

# 멸종위기에 처한 얼룩새코미꾸리 *Koreocobitis naktongensis* (Cobitidae)의 난 발생 및 자치어 형태 발달

송하윤 · 양 현<sup>1</sup> · 조은미<sup>2</sup> · 신현철<sup>2</sup> · 방인철\*

순천향대학교 해양생명공학과, <sup>1</sup>생물다양성연구소, <sup>2</sup>순천향대학교 생물학과

**Morphological Development of Egg and Larvae of *Koreocobitis naktongensis* (Cobitidae) by Ha-Yoon Song, Hyun Yang<sup>1</sup>, Eun-Mi Cho<sup>2</sup>, Hyunchur Shin<sup>2</sup> and In-Chul Bang\*** (Department of Marine Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea; <sup>1</sup>Institute of Biological Diversity Research, Jeonju 561-211, Korea; <sup>2</sup>Department of Biology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea)

**ABSTRACT** The egg development and early life history of the Korean endangered fish *Koreocobitis naktongensis* (Cobitidae) were investigated. Eggs from the females were obtained by injecting 10 IU/g of human chorionic gonadotropin and inseminated with sperm by the dry method in the laboratory. The fertilized eggs were 1.0~1.2 mm in diameter and had no oil globules. The embryo began to hatch about 38 hrs after fertilization under water temperature of 20±1°C. The newly-hatched larvae were 2.6~2.8 mm in total length, and their mouth and anus were not yet opened. Seven days after hatching, the postlarvae were 4.5~5.2 mm in total length, and their yolk sacs were completely absorbed. They entered the juvenile stage when all fin-rays were formed at 50 days after hatching, and their total lengths were 21~27 mm.

**Key words** : Development, egg, endangered fish, *Koreocobitis naktongensis*, larvae

## 서 론

미꾸리과(Cobitidae) 어류는 유럽과 아시아의 담수역에 널리 분포하는 저서성 어류로서 전 세계에 16속 120여종이 알려져 있다(Nalbant, 2002). 국내에서는 6속 16종이 보고되고 있으며, 이 중 새코미꾸리 *Koreocobitis rotundicaudata*와 얼룩새코미꾸리 *Koreocobitis naktongensis*는 각각 한강-임진강과 낙동강에 분포되어 분포하는 한국 고유종들이다(김과 박, 2002).

어류의 초기 생활사에 대한 연구는 대상종의 특징을 구명하는 것은 물론 유사종과의 분류학적인 근연관계를 연구하는데 중요한 기초 자료를 제공한다(Blaxter, 1974). 또한 이러한 연구는 멸종위기에 처한 어류의 인공증식 및 생태계 복원을 위해 다른 어떤 연구들보다 선행되어야 한다. 국내

에서 서식하는 미꾸리과 어류를 대상으로 한 난 발생 및 초기 생활사에 관한 연구로는 Kim *et al.* (1987)의 미꾸라지 *Misgurnus mizolepis*, Kim and Lee (1995)의 수수미꾸리 *Niwaella multifasciata*, Song *et al.* (2008)의 멸종위기종 미호종개 *Iksookimia choii*, Ko *et al.* (2009)의 왕종개 *Iksookimia longicorpa*가 있다.

한편 *Koreocobitis*속의 두 종에 대한 생태 연구(변, 2007) 및 골학적 연구(김 등, 2002)가 진행되어 왔으나, 이들 연구를 제외하고는 난 발생을 비롯한 초기 생활사에 관한 연구는 전무한 실정이다. 얼룩새코미꾸리는 Kim *et al.* (2000)에 의해서 신종으로 기재된 이후, 지속적인 서식지 파괴로 인해 개체수와 분포 범위가 급격하게 줄어들어 환경부는 2005년 멸종위기 I급 야생 동식물로 지정한 바 있다.

본 연구에서는 멸종위기에 처한 얼룩새코미꾸리의 보존과 관리, 인공증식 기술 개발, 생태계 복원을 위한 기초 연구로써 인공수정에 의한 난 발생 및 자치어 형태 발달을 조

\*교신저자: 방인철 Tel: 82-41-530-1286, Fax: 82-41-530-1638, E-mail: incbang@sch.ac.kr

사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험어의 확보

얼룩새코미꾸리는 한국의 멸종위기 야생동식물 I급이므로 2009년 4월 10일자로 낙동강유역 환경청의 포획 허가 와 경상남도 산청군의 각망 어업 허가를 받아, 경상남도 산청군 금서면 차탄리 일대의 경호강에서 각망(망목 4×4 mm)으로 채집된 암컷 10개체 (전장 19.7±1.0 cm, 체중 44.5±6.4 g)와 수컷 10개체 (전장 18.7±0.6 cm, 체중 33.3±3.0 g)를 실험실로 운반한 후, 사육 수온 20±1°C로 사육·관리하였다.

### 2. 산란 유도 및 사육

성숙한 개체들은 Kim *et al.* (1992)의 방법에 따라 HCG (human chorionic gonadotropin) 호르몬을 10 IU/g의 농도로 복강 주사한 뒤, 12시간 경과 후에 복부압박법으로 채란하여 전식법으로 인공수정시켰다. 사육 수온은 20±1°C로 유지하였다. 부화 자어는 난황흡수가 거의 완료되는 부화 후 7일째부터 윤충 (rotifer)을, 부화 8일째부터는 부화된 알테미아 (brine shrimp) 유생을, 그 이후부터는 배합사료를 공급하였다. 사육 용수는 부화 후 20일까지 매일 오전에 1/2씩 환수하였다.

### 3. 난 발생 과정 및 자치어 형태 발달 관찰

인공수정을 통해 얻은 수정란 중 일부를 페트리 접시에 분산 수용하여 해부현미경 (SZX-ILLB 100, Olympus Co., Japan) 하에서 10~50배의 배율에서 관찰하였다. 발육단계에 따른 자치어의 형태 발달 과정을 측정하기 위하여 부화 직후부터 부화 후 180일까지 마취제 MS-222 (Tricaine methanesulfonate; Sindel Co., Canada)를 이용하여 마취한 후, 하루 10개체씩 무작위로 샘플링하여 전장과 체중을 측정하였다. 발달 단계별 사진은 디지털 카메라 (Olympus DP-10, Olympus, Japan)를 이용하여 촬영하였다.

## 결 과

### 1. HCG 호르몬에 의한 산란 유도

얼룩새코미꾸리 친어에 HCG 호르몬을 10 IU/g의 농도로 복강 주사하였을 때 평균 14시간 후에 산란이 유도되었다.

**Table 1.** Ovulation response to HCG injection of *Koreocobitis naktongensis* in comparison to *Misgurnus mizolepis* (Kim *et al.*, 1992)

Species	<i>K. naktongensis</i>	<i>M. mizolepis</i>
Dose (IU/g BW)	10	10
No. of females injected	10	32
No. of females ovulated	10	32
Percentage of females ovulated	100%	100%
Mean ovulation time after HCG injection	14 h (12~16 h)	17 h (13~22 h)

이러한 결과는 미꾸라지 (Kim *et al.*, 1992)의 평균 17시간 보다 빨랐다 (Table 1).

### 2. 수정란의 크기 및 특징

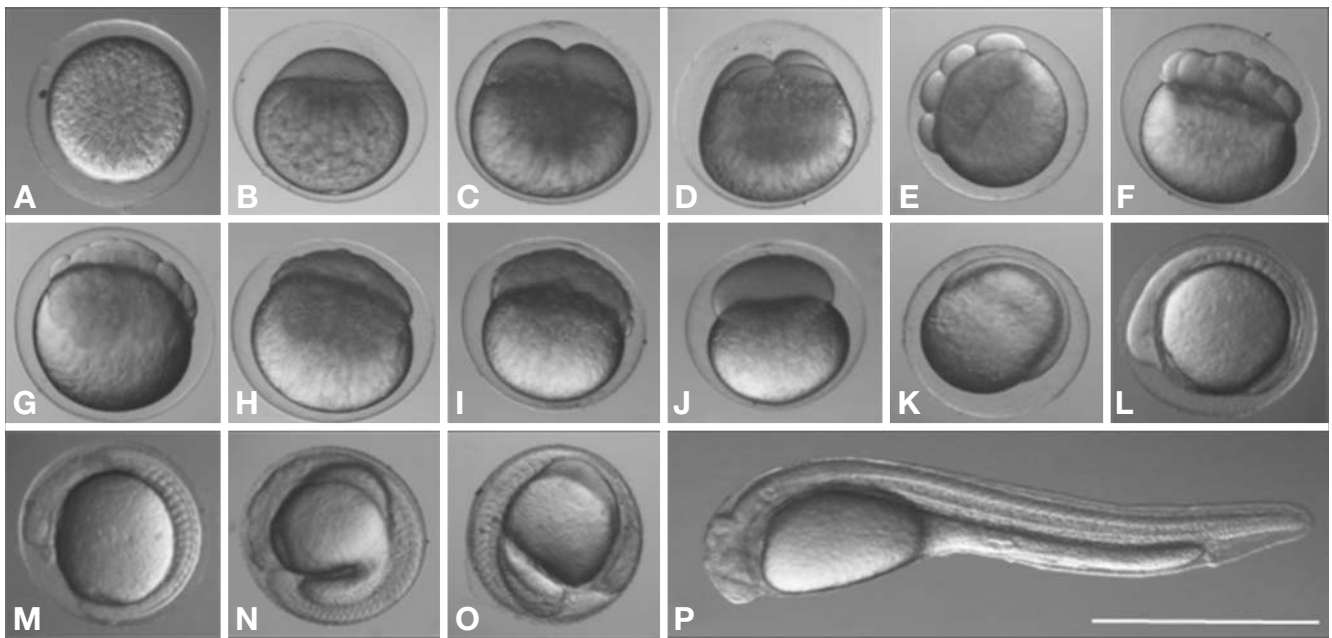
얼룩새코미꾸리의 수정란의 크기는 직경이 1.0~1.2 mm (평균 1.1 mm, n=20)로 유구가 존재하지 않았으며, 구형의 투명한 황색을 나타내는 침성 점착란이었다.

### 3. 난 발생 과정

얼룩새코미꾸리의 난 발생 과정은 수정, 난황, 포배, 낭배, 체절 및 기관 형성과 부화의 6단계로 구분되었다 (Table 2 & Fig. 1). 사육 수온 20±1°C에서 인공수정된 수정란은 수분을 흡수하기 시작하여 10분 이내로 난막과 난황이 분리되기 시작하였고 (Fig. 1A), 수정 후 40분 경과 후 동물극에 배반 (blastodisc)이 형성되었다 (Fig. 1B). 수정 후 1시간 10분 경과 후 배반의 중앙이 수직 이동되면서 2세포기에 이행하였고 (Fig. 1C), 1시간 40분 경과 후 4세포기에 도달하였다 (Fig. 1D). 수정 후 2시간 10분 후에는 8세포기로 이행하였고 (Fig. 1E), 2시간 50분 후에는 16세포기에 도달하였다 (Fig. 1F). 수정 후 3시간 15분 후에는 32세포기에 이행하였고 (Fig. 1G), 4시간 20분 후에는 64세포기에 도달하였다 (Fig. 1H). 이후 계속 발생이 진행되어 7시간 10분 후에는 상질기에 접어들어 할구가 작아지고 조밀해졌다 (Fig. 1I). 수정 9시간 10분 후에 포배기 (blastula)에 도달하였으며 (Fig. 1J), 12시간 55분 후에 배반이 난황의 2/3를 덮어 내려와 낭배기 (gastrula)에 도달하였다 (Fig. 1K). 수정 15시간 후에는 배반이 난황의 대부분을 덮으면서 난황 위에 유백색의 배체 (embryo)가 형성되어 얇게 나타났으며, 19시간 5분 후에 근절이 3~4개가 생기고 안포가 형성되었다 (Fig. 1L). 수정 22시간 50분 후에는 안포 뒤에 이포가 형성되었으며, 근절은 18~23개로 증가되었고, 난황주머니는 원추형으로 연장·변형되기 시작하였다 (Fig. 1M). 수정 30시간 50분 후에는 배체가 간헐적으로 운동을 시작하였으며, 근절은 26~32개로 증가하였고 꼬리 부분이 난황으로부터 떨어져 연장되기 시작하였다 (Fig. 1N). 수정 36시간 전후로 난황

**Table 2.** Time required for embryonic stages of *Koreocobitis naktongensis* at 20°C

Stage	Time	Fig. 1	Characteristics
<b>Zygote period</b>			
Insemination	–	–	Sperm and egg are inseminated
Swelling	10 min	A	Inseminated egg is swelling
1-cell	40 min	B	Blastodisc
<b>Cleavage period</b>			
2-cell	1 h 10 min	C	2 blastodisc is cleavage
4-cell	1 h 40 min	D	2~2 array of blastomeres
8-cell	2 h 10 min	E	2~4 array of blastomeres
16-cell	2 h 50 min	F	4~4 array of blastomeres
32-cell	3 h 15 min	G	4~6 regular tiers of blastomeres
64-cell	4 h 20 min	H	8 regular tiers of blastomeres
Morula	7 h 10 min	I	Cleavage plans irregular; flattening produces an elliptical shape
Blastula	9 h 10 min	J	Elliptical shape; flat border between blastodisc and yolk
Postgastrula	12 h 55 min	K	
<b>Segmentation period</b>			
3~4 mytomes	19 h 5 min	L	3~4 mytomes furrow; polster prominent
18~23 mytomes	22 h 50 min	M	18~23 mytomes furrow
26~32 mytomes	30 h 50 min	N	26~32 mytomes furrow
34~40 mytomes	36 h	O	34~40 mytomes furrow and formation of heart
<b>Hatching period</b>			
Hatching	38 h	P	



**Fig. 1.** Egg development of *Koreocobitis naktongensis*. Time required for each developmental stage is shown in Table 2. A, formation of perivitelline membrane at 10 min after fertilization; B, formation of blastodisc at 40 min after fertilization; C, 2-cell stage at 1 h 10 min after fertilization; D, 4-cell stage at 1 h 40 min after fertilization; E, 8-cell stage at 2 h 10 min after fertilization; F, 16-cell stage at 2 h 50 min after fertilization; G, 32-cell stage at 3 h 15 min after fertilization; H, 64-cell stage at 4 h 20 min after fertilization; I, morula stage at 7 h 10 min after fertilization; J, blastula stage at 9 h 10 min after fertilization; K, postgastrula stage at 12 h 55 min after fertilization; L, 3~4 mytomes stage at 19 h 5 min after fertilization; M, 18~23 mytomes stage at 22 h 50 min after fertilization; N, 26~32 mytomes stage at 30 h 50 min after fertilization; O, 34~42 mytomes stage at 38 h after fertilization; and P, a hatched larva at 38 h after fertilization, 2.7 mm in total length. The bar indicates 1 mm.

앞쪽에 심장이 형성되어 서서히 고동하는 것을 관찰할 수 있었으며, 배체는 난막 내를 활발하게 회전운동하였다 (Fig.

1O). 수정 후 38시간을 전후하여 꼬리부분부터 난막을 뚫고 부화되기 시작하였다 (Fig. 1P).

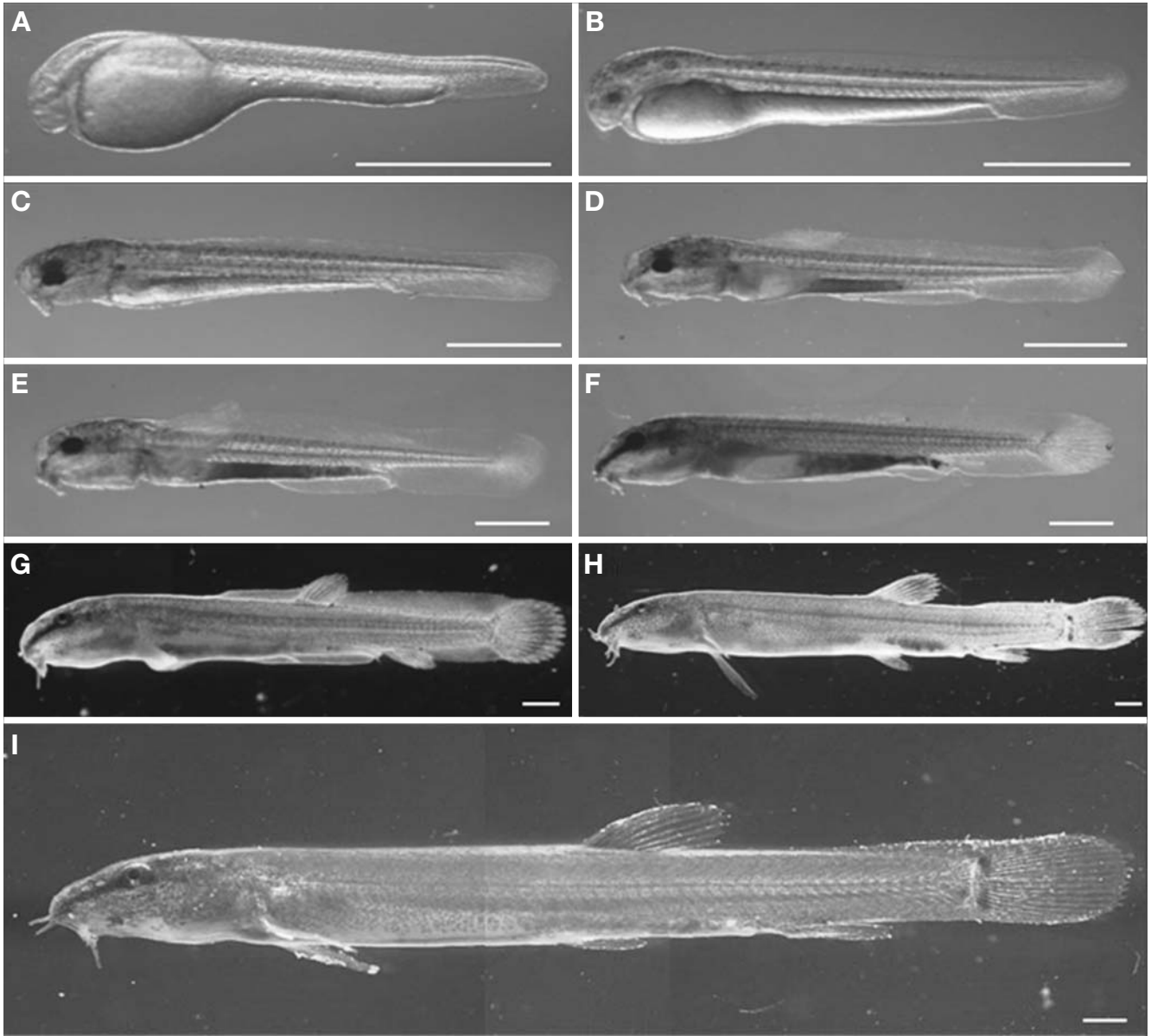


Fig. 2. Larval development of *Koreocobitis naktongensis*. A, 1 day after hatching, 3.0 mm in total length; B, 2 days after hatching, 3.7 mm; C, 5 days after hatching, 4.6 mm; D, 7 days after hatching, 4.9 mm; E, 10 days after hatching, 7.0 mm; F, 20 days after hatching, 8.3 mm; G, 30 days after hatching, 14.6 mm; H, 40 day after hatching, 19.8 mm; and I, 50 days after hatching, 24.5 mm. The bar indicates 1 mm.

#### 4. 자치어의 형태 발달

##### 1) 전기 자어

부화 후 1일째의 자어는 전장이 2.9~3.2 mm (평균 3.0 mm, n=10)로 항문과 입은 아직 열려있지 않았고, 흑색소포가 출현하지 않았으며 체색은 무색 투명하였다. 등지느러미, 뒷지느러미 및 꼬리지느러미는 막상으로 연결되어 있으며, 활발한 유영 능력을 갖지 못하였지만 부화 후 6시간 전후로 꼬리를 이용하여 올챙이처럼 유영하였다(Fig. 2A).

부화 후 2일째의 자어는 전장 3.5~3.8 mm (평균 3.7 mm, n=10)로 눈에는 색소포가 연하게 착색되기 시작하였으며,

별 모양의 흑색소포는 머리 윗부분과 부레, 체측 근절상에 출현하기 시작하였다(Fig. 2B). 부화 후 5일째의 자어는 전장 4.2~5.0 mm (평균 4.6 mm, n=10)로 두부 발달과 함께 눈에는 색소포가 짙게 착색되었으며, 미꾸리와 어류들의 자어에서 특징적인 외새가 1~2쌍 출현하였다. 또한 다수의 흑색소포가 체측과 막지느러미 아래로 검은 띠를 이루었으며 난황의 70%가 흡수되었다(Fig. 2C).

##### 2) 후기 자어

부화 후 7일째의 자어는 전장 4.5~5.2 mm (평균 4.9 mm, n=10)로 난황 흡수가 완료되었으며, 입과 항문이 완전히

**Table 3.** Comparisons of egg developmental characteristics among cobitid fishes

Species	Size of fertilized egg (mm)	Size of hatched larvae (mm)	Time of hatching (water temp.)	Reference
<i>Cobitis biwae</i>	1.1~1.2	4.6	2~3 d (23~26°C)	Okada and Seishi, 1937
<i>Cobitis takatsuensis</i>	1.5	5.6~5.8	4~5 d (18°C)	Shimizu <i>et al.</i> , 1998
<i>Iksookimia choii</i>	1.1~1.3	3.5~4.0	24 h (23~25°C)	Song <i>et al.</i> , 2008
<i>Iksookimia longicorpa</i>	1.4~1.7	4.8~5.2	50~72 h (23~25°C)	Ko <i>et al.</i> , 2009
<i>Koreocobitis nakdongensis</i>	1.0~1.2	2.7	38 h (20°C)	Present study
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	0.7~0.9	3.4~4.0	1~3 d (20~28°C)	Uchida, 1939
<i>Misgurnus mizolepis</i>	1.0~1.1	2.6~2.8	24 h (24~27°C)	Kim <i>et al.</i> , 1987
<i>Niwaella delicata</i>	2.7	7.5	17 d (9°C)	Suzuki, 1966
<i>Niwaella multifasciata</i>	1.5~1.9	5.1~5.9	6 d (10~14°C)	Kim and Lee, 1995

열리어 윤층을 활발하게 섭식하였다. 외새는 3쌍으로 증가하고 길게 신장되어 아가미 뚜껑 밖으로 돌출되기도 하였으며, 항문은 전장의 70% 뒤쪽 지점에 위치하였다(Fig. 2D). 부화 후 10일째의 자어는 전장 6.2~7.9 mm (평균 7.0 mm, n=10)로 알테미아 유생을 활발하게 섭식하며, 원형의 흑색 소포는 머리와 체측에 많아져서 띠를 이루었다. 외새가 아가미 뚜껑으로 대부분이 덮였으며, 개체에 따라 2~3쌍의 입수염이 출현하였다(Fig. 2E). 부화 후 20일째의 자어는 전장 7.8~8.7 mm (평균 8.3 mm, n=10)로 아가미 뚜껑의 기능이 완전해졌으며, 등지느러미의 원기와 항문 뒤쪽으로 몸 3/4지점에 뒷지느러미의 원기가 막지느러미에서 발달하기 시작하였다. 또한 꼬리지느러미는 발달하여 5~6개의 줄기가 발생하였으며, 입수염은 3쌍으로 증가하였다(Fig. 2F). 부화 후 30일째의 자어는 전장 9~17 mm (평균 14.6 mm, n=10)로 각 지느러미의 발달이 활발해져서 모든 지느러미가 발달하기 시작하였다. 등지느러미의 기초수가 5~6개 나타났으며, 막지느러미가 거의 소실되어 각 지느러미가 분리되기 시작하였다(Fig. 2G). 부화 후 40일째의 자어는 전장 17~23 mm (평균 19.8 mm, n=10)로 막지느러미가 완전히 소실되어 각 지느러미가 분화되었다(Fig. 2H).

3) 치어기

부화 후 50일째의 치어는 전장이 21~27 mm (평균 24.5 mm, n=10)로 모든 지느러미의 기능이 완벽해졌으며, 각 지느러미의 기초수가 정수에 도달하여 성어와 유사한 체색과 체형을 갖추었다(Fig. 2I).

고 찰

얼룩새코미꾸리의 수정란은 구형의 연한 황색을 띤 침성 점착난으로 미꾸리와 어류들 중에서 미호종개(Song *et al.*, 2008)와 동일하였으나, 분리 침성난인 수수미꾸리와 왕종개(Kim and Lee, 1995; Ko *et al.*, 2009)와 분리 침성 점착란인 미꾸라지(Kim *et al.*, 1987)와는 달랐다. 얼룩새코미꾸리의 수정란 크기는 평균 1.1 mm로 *Cobitis biwae* (1.1~1.2

mm)와 미호종개 (1.1~1.3 mm)와 비슷한 수준이었으나(Okada and Seishi, 1937; Song *et al.*, 2008), 수수미꾸리 (1.5~1.9 mm)와 왕종개 (2.1~2.3 mm)보다는 작았다(Kim and Lee, 1995; Ko *et al.*, 2009)(Table 3). 수정 후 부화까지 소요되는 시간은 얼룩새코미꾸리가 약 38시간 전후(수온 20±1°C)로 나타나, *Cobitis sinensis*의 48시간(수온 23~26°C; Okada, 1959), 왕종개의 50~72시간(수온 23~25°C; Ko *et al.*, 2009)에 비해 빨랐다(Table 3).

얼룩새코미꾸리의 부화 직후 자어의 평균 전장은 2.7 mm로 미꾸리 *Misgurnus anguillicaudatus*의 4.0 mm(Uchida, 1939), 수수미꾸리의 5.4 mm(Kim and Lee, 1995)에 비해 작았으며, 미꾸라지의 2.7 mm(Kim *et al.*, 1987)와 비슷한 크기였다(Table 3). 모든 지느러미가 형성되고 각 지느러미 기초수가 정수에 달하는 얼룩새코미꾸리의 치어기는 부화 후 50일째부터였으며 평균 전장은 24.5 mm로 수수미꾸리(Kim and Lee, 1995)의 85일째 17.3~19.9 mm보다는 빨랐지만, 미꾸라지(Kim *et al.*, 1987)의 24일째 15.4~16.4 mm와 왕종개(Ko *et al.*, 2009)의 25일째 12.4~13.2 mm보다는 느렸다.

지금까지 발표된 미꾸리와 어류들의 초기 생활사를 비교하면, *Niwaella*속 어류는 수온이 비교적 낮은 겨울철에 산란하는 종으로 부화 시간과 난황 흡수 시간이 다른 미꾸리와 어류들보다 매우 느리고, 난경과 자어의 크기가 비교적 크다(Suzuki, 1966; Kim and Lee, 1995). 이에 비해 *Misgurnus*속 어류는 부화 시간이 하루 정도 빠르고 난경과 자어의 크기가 작다. *Iksookimia*와 *Cobitis*속의 어류들 간에는 뚜렷한 차이가 없으나 종에 따라 난경, 자어의 크기 및 부화 시간 등의 차이를 보인다(Ko *et al.*, 2009). *Koreocobitis*속에 속하는 얼룩새코미꾸리는 작은 난경과 자어의 크기가 *Misgurnus*와 *Iksookimia*속 어류들과 비슷하였고, 부화 시간은 *Niwaella*와 *Cobitis*속 어류들에 비해 빠르지만 *Misgurnus*와 *Iksookimia*속 어류들보다는 느렸다. 이러한 초기 생활사의 차이는 대상종의 특성 및 사육 수온에 따른 차이에 기인한 것으로 사료된다.

요 약

멸종위기 담수어류인 얼룩새코미꾸리 *Koreocobitis nakto-*  
*ngensis*의 난 발생 과정 및 자치어 형태 발달을 조사하였  
다. 인간 융모성 성선자극호르몬(HCG)을 10 IU/g의 농도로  
암컷의 복강에 주사하여 성숙란을 얻었으며, 전식법으로 정  
자와 수정시켰다. 수정란의 난경은 1.0~1.2 mm로 유구는  
존재하지 않았다. 배체는 수온 20±1°C에서 수정 38시간  
후부터 부화하기 시작하였다. 부화 직후 자어의 전장은  
2.5~2.8 mm로 입과 항문은 아직 열리지 않았다. 부화 후  
7일째 자어는 전장 4.5~5.2 mm로 난황은 완전히 흡수되었  
다. 부화 후 50일째 모든 지느러미가 완성되는 치어기로 이  
행하였고, 이때의 전장은 21~27 mm였다.

사 사

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업의 연구비  
지원에 의해 수행되었습니다.

인 용 문 헌

김익수 · 박종영. 2002. 한국의 민물고기. 교학사, pp. 204-207.  
김익수 · 안정현 · 김병직. 2002. 한국산 새코미꾸리속 *Koreocobitis*  
어류의 골학적 연구. 한국어류학회지, 14: 19-28.  
변화근. 2007. 내린천에 서식하는 새코미꾸리 *Koreocobitis rotundi-*  
*caudata* (Cobitidae)의 생태. 한국어류학회지, 19: 299-305.  
Blaxter, J.H.S. 1974. The Early Life History of Fish. Spring-Verlag,  
Berlin, 765pp.  
Kim, D.S., J.H. Kim and I.S. Park. 1992. Induced and multiple spa-  
wnings by human chorionic gonadotropin injection of the  
loach, *Misgurnus mizolepis* (Teleostomi; Cobitidae). J.

Aquacult., 5: 109-115. (in Korean)  
Kim, I.S. and E.H. Lee. 1995. Studies on early embryonic develop-  
ment of *Niwaella multifasciata* (Pisces; Cobitidae). Korean  
J. of Limnol., 28: 455-462. (in Korean)  
Kim, I.S., J.Y. Park and T.T. Nalbant. 2000. A New Species of  
*Koreocobitis* from Korea with a redescription of *K. rotundi-*  
*caudata*. Korean J. Ichthyol., 12: 89-94.  
Kim, Y.U., Y.S. Park and D.S. Kim. 1987. Development of eggs,  
larvae and juveniles of loach, *Misgurnus mizolepis* Gunther.  
Bull. Korean Fish. Soc., 20: 16-23. (in Korean)  
Ko, M.H., J.Y. Park and I.S. Kim. 2009. Development of eggs and  
early life history of *Iksookimia longicorpa* (Pisces: Cobiti-  
dae) from Nakdong river of Korea. Korean J. Ichthyol., 21:  
15-22. (in Korean)  
Nalbant, T.T. 2002. The tribe cobitini: a monophyletic assemblage.  
In: International Conference: Loaches of the Genus *Cobitis*  
and Related Genera. Programme & Book of Abstracts,  
Olsztytn, Poland, Sep. 9-13, 2002, p. 51.  
Okada, Y. 1959. Studies on the fresh water fishes of Japan. J. Fac.  
Fish Mie Pref. Univ., 4: 533-568.  
Okada, Y. and R. Seishi. 1937. Morphological and ecological study  
on the larvae and juveniles of freshwater fishes in Japan.  
(VIII) *Cobitis biwae* Jordan & Snyder. Bull. Fish. Res., 32:  
549-554. (in Japanese)  
Shimizu, T., H. Sakai and N. Mizuno. 1998. Embryonic and larval  
development of a Japanese spinous loach, *Cobitis takatsuen-*  
*sis*. Ichthyol. Res., 45: 377-384.  
Song, H.Y., W.J. Kim., W.O. Lee and I.C. Bang. 2008. Morphologi-  
cal development of egg and larvae of *Iksookimia choii* (Co-  
bitidae). Korean J. of Limnol., 41: 104-110. (in Korean)  
Suzuki, R. 1966. Artificial spawning and early development of the  
loach, *Cobitis delicate* Niwa. Bull. Freshwater Fish. Res.  
Lab., 15: 175-188.  
Uchida, K. 1939. The fishes of Tyosen. Part 1. Nematognathi, Even-  
tognathi. Bull. Fish. Exp. Sat. Gov. Gener. Tyosen. 6, 458pp.  
(in Japanese)