80‰이상의 염분에서는 실험개시 직후 활력을 잃어 유영을 하지 못하고 바닥에서 움직임을 보이다가 1시간 후 전량 폐사하였다(Table 10).

Table 9. Survival rate of *Charonia lampas sauliae* larvae under various water temperature conditions

Duration (hr.)	Water temperature (°C)							
	0	5	10	15	20	25	30	35
Initial	100	100	100	100	100	100	100	100
3	100	100	100	100	100	100	100	–
6	100	100	100	100	100	100	100	–
12	70 ^b	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	93 ^{ab}	90 ^{ab}	–
24	–	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	92 ^b	30 ^c	–
48	–	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	92 ^b	–	–
72	–	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	92 ^b	–	–

*values within the same column with different letters are significantly different (P<0.05)

Table 10. Survival rate of *Charonia lampas sauliae* larvae under various salinity conditions

Duration (hr.)	Salinity (‰)										
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Initial	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	–	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	90 ^b	50 ^c	–	–	–
6	–	60 ^b	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	70 ^b	25 ^c	–	–	–
12	–	–	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	50 ^b	–	–	–	–
24	–	–	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	50 ^b	–	–	–	–
48	–	–	96 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	50 ^b	–	–	–	–
72	–	–	96 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	50 ^b	–	–	–	–
120	–	–	92 ^b	100 ^a	100 ^a	94 ^b	–	–	–	–	–

*values within the same column with different letters are significantly different (P<0.05)

제 9절 나팔고둥의 포식특성

1. 재료 및 방법

실험에 사용한 나팔고둥은 제주도 연안에서 채집한 *Charonia lampas sauliae*와 *Charonia lampas macilenta*로서 실험구 설정은 현재까지 확보된 어미의 각장을 기준으로 각각 대형, 중형, 소형으로 나누어 불가사리류와 유용 해양 무척추동물에 대한 포식성을 조사하였다(Table 11).

실험에 먹이로 사용한 불가사리는 아무르불가사리(*Asterias amurensis*), 별불가사리(*Asterina pectinifera*)이고, 유용 해양 무척추동물은 해삼(*Stichopus japonicus*), 말뚝성게(*Hemicentrotus pulcherrimus*), 보라성게(*Anthocidaris crassispina*), 전복(*Haliotis discus hannai*), 피조개(*Anadara broughtonii*)와 바지락(*Tapes philippinarum*) 등 8종으로 각각의 먹이에 대한 선택성 및 포식 특성을 30일 동안 조사하였다(Table 12).

Table 11. Measurement of the trumpet shells used in the experiment

Species		Shell length ±SD (cm)	Shell width ±SD (cm)	Total weight ±SD (g)
<i>C.l.sauliae</i>	L	23.5±2.3	12.5±1.7	951.3±184.6
	M	19.4±1.3	10.8±1.3	524.5±109.4
	S	16.1±0.8	8.1±1.3	302.6±30.5
<i>C.l.macilenta</i>	L	23.6±0.7	12.6±2.4	966.1±107.6
	M	19.2±1.3	10.2±1.3	529.4±127.3
	S	16.5±0.4	8.2±1.4	306.1±32.1

L: Large group, M: Middle group, S: Small group.

Table 12. Measurement of the various preys used in the experiment

Species	Shell length ±SD (cm)	Shell height ±SD (cm)	Total weight ±SD (g)
<i>Asterias amurensis</i>	6.84±0.56		73.21±12.12
<i>Asterina pectinifera</i>	5.32±0.54		74.82±8.41
<i>Stichopus japonicus</i>	5.56±1.36		43.2±5.47
<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i>	3.75±0.21		31.23±5.31
<i>Anthocardis crassispina</i>	4.78±0.31		46.21±8.82
<i>Haliotis discus hannai</i>	7.21±1.38	4.66±0.96	42.21±5.91
<i>Anadara broughtonii</i>	3.32±0.31	3.13±0.31	14.21±2.81
<i>Tapes phillipinarum</i>	3.26±0.19	2.33±0.13	10.24±2.12

2. 결과 및 고찰

나팔고둥 종류별, 크기별 불가사리류에 대한 포식량을 30일간 조사한 결과, *Charonia lampas sauliae*의 경우, 실험 종료시 대형개체군은 아무르불가사리와 별불가사리를 각각 1303 g, 1935 g을 포식하여 비체중 포식량으로 나타내면 나팔고둥 g당 1.08 g, 2.03 g을 포식하였다. 중형개체군은 912 g, 1182 g을 포식하여 g당 먹이소비량은 각각 1.74 g, 2.26 g이었고, 소형개체군은 213 g, 319

g을 포식하여 g당 먹이소비량은 0.71 g, 1.06 g으로 비체중 먹이소비량은 중형개체군에서 가장 높았다. *Charonia lampas macilenta* 대형개체군은 아무르불가사리와 별불가사리를 각각 1952 g, 1008g을 포식하여 비체중 먹이포식량은 아무르불가사리와 별불가사리에 대하여 각각 2.02 g, 1.04 g이었고, 중형개체군은 1202 g, 603 g을 포식하여 비체중 먹이포식량이 2.74 g, 1.14 g으로 가장 높았다. 또한 소형개체군은 334 g, 164 g을 포식하여 비체중 먹이포식량이 1.09 g, 0.54 g으로 *Charonia lampas sauliae*은 별불가사리, *Charonia lampas macilenta*는 아무르불가사리를 더 많이 포식하여 서식지별로 선호하는 먹이가 다르게 나타났다. 또한 유용 해산무척추동물을 대상으로 포식특성을 관찰한 결과, 해삼, 보라성게 및 말뚝성게의 경우 *Charonia lampas sauliae*와 *Charonia lampas macilenta* 각 실험구에서 10~20 g 정도로 거의 포식하지 않았고, 전복, 피조개 및 바지락을 대상으로 한 실험에서는 포식행동을 보이지 않았다(Fig. 62). 한편 나팔고둥의 먹이 선택성을 조사하기 위해 혼합 수용한 실험구에서는 불가사리류를 우선 선택하여 포식하였고, 그 뒤를 이어 해삼을 포식하였으며, 말뚝성게와 보라성게는 공격하여 폐사시켰으나 포식하지는 않은 반면 전복, 피조개, 바지락에 대해서는 포식행동을 보이지 않았다. 또한 본 실험에서 가장 먹이선호도가 좋았던 별불가사리를 대상으로 먹이 포식 과정을 관찰한 결과 불가사리에 대해서 입수 후 즉시 반응을 보였으며, 불가사리를 완전히 포식하는데 걸리는 시간은 3시간 정도 소요되었다(Fig. 63).

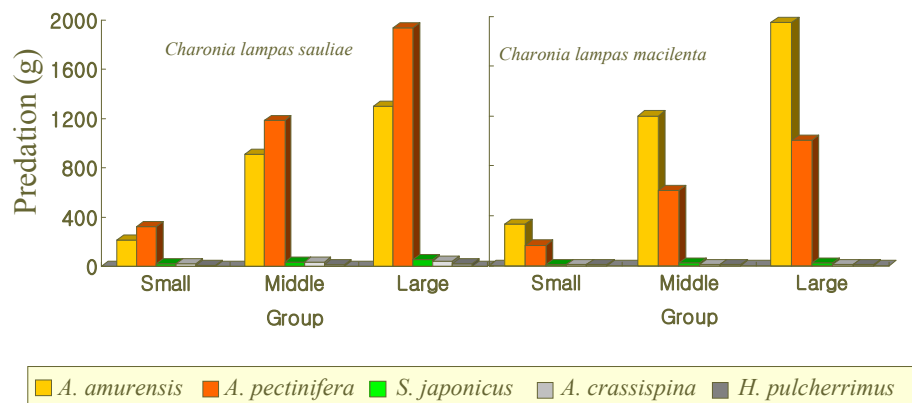


Fig. 62. Predation of *Charonia* sp. during experimental period.

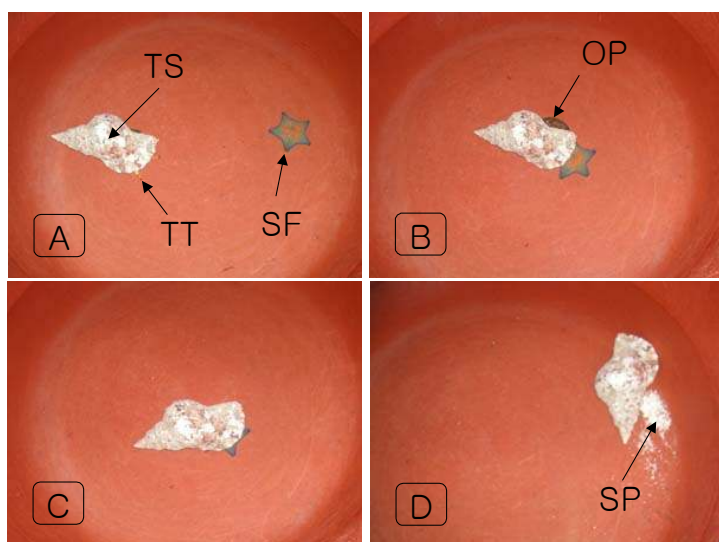


Fig. 63. Predation of *Charonia lampas sauliae*. A: Rearch of food, B: Catch (0 hr), C: Predation (2 hr), D: Spicule of starfish (3 hr.), OP: Operculum, SF: Starfish, SP: Spicule, TS: Trumpet shell

제 10절 모패 사육

1. 재료 및 방법

나팔고둥의 성장을 조사하기 위하여 2003년 7월부터 2004년 3월까지 실내 사육하였다. 성장은 나팔고둥과 담색나팔고둥의 2개 실험구로 나누어 30 ton 수조에서 각각 50마리를 수용하여 유수 사육하였고, 매월 외부 형태를 측정하였다. 먹이는 별불가사리와 아무르불가사리를 혼합하여 나팔고둥 총 중량의 5%를 매일 17시에 공급하였고, 익일 10시 잔존량을 측정하였다.

2. 결과 및 요약

나팔고둥을 실내사육하면서 성장을 조사한 결과, *Charonia lampas sauliae*의 경우 2003년 7월 실험개시시 평균전중 654.24 g이던 것이, 60일 후 672.56 g, 120일 후 692.42 g의 결과를 보여 약40 g의 증중량을 보였으나 6개월 후인 2004년 1월에 660.34 g, 8개월 후인 3월에는 642.25 g으로 오히려 평균전중이 감소하였다. *Charonia lampas macilenta*의 경우도 비슷한 경향을 보였으며(Fig. 64), 이러한 원인은 산란기에 난낭산출에 따른 육중량의 감소에 기인한 것이라 생각되어진다.

실내 사육한 나팔고둥의 각장, 각폭 및 전중에 대한 상대성장식은 Fig. 65~70과 같은데, *Charonia lampas sauliae*와 *Charonia lampas macilenta*의 각장과 각폭의 상대성장식은 각각 $SW = 0.6199SL - 10.642 (r^2 = 0.9372)$, $SW = 0.563SL - 1.3171 (r^2 = 0.8337)$ 로 나타나 *C.l.sauliae*가 각장에 대한 각고의 크기가 더 큰 것으로 나타났다. 각장과 전중에 대한 상대성장식은 $TW = 0.0005SL^{2.621} (r^2 = 0.9317)$, $TW = 0.0004SL^{2.647} (r^2 = 0.7874)$ 로 나타났으며, 각폭에 대한 전중의

상대성장식은 각각 $TW = 0.008SW^{2.3528}(r^2 = 0.9659)$, $TW = 0.007SW^{2.3874}(r^2 = 0.7454)$ 로 나타나 전체적으로 각장에 대한 각폭과 전중이 *Charonia lampas macilenta*보다 *Charonia lampas sauliae*가 더 큰 것으로 나타났다.

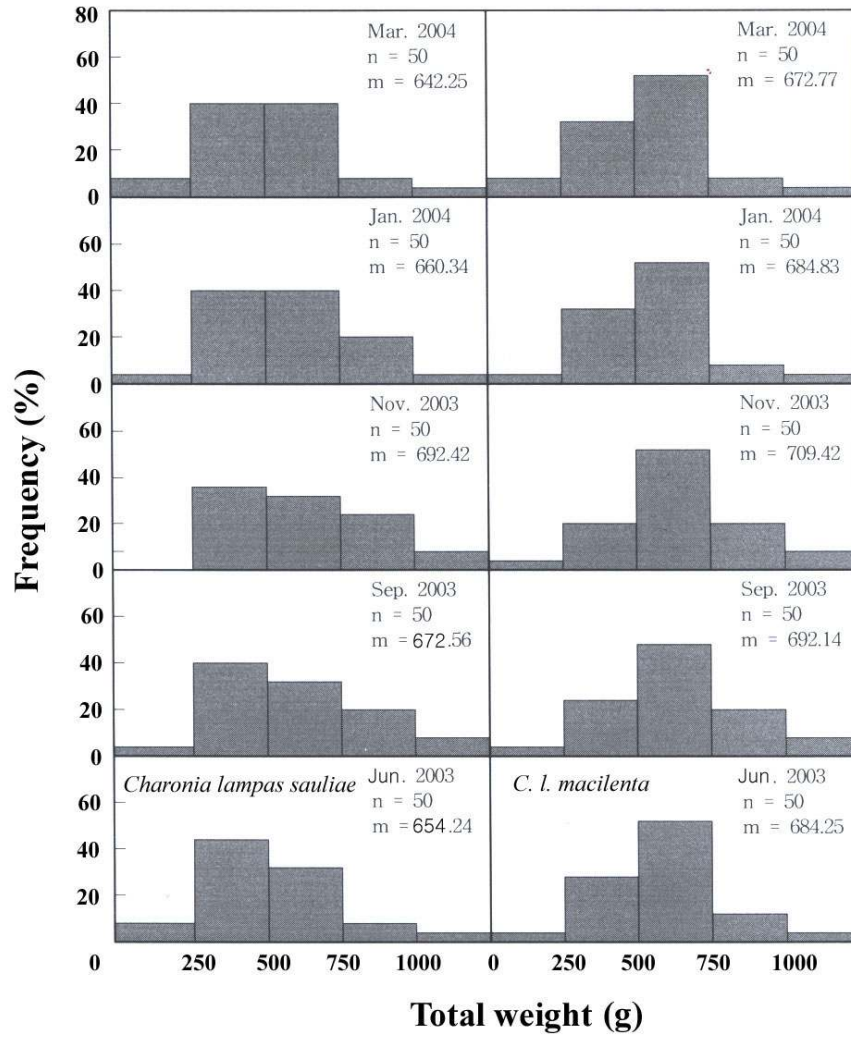


Fig. 64. Change in the total weight (g) of *Charonia lampas sauliae* and *Charonia lampas macilenta*.

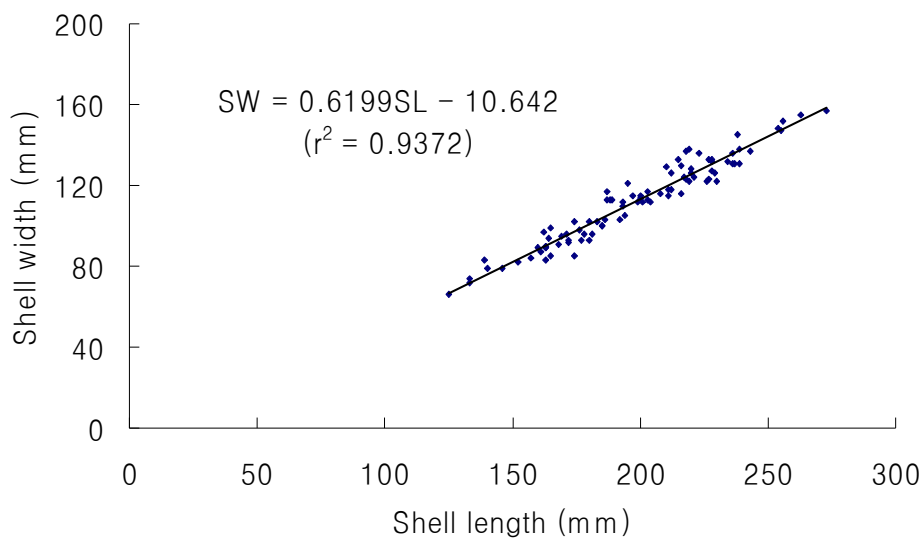


Fig. 65. Relationships between shell length and shell width of *Charonia lampas sauliae*.

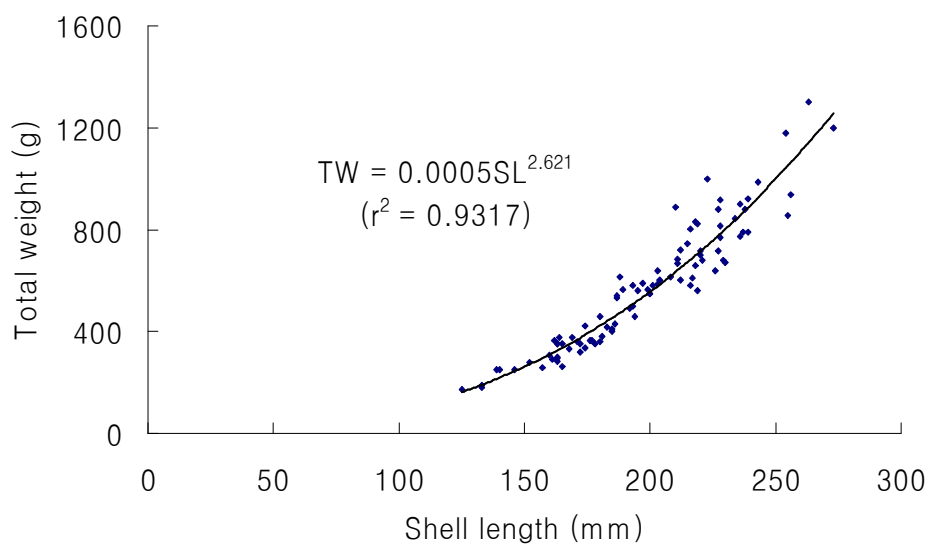


Fig. 66. Relationships between shell length and total weight of *Charonia lampas sauliae*.

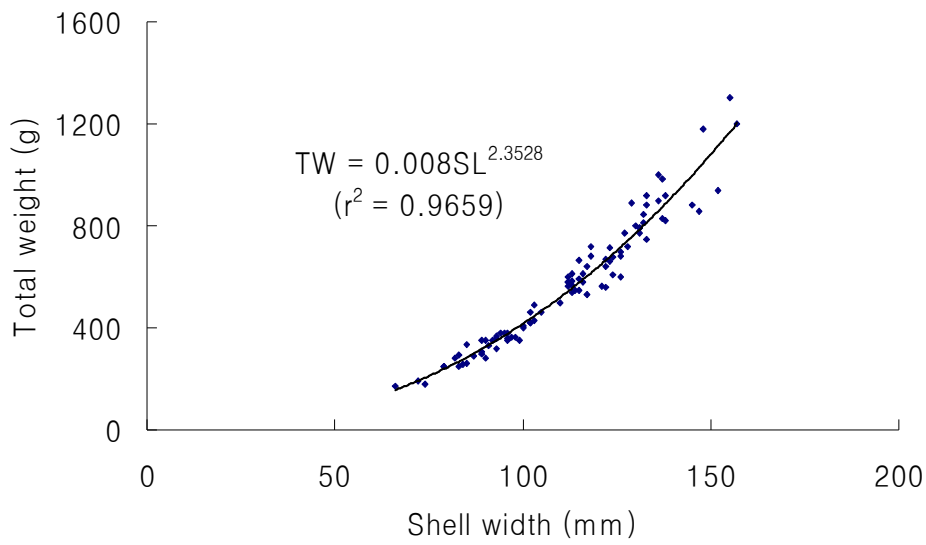


Fig. 67. Relationships between shell width and shell total weight of *Charonia lampas sauliae*.

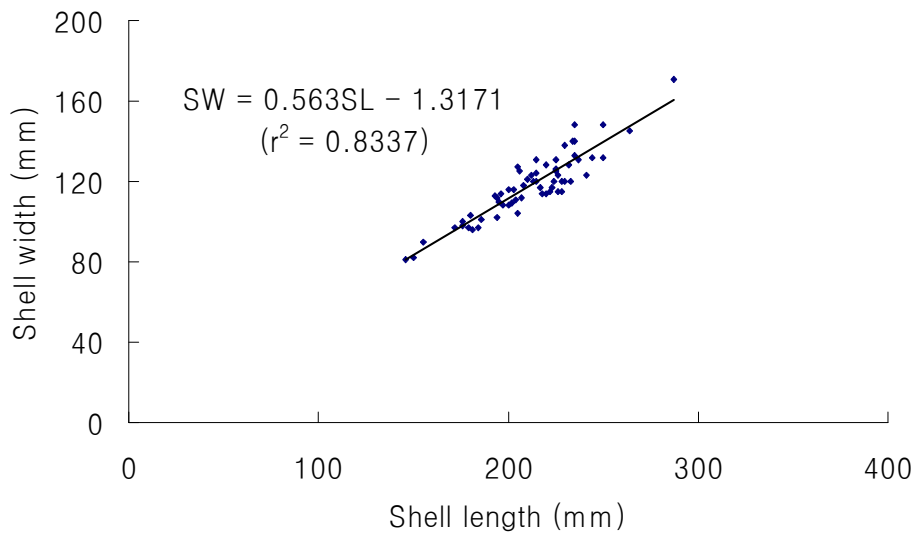


Fig. 68. Relationships between shell length and shell width of *Charonia lampas macilenta*.

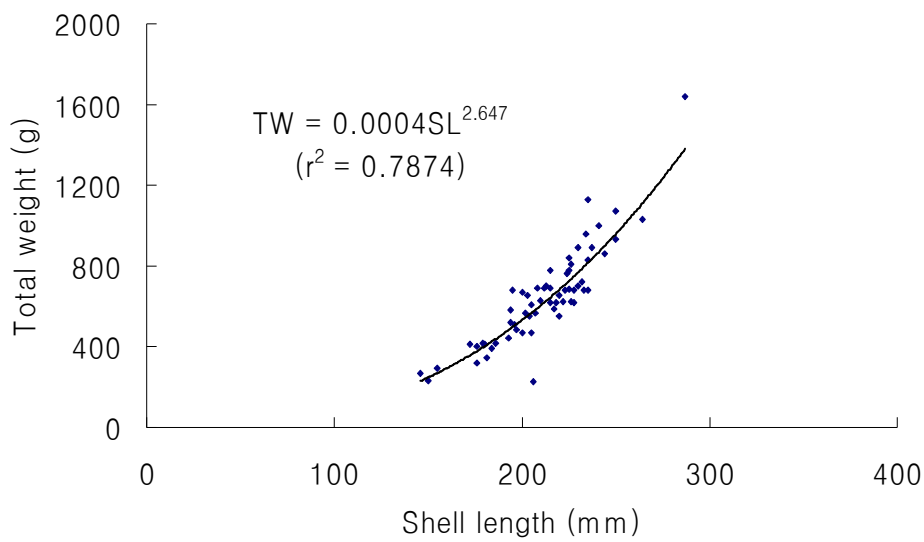


Fig. 69. Relationships between shell length and total weight of *Charonia lampas macilenta*.

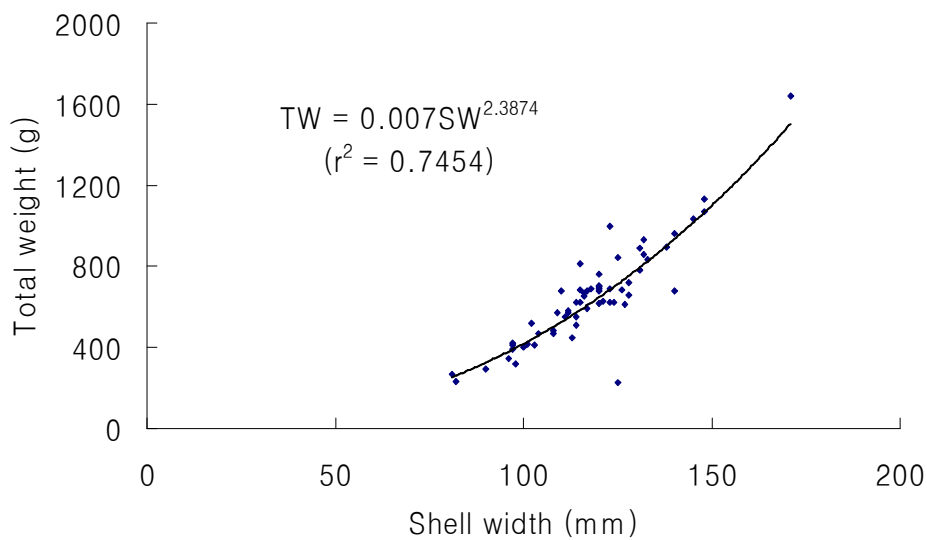


Fig. 70. Relationships between shell width and total weight of *Charonia lampas macilenta*.

제 11절 종합고찰

우리나라에 서식하는 복족류 중 수염고둥과는 나팔고둥 속을 비롯해서 4속 7종이 서식하는 것으로 알려져 있다. 그 중 일반적으로 나팔고둥이라 불리는 *Charonia* 속은 나팔고둥, *Charonia lampas sauliae*와 *Charonia lampas macilenta*로 Okutani (2000)는 *Charonia lampas sauliae*는 조간대로부터 수심 50 m까지 암반지역에 서식하고, *Charonia lampas macilenta*는 수심 50~250 m의 사니질에 서식한다고 하였다.

대상 생물의 유전 정보가 알려져 있지 않고 유전자 수준에서 종간 혹은 개체간의 유사도를 비교하고자 할 때 arbitrary primer들을 사용하여 특정 유전자 부분들을 대량 증폭하고 이들 증폭된 DNA fragment들을 서로 비교함으로써 쉽게 유전적 유사도를 구할 수 있다(Goodwin and Annis, 1991; Fekete et al., 1992; Patwary et al., 1993; Dutcher and Kapraun, 1994; Ho et al., 1995).

본 실험에서 나팔고둥을 비롯하여 제주도에서 채집한 같은 수염고둥과 고둥 4종을 대상으로 RAPD 변이 분석을 한 결과, 나팔고둥과 담색나팔고둥은 유사도가 0.89, *Tutufa bufo*와 *Monoplex ehco*는 0.62로 유연관계가 비교적 가까웠는데, 형태적인 비교에서도 각각의 두 고둥은 거의 유사하였다. 또한 나팔고둥과 담색나팔고둥은 20개의 primer 중 18개의 primer에서 거의 비슷한 밴드 양상을 보여 형태적인 분류 결과와 종합해서 볼 때 유사종이거나 같은 종일 가능성이 높다고 생각되어지기 때문에 금후 DNA sequencing을 통한 정확한 유전적 분석이 이루어져야 할 것이라 판단된다.

그러나 제주도 연안에서 수심별 자망 설치에 의한 나팔고둥 채집 결과 *Charonia lampas sauliae*는 수심 70 m의 암반지역에 설치한 자망에서도 채포 된 반면, *Charonia lampas macilenta*의 경우 암반지역에서는 채집되지 않았고, 수심 50 m

이상의 저질이 빨질인 해역에서만 채집되었다. 또한 *Charonia lampas sauliae*의 패각에는 암반에 부착하여 서식하는 석회조가 부착된 것이 관찰된 반면 *Charonia lampas macilenta*의 패각에서는 따개비의 패각이 부착된 것을 볼 수 있었다. 이러한 결과를 토대로 나팔고둥의 서식지는 수심과 함께 저질의 형태에 기인한다고 생각된다. 한편 예로부터 우리나라 동서남해안 연안에서 흔히 발견되던 것이 본 조사 결과 제주도 외에 발견되지 않은 것은 본 종의 남획과 환경오염이라 생각되어진다. 또한 제주도 연안에서도 한경면과 성산읍을 잇는 남쪽 연안에서 북쪽 연안 비해 많이 분포하는 것은 본 종이 수온에 민감하게 반응하기 때문이라고 생각되어진다.

해산 무척추동물의 생식소 발달에 관계하는 영양세포는 성계의 nutritive phagocyte (Holand and Giese, 1965; Chatlymne, 1969)를 비롯하여 대수리, *Purpura daviger*(今 等, 1966), 북방대합, *Spisula sachalinensis* (高橋・高野, 1970a, 1970b) 등에서 보고 되었다. 나팔고둥의 경우도 난소 및 정소의 조기발달기에 각 소낭들 사이에 미분화간충직과 과립성세포들이 풍부하게 나타나고 있으며 이들은 생식소의 발달과 더불어 점차 그 수가 감소하는 것으로 보아 생식소의 성장발달에 관여하는 일종의 영양세포로 간주된다.

지금까지 나팔고둥의 산란기에 관한 보고는 *Charonia tritonis*의 경우 Shimoike (1997)는 11월에 교미하여 11월부터 1월까지 다회산란 한다고 보고하였고, Lelong (1993)는 1월에 교미하여 2월에 산란한다고 하였다. 한편 Cazaux (1972)는 *Charonia nodifera*가 2월에 산란한다고 하였고, *Charonia variegata*는 5월에 교미하여 5월에 산란한다고 보고하였다(Percharde, 1972). 이러한 결과로 볼 때 산란은 교미 후 약 한 달 뒤 이루어지는 것으로 생각되어지나, *Charonia tritonis*의 경우 서식지가 열대지역이기 때문에 연중 수온변화가 거의 없다고 볼 때 2월이 주 산란기라고 보기는 어려우므로 주년 생식소 조직 관찰과 비교해야 할 것이라고 생각된다. 본 종의 경우 11월부터 교미를 시작하여 3월까지 관찰되었고 산란은

12월부터 4월까지 관찰되어 주년 생식소 조직을 관찰한 결과와 일치하였다. 그리고 교미와 산란이 다회에 걸쳐 행해졌고, 한 마리의 수컷이 여러마리의 암컷에 차례로 교미하는 것이 관찰되었다.

Charonia 속의 난이나 난낭은 복족류 중에서도 특히 크다. 본 종의 경우 170개의 난낭을 산란한 개체의 산란량을 난낭수와 1개의 난낭내 평균 난 수로부터 단순계산한다면 143만개의 수정란을 산란하였다. 藤田(1987)은 난낭의 길이는 거의 어미의 사이즈에 정비례하지만, 난경에는 관계없이 평균 난경 400.1 μm 인 것을 보고하고 있다. 본 실험에서도 난낭길이와 중량은 산란하는 암컷의 크기에 비례하였으나 난낭의 수와는 무관하였다.

또한 본 종의 난낭 길이와 폭은 각각 약 20 mm와 6 mm로 *Charonia tritonis*의 30 mm, 8 mm보다 작았는데 이는 *Charonia tritonis*가 종 특성상 대형종이기 때문이라 생각된다.

나팔고둥은 본 실험에서 발생초기에 많은 배출세포가 생기고, 부화하면서 흡수 소실하였다. 이러한 발생 양식은 같은 나팔고둥 속의 *Monoplex echo*의 경우(二村, 1990)과 흡사하다. 그러나 부화직후의 veliger 유생의 경우 *Monoplex echo*의 두부촉각은 좌우 2개 있는 것에 반해 나팔고둥의 촉각은 오른쪽 1개 밖에 형성되지 않았다. 또한 유생사육 30일이 지난 veliger 유생의 경우도 촉각이 1개로 어미의 촉각이 2개인 점을 미루어 생각해 볼 때 나팔고둥의 유생기간은 상당히 길어질 것으로 생각된다. 한편 면반의 경우 *Monoplex echo*의 면반이 2장으로 형성되어 있는 반면 나팔고둥은 면반이 잘록해지고 4장의 나뭇잎모양이라는 것이 다르다. 또 부화까지의 소요시간이 *Monoplex echo*는 23일이 소요되었고, 나팔고둥은 64일로 2배 가량 길었다. 또한 나팔고둥의 부화까지의 소요시간은 *Charonia tritonis*의 경우 藤田(1985)이 80~106일에 부화했다고 하였고, Shimoike (1997)은 74일이 소요되었다고 하였다.

나팔고둥 유생의 부화시의 유생은 면반과 면반의 섬모가 발달되어 섬모에 의한

유영 및 먹이 섭식이 활발하였으나 부화직전의 난낭을 인위적으로 찢어 부화한 유생은 면반이 형성되었지만 섬모가 발달하지 않아 유영능력이 낮고 먹이 섭식활동이 활발하지 않아 나팔고둥 유생은 3일만에 모두 폐사하였다. 폐사한 나팔고둥 유생의 폐각 내에는 원생동물과 선충이 유생을 포식하는 것이 관찰되었고, 수조 저면에서는 원생동물이 관찰된 반면 표층에서는 관찰되지 않아 유생의 유영능력과 생존이 밀접한 관계를 가질 것으로 생각되어 지고 부화도 자연스럽게 이루어 져야 할 것이라 생각되어 진다.

정자와 정장의 물리·화학적 성상에 관한 지식은 어류의 번식력을 평가하거나 수정기구를 이해하는 기준이 된다(De Kruger et al., 1984). 그래서 수산동물 정자의 보존에 관하여 많은 연구가 이루어져 왔고, 정자의 액상 및 냉동보존 효과를 높이기 위해 많은 종류의 희석액이 이용되어 왔다(Chao et al., 1975; Hara et al., 1982; McNiven et al., 1993; Truscott et al., 1968). 나팔고둥 정자를 단기간 동안 보존한 결과, glucose의 각 농도에 비해 MFRS에서 운동성과 생존율 모두 가장 좋은 결과를 보였는데, 이는 milkfish, *Chanos chanos*의 정자를 0~4℃에서 보존하였을 때, milkfish의 혈청이 다른 희석액(150 mM NaCl, 400 mM glucose, 생리식염수 및 혈청)보다 뛰어난 보존 효과를 보였다는 Hara et al. (1982)의 연구결과와 다른 결과를 보여 나팔고둥의 정자보존시 다양한 희석액의 종류 및 농도에 대한 연구가 실행되어야 할 것이라 생각된다. 또한 평형시간별 dimethyl sulfoxide 농도별 정자의 냉동보존 효과 실험에서 평형시간을 1분 둔 실험구에서는 20% dimethyl sulfoxide에서 가장 높은 생존율을 보였으며, 평형시간을 2분 둔 실험구에서는 15% dimethyl sulfoxide에서 가장 높은 생존율을 나타내었는데 이는 dimethyl sulfoxide 농도가 높을수록 정자 내부의 물과 치환되는 속도가 빠르기 때문이라 생각되어 진다.

일반적으로 해산 동물의 정자는 삼투질 농도가 높은 용액에서, 담수어는 삼투질 농도가 낮은 용액에 희석되었을 때 움직이기 시작한다(Morisawa and Suzuki,

1980). 나팔고둥의 경우 희석액인 인공해수의 삼투질 농도가 해수와 비슷한 900 mOsm/kg에 희석되었을 때 정자의 운동성이 높게 나타났으며, 정장의 삼투질 농도보다 약간 높은 500 mOsm/kg에서는 정자의 운동성이 오래 유지되었다. 그리고 삼투질 농도가 0 mOsm/kg일 경우 정자는 운동하지 않았는데, 이는 저장액에서는 도리어 정자의 운동성이 저하됨으로써, 외부의 삼투질 농도가 정자의 운동성을 조절하는 요인임을 알 수 있었다. 이는 저장액이 정자의 구조나 운동성에 해를 입히기 때문이다. 일반적으로 정자는 희석되지 않은 정액이나 정소내에서는 움직이지 않으나 물, saline solution, 난소액과 같은 활성용액에 희석시키면 운동성이 개시되며(Levanduski and Cloud, 1988), 정장과 같은 환경수의 삼투질 농도, pH, 이온조성은 정자의 운동성에 큰 영향을 미치므로 이러한 요인들에 대한 깊이 있는 연구가 필요할 것이다.

지금까지의 해산 무척추동물 발생배의 냉동보존 연구에서 사용된 발생단계는 세포분열 초기의 배가 대부분이었다. Toledo et al. (1989)은 진주담치의 발생단계 중 2~4세포와 담륜자를 사용한 냉동보존에서 담륜자의 냉동보존이 가능함을 밝혔다. 본 연구에서는 나팔고둥 veliger 유생을 이용하여 평형시간별 동해방지제 농도에 따른 냉동보존을 실시한 결과, 평형시간 20분 둔 1.5 M dimethyl sulfoxide에서 가장 높은 결과를 보였다. 이는 Gwo (1995)가 참굴의 상실배, 낭배, 담륜자를 10%, 20%, 30%의 dimethyl sulfoxide, glycerol, ethylene glycol, Propylene glycerol에 냉동보존한 결과, 담륜자의 경우 10% propylene glycerol로 냉동한 실험구에서 95%의 생존율을 보여 가장 높았다는 보고와 차이를 보이나, Chao et al. (1997)가 참굴의 후기 배와 초기 유생을 0.06 M trehalose를 희석한 2 M dimethyl sulfoxide를 동해방지제로 사용하여 가장 높은 생존율을 보였고, 백합 후기 배와 초기 유생을 0.06 M glucose를 희석한 2 M dimethyl sulfoxide를 동해방지제로 냉동하였을 때 가장 높은 생존율을 보였다는 내용과 일치한다. 동해방지제의 높은 농도는 발생배의 삼투압과 생화학적 측면에서 손상을 입히는

것으로 알려져 있지만 (Renard and Cochard, 1989), 본 연구 결과, 단순한 농도에 의한 피해가 아니라 평형시간과 연계하여 복합적인 실험에 되어야 할 것이라 생각된다. 해산 무척추동물의 초기 유생의 냉동보존에 있어 영향을 미치는 요소로 동해방지제 종류 및 농도, 평형시간, 냉각방법, 희석액 종류 등 수많은 환경요인이 있는데 본 연구에서 동해방지제 종류 및 농도, 평형시간만을 대상으로 실험하여 보다 세부적이고 다양한 방법으로의 연구가 시행되어야 할 것이라 생각된다.

인도양과 서태평양의 도처에서 *Acanthaster planci*의 발생에 관한 연구가 여러 해에 걸쳐 진행되었다 (Moran, 1986). *Charonia tritonis*와 *Charonia*속의 여러 종들이 다양한 불가사리 종류를 포식한다는 것이 알려져 있으나(Chesher, 1969; Endean, 1969; Laxton, 1971; Noguchi et al., 1982; Percharde, 1972), 포식하지 않는 불가사리(Birkeland et al, 1982; Dayton et al, 1977; Mauzey et al, 1968)와 포식 하는 다른 종에 관한 설명이 부족하다(Harrold and Pearse, 1987). Endean (1969)은 불가사리 개체군의 증가에서 불가사리에 대한 포식의 중요한 역할과 어미 불가사리 포식자들의 남획에 관한 점과 함께 가시불가사리 발생의 원인에 관한 고찰을 제안했다. 한편 Schmitt (1982)는 먹이적응에 의한 포식, 생물학적 종 다양성의 유지에 있어서 자연 포식자들의 역할을 알아냈다. 그리고 산호군락 공동체에서 희귀한 것의 생존전략이 불가사리, 불가사리의 포식자, 불가사리의 먹이사이의 관계에서 생각했을 때에도 명확하지 않다.

나팔고둥 포식에 관하여 Nugranad et al. (2000)은 어육, 조개류, 불가사리, *Acanthaster planci*를 포함한 극피동물을 대상으로 실험하였는데 극피동물을 제외한 어육과 조개류는 포식하지 않았고, 극피동물중에서도 *Acanthaster planci*를 가장 선호했다고 하였다. 본 실험에서도 전복, 피조개, 바지락 등의 조개류와 성게, 해삼, 불가사리를 대상으로 나팔고둥 각장 크기별 포식실험 결과, 조개류에 대해서는 포식행동을 보이지 않았고, 불가사리류를 가장 선호하여 Nugranad et al. (2000)의 결과와 일치하였다. 또한 *Charonia lampas sauliae*의 경우

아무르불가사리에 비해 별불가사리를 많이 포식하였고, *Charonia lampas macilenta*는 아무르불가사리를 더 선호하였는데, 이러한 원인은 서식지에 존재하는 불가사리의 종류와 관련되어진다고 생각된다. 나팔고둥의 포식행동과 관련하여 Chesher (1969)는 *Charonia tritons*가 먹이탐색을 할때 *Acanthaster planci*가 이를 감지하고 빠르게 도망간다고 하였는데 본 실험결과 아무르불가사리와 별불가사리가 나팔고둥의 움직임과 함께 도주하는 것이 관찰되어 나팔고둥과 불가사리에 상호작용하는 분비물질에 관한 연구가 필요할 것이라 생각되어진다.

패류에 미치는 수온의 영향은 성장, 생존 및 생식특성에 영향을 미치며 (Calow, 1981; Wilson, 1988), 염분은 해양 및 기수지역에 서식하는 생물의 생리적 과정에 영향을 미치는데 (Kinne, 1967; Widdows, 1985a), 특히 수온과 염분의 변화로 인해 패류에서 일어나는 전형적인 반응은 패류의 먹이섭취 활동과 성장률이 저하되며, *Crassostrea virginica* (Hand and Stickle, 1977)와 *Modiolus modiolus* (Shumway, 1977) 등에서는 폐각을 열지 않는 반응을 보인다.

환경의 온도는 동물의 대사에 중요한 역할을 하며, 여러 가지 다른 환경요인과 복합하여 영향을 미친다(Venables, 1981). 온도 내성한계는 생물이 이전에 경험했던 비유전적 적응의 범위와 관련되어 있으며, 반면에 동일한 환경조건 하에서는 생물이 서로 다른 온도내성범위를 갖는 것은 그 생물이 가지는 한정된 유전적 범위로서 보고하고 있다(Otto, 1973).

나팔고둥 어미의 수온내성을 관찰한 결과, 실험종료시인 12시간 후 5~25℃에서 100% 생존하였고, 유생의 경우 실험종료시인 72시간까지 관찰한 결과, 5~20℃까지 100% 생존하였는데, 이는 *Charonia*속의 다른 고둥류에 비해 나팔고둥이 고수온보다 저수온에서 비교적 강한 내성을 보이는 것을 판단된다. 이러한 결과와 현재 나팔고둥 서식지인 제주도의 연중 수온범위가 12~25℃인 것을 종합해 보면, 나팔고둥의 최적 서식수온은 15~20℃로 생각되어지나, 나팔고둥이 수온에 따라 서식지의 수직적 이동을 하는 것을 미루어 볼 때, 연중

표층 수온이 7~26℃인 우리나라의 전 연안에서 서식이 가능할 것이라 판단된다. 염분내성 실험에서는 어미의 경우, 자연해수 염분과 비슷한 30‰에서 100% 생존을 보였고, 20‰와 40‰에서 각각 90%, 80%의 생존을 보여, 비교적 염분에 저항력이 약한 결과를 나타내었다. 이러한 원인은 나팔고둥의 자연서식지가 안정적인 염분을 유지하는 대양과 인접한 외양이기 때문이라 생각되어진다.

제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

□ 최종목표

- 불가사리의 천적, 나팔고둥의 종보존 및 증식기법 개발에 의한 불가사리 퇴치
- 나팔고둥을 이용한 불가사리 퇴치로 연안 자원 보존 및 친환경적 해양생태계 복원

□ 목표 달성도

멸종위기종인 나팔고둥 모패의 확보가 어려움에도 불구하고 1차년도 확보한 어미 280마리를 사육하고 있으며, 천재지변으로 인한 대량폐사의 위험을 줄이기 위해 연구실 실내사육수조를 비롯해 3개의 양식장에 분산수용하였다. 수온이 하강하는 동계에는 월동을 위해 한 곳으로 통합수용하여 가온사육함과 동시에 산란유발 및 난발생을 관찰했다. 그리하여 1차년도까지 나팔고둥 서식지 환경 및 분포조사, 포식특성과 환경내성에 관한 연구가 수행되었고, 2차년도에는 수온별 난발생과 적정 먹이생물, 유생사육시 적정환경요인 및 유생의 동결보존 등 증식기법 개발을 위한 양식학적 기초연구를 수행하였다. 또한 3차년도에는 증식기법 개발에 관한 산란유발방법, 먹이공급 및 소화지수 등에 관한 보다 세부적인 연구를 수행하였다. 그 결과 나팔고둥 포식특성에 관한 논문이 SCI 저널(Aquaculture Research)에 게재되었고 나팔고둥의 먹이인 불가사리의 초기 발생과 환경내서에 관한 논문이 심사중이다. 또한 나팔고둥 난발생과 유생의 냉동보존에 관한 논문의 5건이 전문 학술대회에 발표되었고, “나팔고둥 유생사육 기법”외 1건을 추가로 특허출원중이다. 나팔고둥 종보존 및 증식기법에 관한 연구가 계획대로 진행될 경우 불가사리 자연천적을 제공함으로 인해 불가사리의 퇴치와 동시에 환경친화적인 자연생태계 복원이 될 것이라 기대된다.

제 5장 참고문헌

- Abrams P. A., 1987. An analysis of competitive interactions between three hermit crab species. *Oecologia* **72**, 233-247.
- Agatsuma Y., 2001. Effect of the covering behavior of the juvenile sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* on predation by the spider crab *Pugettia quadridens*. *Fisheries Science* **67**, 1181-1183.
- Ansell, A. D., 1969. Defensive adaptations to predation in the mollusca. Mar. Biol. Assoc. India **3**, 487-512.
- Babcock, R. C. and C. N. Mundy, 1992. Reproductive biology, spawning and field fertilisation rates of *Acanthaster planci*. Aust. J. Mar. Freshwater Res. **43**, 525-534.
- Berg, C.J., 1971. Egg capsule and early veliger of *Charonia tritonis* (Linnaeus). Veliger **13**(3), 298 pp.
- Berryman A. A., 1993. Food web connectance and feedback dominance, or does it really depend on everything else? *Oikos* **68**, 183-185.
- Birkeland, C., 1982. Terrestrial runoff as a cause of outbreaks of *Acanthaster planci*. Marine biology **69**(2), 175-186.
- Byrne, M. and M.G. Morrice, 1997. Introduction of the northern Pacific asteroid *Asterias amurensis* to Tasmania: Reproduction and Current Distribution. *Marine Biology* **127**(4), 73-685
- Calow, P. 1981. Resource, utilisation and reproduction. In Physiological Zoology: an Evolutionary Approach to resource Use (ed. C.R.Townsend and P.

- Calow), p.245-270.Oxford: Blackwell Scientific Publication.
- Cameron, A. M. and R. Endean, 1982. Renewed population outbreaks of a rare and specialised carnivore (the starfish *Acanthaster planci*) in a complex high-diversity system (the Great Barrier Reef). Proc. 4th Int. Coral Reef Symp. 2, 593-596.
- Castilla, J. C. and Guisado, C., 1979. Nocturnal feeding behaviour of *Concholepas concholepas* (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). Biol. Pesq., Santiago **12**, 125-130.
- Cazaux, C., 1972. The eggs and larvae of the gastropod Prosobranch Tritonalia (=Charonia) nodifer Lamarck. Bulletin de la Societe linneene de Bordeaux 2 (7), 143-148.
- Chao, N. H., H. P. Chen and I. C. Liao, 1975. Study on cryogenic preservation of grey mullet sperm. Aquaculture 5, 389-406.
- Chao, N. H., Lin, T. T., Hsu, H. W., and Liao, I. C., 1997. Cryopreservation of early larvae and embryos in oyster and hard clam. Aquaculture 155, 31-44.
- Chatlymne, L. G., 1969. A histochemical study of oogenesis in the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. Biol. Bull. 136, 167-184.
- Chesher, R., 1969. Destruction of Pacific corals by the sea star *Acanthaster planci*. Science 165, 280-283.
- Chesher, R., 1969. *Acanthaster planci* impact on Pacific coral reefs. Final Rep. Res. Lab. Westinghouse Elect. Corp. to U. S. Dept. Interior, 115 pp.
- Dayton, P. K., R. J. Rosenthal, L. C. Mahan and T. Antezana, 1977. Population structure and foraging biology of the predacious Chilean asteroid *Meyenaster gelatinosus* and the escape biology of its prey. Marine

biology 39, 361–370.

- De kruger, J. C., G. L. Smit, J. H. J. Van Vuren and J. T. Ferreira, 1984. Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus* (Peters). J. Fish Biol. 24, 263–272.
- Dutcher, J.A. and D.F. Kapraun, 1994. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) identification of genetic variation in three species of *porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). J. Appl. phycol., 6, 267–273.
- Endean, R., 1969. Report on investigations made into aspects of the current *Acanthaster planci* (crown of thorns) infestations on certain reefs of the Great Barrier Reef. Fish. Branch, Old. Dept. Prim. Ind., Bris. 35pp.
- Fekete, A., J. A. Bantle, S. M. Halling and R. W. Stich, 1992. Amplification fragment length polymorphism in *Brucella* strains by use of polymerase chain reaction with arbitrary primers. J. Bacteriol., 174, 7778–7783.
- Goodwin, P. H. and S. L. Annis, 1991. Rapid identification of genetic variation and pathotype of *Leptosphaeria maculans* by random amplified polymeric DNA assay. Appl. Environ. Microbiol. 57, 2482–2486.
- Gorshkov Boris A., 1988. Stimulatory effects of starfish sapogenins (*Asterias amurensis* and *Lethasterias nanimensis* chelifera) on molluscan heart (*Spisula sachalinensis*). (235–239).
- Gwo, J. C., 1995. Cryopreservation of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* embryos. Proceedings of the International Symposium on Biotechnology Applications in Aquaculture, December 5–10th, 1994.
- Hand, S. C. and W. B. Stickle. 1977. Effects of tidal fluctuations of salinity on pericardial fluid composition of the American *Crassostrea virginica*. Mar. Biol., 42, 259–271.

- Hara, S., J. T. Canto and J. M. E. Almendras, 1982. A comparative study of various extenders for milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal), sperm preservation. *Aquaculture* 28, 339-346.
- Hatanaka H., Uwaoku H. and Yasuda T., 1994. Experimental studies on the predation of juvenile sea cucumber, *Stichopus japonicus* by sea star, *Asterina pectinifera*. *Suisanzoshoku* 42, 563-566.
- Ho, C.L., S.M. Phang and T. Pang, 1995. Molecular characterization of *Sargassum Polycystum* and *S. siliculosum* (Phaeophyta) by polymerase chain reaction (PCR) using random amplified polymorphic DNA (RAPD) primers. *J. Appl. Phycol.*, 7, 33-42.
- Holland, N. D. and A. C. Giese, 1965. An autoradiographic investigation of the gonads of purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. *Biol. Bull.* 128, 241-258.
- Jaksic F. M., Feinsinger P. and Jiménez J. E., 1993. A long-term study on the dynamics of guild structure among predatory vertebrates at a semi-arid Neotropical site. *Oikos* 67, 87-96
- Kang, K. H., J. M. Kim and S. T. Oh, 2000. Predation of *Asterias amurensis* and *Asterina pectinifera* on valuable bivalves at different water temperature. *Korean Journal of Malacology* 16 (1-2), 17-20.
- Kinne, O., 1967. Physiological of estuarine organism with special reference to salinity and temperature: general aspect. In: Lauff, G.H. (Ed). *Estuaries*. American Association for the Advancement of Science. No. 83, Washington, DC, 525-540.
- Laudien J. and Wahll M., 1999. Indirect effects of epibiosis on host mortality: sea star predation on different fouled mussels. *Marine Ecology* 20(1),

35-47.

- Laxton, J. H., 1971. Feeding in some Australian Cymatiidae (Gastropoda : Prosobranchia). Zool. J. Linn. Soc., 50, 1-9.
- Laxton, J. H., 1974. A preliminary study of the biology and ecology of the blue starfish *Linckia laevigata* (L) on the Australian Great Barrier Reef and an interpretation of its role in the coral reef ecosystem. Biol. J. Linn. Soc. 6, 47-64.
- Levanduski, M. J. and Cloud, J. G., 1988. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: Effect of non-motile sperm on fertility. Aquaculture 75(1-2), 171-179.
- Lin, T. T., Tung, H. T. and Chao, N. H., 1993. Cryopreservation of oyster embryos with conventional freezing procedure and vitrification. Cryobiology 30, 614 pp.
- McNiven, M. A., R. K. Gallant and G. F. Richardson, 1993. Fresh storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen using a non-aqueous medium. Aquaculture, 109, 71-82.
- Mauzey, K. P., C. Birkeland and P. K. Dayton, 1968. Feeding behaviour of asteroids and escape responses of their prey in the Puget Sound region. Ecology 49, 603-619.
- Martinez N. D. and Lawton J. H., 1995. Scale and food-web structure-from local to global. *Oikos* **73**, 148-154.
- Menge B. A., 1995. Indirect effects in marine rocky intertidal interaction webs: patterns and importance. *Ecological Monographs* **65**(1), 21-74.
- Moran, P., 1986. the Acanthaster phenomenon. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 24, 379-480.

- Morin P. J., Lawler S. P. and Johnson E. A., 1988. Competition between aquatic insects and vertebrates: interaction strength and higher order interactions. *Ecology* **69**, 1401-1409.
- Morisawa, M. and Suzuki, K., 1980. Osmolality and potassium ion: their roles in initiation of sperm motility in teleosts. *Science (Wash.)*, 210(4474), 1145-1147.
- Muñoz A. A. and Ojeda F. P., 1998. Guild structure of carnivorous intertidal fishes of the central Chilean coast: implications of ontogenetic dietary shifts. *Oecologia* **114**, 563-573.
- Noguchi, T., Narita, H., Maruyama, J. and Hashimoto, K., 1982. Tetrodotoxin in the starfish *Astropecten polyacanthus* in association with toxification of a trumpet shell, "Boshubora" *Charonia sauliae*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **48**, 1173-1177.
- Nugranad, J., S. Chantranpornsilp and T. Varapibal, 2000. Feeding and spawning behaviour of the Trumpet triton, *Charonia tritonis* (L., 1758) in captivity. *Phuket marine biological center special publication* 21(1), 51-56.
- Otto, R. G. 1973. Temperature tolerance of the mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird and Girard). *J. Fish Biol.*, **5**, 575-585.
- Paine R. T., 1980. Food webs, linkage interaction strength, and community infrastructure. *Journal of Animal Ecology* **49**, 667-685.
- Patwary, M. U., R. M. Mackay and J. P. van der Meer, 1993. Revealing genetic markers in *Gelidium vagum* (Rhodophyta) through the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. *J. Phycol.*, **29**, 216-222.
- Percharde, P. L., 1972. Observations on the gastropod *Charonia variegata*, in Trinidad and Tobago. *Nautilus*, Philad **85**, 84-92.

- Resetarits W. J. Jr., 1991. Ecological interactions among predators in experimental stream communities. *Ecology* **72**, 1782-1793.
- Schmitt, R. J., 1982. Consequences of dissimilar defences against predation in a subtidal marine community. *Ecology* **63**, 1588-1601.
- Shimoike. K., 1997. Early life history of trumpet shell *Charonia tritonis* (Linnaeus). *Midorishi* **8**, 16-19.
- Shiu Y. C., 2003. Occurrence of Tetrodotoxin in the Causative Gastropod *Polinices didyma* and another Gastropod *Natica lineata* Collected from Western Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis* **11**, 159-163.
- Shumway, S. 1977. The effects of fluctuating salinity on the tissue water content of eight of bivalve molluscs. *J. Comp. Physiol.*, **116**, 269-285.
- Sneath, P.H. and R.R. Sokal, 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco, 635 pp.
- Toledo, J. D., Kurokura, H. and Kasahara, S., 1989. Preliminary studies on the cryopreservation of the blue mussel embryos. *Jap. Soc. Sci. Fish.* **55**(9), p. 1661.
- Truscott, B., D. R. Idler, R. J. Hoyle and H. C. Freenman, 1968. Sub-zero preservation of Atlantic salmon sperm. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **25**, 363-372.
- Venables, B. J. 1981. Oxygen consumption in a tropical beach amphipod, *Talorchestia margaritae* Stephenson: Effects of size and temperature. *Crustaceana*, **41**, 89-94.
- Widdow, J. 1985. The effects of fluctuating and abrupt changes in salinity on the performance of *Mytilus edulis*. In: Gray, J.S. Christiansen, M.E. (Eds.). *Marine Biology of Polar Regions and effect of stress on marine*

organism. Wiley-Interscience, 555-566.

Wilbur H. M. and Fauth J. E., 1990. Experimental aquatic food webs: interactions between two predators and two prey. *American Naturalist*. **135**, 176-204.

Wilson, J. G., 1988. Resource partitioning and predation as a limit to size in *Nucula turgida* (Leckenby and Marshall). *Func. Ecol.*, 2, 63-66.

二 村 繪 理 子 ,
1990 . カコボラの初期生活史の研究 . 平成元年度日本女子大學家政學部卒業論文, 13pp.

藤 田 正 夫 ・ 神 野 芳 久 ・ 山 口 昭 宣 ,
1985 . 特産高級貝生産試験 (ホラガイ) - V . 昭和59年度鹿兒島縣水産試験場事業報告書, 62 .

藤 田 正 夫 ・ 神 野 芳 久 ・ 山 口 昭 宣
1987 . 特産高級魚生産試験 (ホラガイ) - VII . 昭和61年度鹿兒島縣水産試験場事業報告書, 70 .

주 의

1. 이 보고서는 환경부에서 시행한 환경기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 환경부에서 시행한 환경기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.