

북한강 지류 상천천에 서식하는 대륙종개 *Barbatula nuda* (Pisces: Nemacheilidae)의 난발생 및 자치어 형태 발달

곽영호 · 송미영 · 송하윤*

국립수산과학원 중앙내수면연구소

Morphological Development of Eggs, Larvae and Juveniles of Siberian Stone Loach, *Barbatula nuda* (Pisces: Nemacheilidae) in the Sangcheoncheon Stream, a Tributary of Bukhangang River, Korea by Yeong-Ho Kwak, Mi-Young Song and Ha-Yoon Song* (Inland Fisheries Research Institute, NIFS, Geumsan 32762, Republic of Korea)

ABSTRACT We investigated to elucidate the early life history of siberian stone loach, *Barbatula nuda* (Pisces: Nemacheilidae). Adult fish were collected using net in the Sangcheoncheon Stream, Cheongpyeong-myeon, Gapyeong-gun, Gyeonggi-do, Korea, 26th April 2020. HCG 10 IU/g was injected to female and male fish and fertilized by dry method in the laboratory. The number of eggs of *B. nuda* was $1,308 \pm 293$ (TL: 70.64~79.24 mm), and the egg color was yellowish grey. Fertilized eggs measured 1.13 ± 0.01 mm ($n=10$) in diameter and showed adhesion. The fertilized eggs started hatching after 104 hours. At the time of egg development, the 15°C group showed an average hatching rate of $80.1 \pm 1.2\%$ and the 20°C group showed $61.5 \pm 6.8\%$, so the 15°C group was suitable ($p < 0.05$). Newly hatched larva an average were 3.12 ± 0.06 mm ($n=10$) in total length. At 4 days after hatching, the total length was 4.89 ± 0.09 mm ($n=10$), and feeding began with the mouth and anus opened, and entered to preflexion larvae stage. At 21 days after hatching, the total length was 10.98 ± 0.40 mm ($n=10$), and the distal part of the notochord was bent to 45°, and entered to postflexion larvae stage. At 26 days after hatching, the total length was 13.47 ± 0.37 mm ($n=10$), and entered the juvenile stage.

Key words: Egg development, larva, juvenile, *Barbatula nuda*, Nemacheilidae

서론

담수어류는 척추동물 가운데 가장 다양한 집단으로 보고되어 있지만 대부분의 종들이 생존에 위협을 받고 있다(Duncan and Lockwood, 2001). 국제자연보전연맹(IUCN)의 적색목록(red-list)에 따르면 멸종위기에 처한 생물 중 약 30% 이상이 담수어류이며, 담수어류는 제한된 분포, 공간적 고립 및 확산의 제한 등으로 인해 육상생물 및 해양생물보다 멸종에 더욱 취약한 것으로 보고되고 있다(IUCN species survival commission 2000; Bhatt *et al.*, 2016). 이러한 위협의 근본적인 원인은 인간의 활동

과 관계가 깊으며, 담수어류의 보전을 위해서 해당 개체군에 대한 이해와 하천생태계를 보존하는 것은 매우 중요하다(Cooke *et al.*, 2012). 담수어류가 살아가는 하천생태계를 보전하기 위해 육상생태계와 하천생태계를 아우르는 전체 유역관리를 통한 방법이 필요하며, 생물다양성 보전을 위해 이를 평가하고 생물다양성 전략 수립 및 보전방법의 효율성을 향상시키려는 노력이 지속되고 있다(Nel *et al.*, 2007; Cooke *et al.*, 2012; Hermoso *et al.*, 2015). 또한 담수어류 종의 복원과 보전을 위한 방법으로 난발생 및 초기생활사 연구, 번식생물학적 연구, 복원방류 및 평가, 유전다양성 평가 등의 보전생물학적 연구가 지속적으로 수행되고 있다(Lee *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2020; Hong *et al.*, 2021; Souza-shibatta *et al.*, 2022). 이 중 어류의 초기생활사 연구는 어류가 수정란에서 성장하는 기간 동안 겪는 각각의 고유 형질들

저자 직위: 곽영호(박사후 인턴연구원), 송미영(해양수산연구원), 송하윤(해양수산연구원)

*Corresponding author: Ha-Yoon Song Tel: 82-41-750-1041, E-mail: fish8607@korea.kr

의 발달과 성장도 등의 다양한 분류, 생태학적 지식 등을 제공하며 이를 토대로 종의 보존과 보호, 증식뿐만 아니라 시험어류 등 다양한 연구에 기여하게 한다(Song and Choi, 2000). 어류의 초기생활사에서 치어기(Juvenile)로 성장하는 과정까지 겪는 형태적, 생리적, 행동적인 변화를 개체발생(Ontogeny)이라고 한다(Koumoundouros *et al.*, 1999). 개체발생은 발생에 대한 기초정보뿐만 아니라 개체의 발달단계별 기능적 특성, 환경 선호도 등을 이해하는 데 도움이 되기 때문에 어업 및 양식 분야에서 중요하며, 종의 보존에도 기여할 수 있다(Fukuhara, 1992; Smialek *et al.*, 2021). 또한 산란시기가 비슷하거나 형태적으로 유사한 근연종들을 식별하는 데 도움을 준다(Park *et al.*, 2018, 2021).

대륙종개 *Barbatula nuda*는 종개과(Nemacheilidae) 종개속(*Barbatula*)에 속하는 어류로 종개과 어류는 전 세계적으로 최소 42속, 618종이 서식하는 것으로 알려져 있으며, 국내에는 대륙종개, 종개 *B. toni*, 쌀미꾸리 *Lefua costata* 3종이 속한다(Nelson *et al.*, 2016; Chae *et al.*, 2019). 이전까지 대륙종개는 종개와 서로 혼동되어져 왔으나 Kottelat (2006)이 비공과 비늘, 체형 등의 형질을 종개와 대륙종개를 동정하는 명확한 형질로 제시한 바 있다. 분류학적으로 *Barbatula*속과 *Orthias*속 간 속명에 문제가 있는 종이지만(Banarescu *et al.*, 1982; Kottelat, 2012), 최근에 Nelson *et al.* (2016)이 *Orthias*속은 *Barbatula*속의 동의어(Synonym)라고 보고함에 따라 본 논문에서는 Nelson *et al.* (2016)의 내용에 근거하여 본 종을 *Barbatula nuda*로 표기하였다. 국내에서 대륙종개에 관한 연구로는 기초생태연구, 유전다양성 연구, 분류학적 재검토, 조직생물학적 연구가 진행되나 있으며(Park and Kim, 2003; Byeon, 2010; An *et al.*, 2021a, 2021b), 국외에서 분류학적 재검토, 생리생물학적 연구, 계통분류학적 연구 등이 수행되어져 왔다(Cao *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2015; Han *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2019).

국내에서 종개과 어류의 난발생 및 초기생활사 연구는 쌀미꾸리를 대상으로 한 연구가 있지만(Park *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021), 종개속에 관한 연구는 수행된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 종 보존을 위한 기초연구의 일환으로 대륙종개의 난발생 및 자치어 형태발달을 관찰해 초기생활사 특징을 규명하고 근연종과의 유연관계를 비교해 논의하였다.

재료 및 방법

1. 친어확보 및 산란유도

2020년 4월 26일 경기도 가평군 청평면에 위치한 조종천 지류 상천천에서 대륙종개 친어 10개체를 채집하였다. 수컷의 안면부에 뚜렷하게 나타나는 추성의 형질로 성별을 구분하였고, 인공수정을 위해 암컷은 배가 부른 개체, 수컷은 복부 압박 시 채정이 가능한 개체를 선별하여 실험실로 운반하였다. 채집한 암컷과

수컷은 각각 다른 수조에 개별 수용하였고 수온은 현장온도와 동일하게 $15 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 설정하였다. 암컷과 수컷의 복강에는 HCG (Human chorionic Gonadotropin) 호르몬 10 IU/g을 주사하였고, 15시간 후에 암컷과 수컷의 복부를 압박하여 채란 및 채정하고 건식법으로 인공수정하였다. 수정란 관리는 페트리디쉬에 분산 수용하여 수온 $15 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 관리하였다.

2. 난발생 및 자치어 형태 발달

대륙종개의 난은 불투명한 점착물질이 난 표면을 감싸고 있어 Proteinase K (GeneAll, Korea)를 10 mL의 수용액에 100 mg으로 희석하여 난 표면을 녹인 후 디지털카메라(PL-B873CU, Pixelink Co., Korea)가 부착된 해부현미경(SZH-10, Olympus Co., Japan)으로 난발생 과정을 관찰하였다. 포란수는 채란에 사용된 암컷의 난을 계수하였고 난의 크기는 10개를 무작위로 측정하였다. 이후 자치어는 수온 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 관리하였으며 부화자의 먹이로 알테미아 유생을 공급하였다. 자치어 형태 발달과정은 부화 직후의 개체부터 치어기로 이행하는 부화 후 26일까지 Tricaine methanesulfonate (MS-222, Syndel, Canada)로 마취 후 매일 10개체씩 전장을 측정하고 형태 관찰하였다. 난발생 과정의 표기와 용어는 Charles *et al.* (1995)을 따랐으며, 자치어 형태 발달과정은 Kim *et al.* (2011)의 기준을 참고하여 난황자어기, 전기자어기, 중기자어기, 후기자어기, 치어기로 구분하였다. 수정률은 채란된 알에 대한 수정란의 백분율, 부화율은 수정란에 대한 부화된 개체의 백분율, 기형률은 부화된 개체에 대한 기형이 발생한 개체의 백분율로 계산하였다. 종 보존을 위한 기초연구로서 수온에 따른 난발생 실험은 수온 15°C 와 20°C 에서 3회 반복 수행하였으며, 유의성 검정은 SPSS의 독립표본 *t*-test로 하였다.

결 과

1. 포란수 및 난의 특징

대륙종개의 포란수는 암컷 평균 전장 70.64~79.24 mm ($n=3$) 개체에서 평균 980~1,543 ($1,308 \pm 293$)개로 나타났다. 대륙종개의 성숙란은 황회색의 구형에 가까운 원형이었고 난경은 0.68~0.78 (0.71 ± 0.03) mm ($n=10$)였다. 수정란은 표면이 불투명하였고 강한 점착력을 통해 기질에 부착하는 침성점착난으로 난경은 1.11~1.15 (1.13 ± 0.01) mm ($n=10$)로 나타났다(Fig. 1A).

2. 난발생 과정

1) 세포질 응집(Zygote period)

수정란은 물을 흡수 후 15분 만에 동물극과 식물극으로 분리되었고 세포질이 동물극에서 응집되어 수정 후 1시간 15분에 배

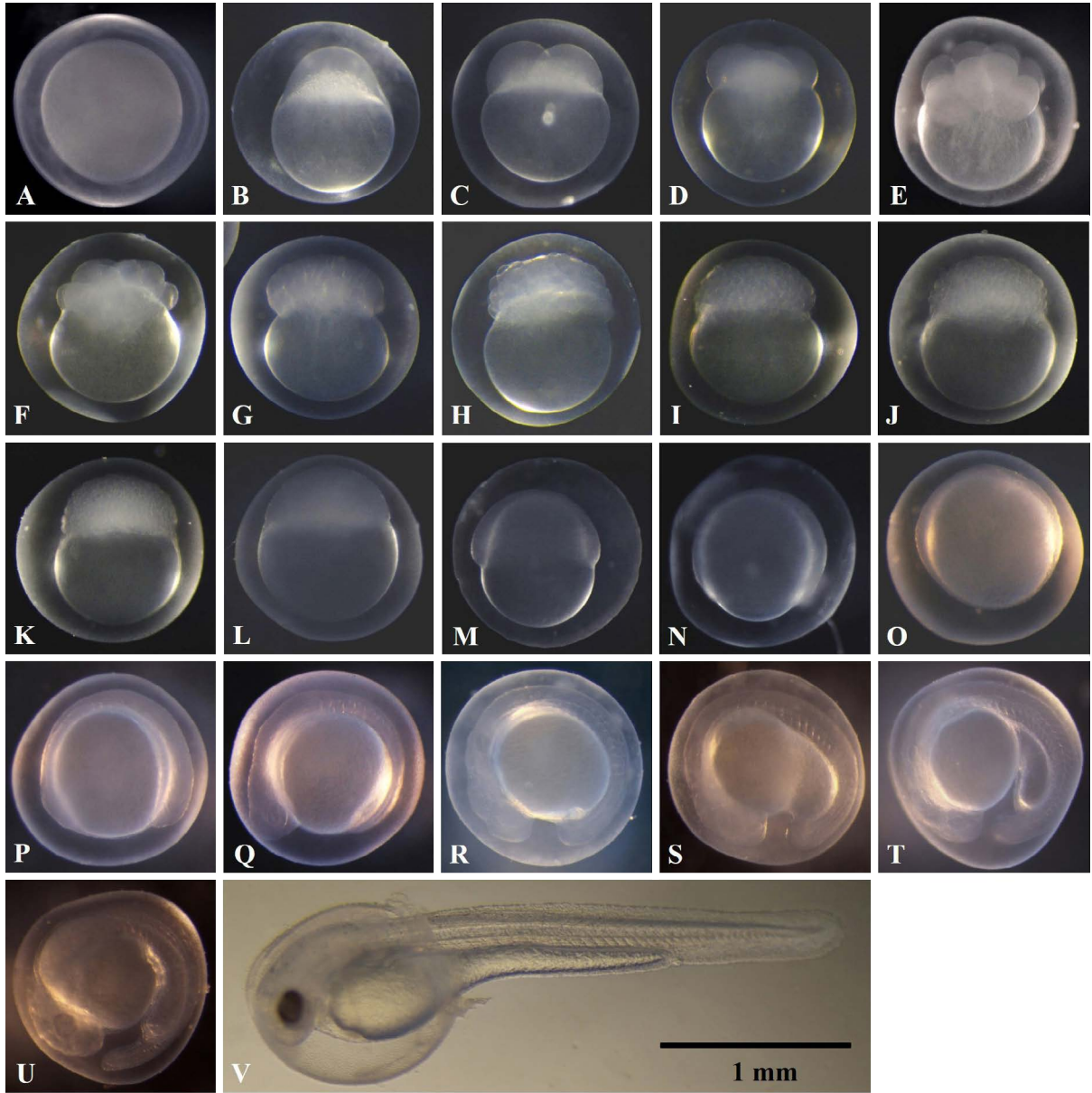


Fig. 1. The egg development of *Barbatula nuda* at water temperature $15 \pm 1^\circ\text{C}$. The scale bar indicates 1 mm. Time required for each egg developmental is shown in Table 1.

반(Blastodisc, 1세포기)을 형성하였다(Fig. 1B).

2) 난할형성(Cleavage period)

수정 후 1시간 40분에는 동물극에서 난할이 일어나 2세포기로 이행하였고(Fig. 1C) 수정 후 2시간 5분에는 경할이 일어나 4세포기를 형성하였다(Fig. 1D). 이후 계속된 난할과 경할을 반복하여 수정 후 2시간 35분에는 8세포기를 형성하였고(Fig. 1E), 수정 후 3시간 15분에는 16세포기(Fig. 1F), 수정 후 4시간에는 32세포기(Fig. 1G), 수정 후 4시간 50분에는 64세포기를 형성하였다(Fig. 1H).

3) 포배형성(Blastula period)

수정 후 6시간에는 128세포기를 형성하였고(Fig. 1I), 수정 후 7시간 15분에 상실기(256세포기)에 도달하였다(Fig. 1J). 수정 후 9시간 40분에는 포배기를 형성하였고(Fig. 1K) 수정 후 13시간에는 낭배 초기에 도달하여 세포질이 식물극을 덮기 시작하였다(Fig. 1L).

4) 낭배형성(Gastrula period)

수정 후 19시간에는 세포질이 식물극의 50%를 덮어 낭배중기에 도달했고(Fig. 1M), 수정 후 23시간 30분에는 식물극의 90%

를 덮어 낭배 후기에 도달하였다(Fig. 1N).

5) 배체형성(Embryonic period)

수정 후 28시간에는 원구가 폐쇄되고 배체가 형성되었고(Fig. 1O), 수정 후 34시간에는 3~4개의 근절이 나타났으며 머리 쪽에는 안포가 형성되기 시작하였다(Fig. 1P). 수정 후 39시간에는 근절 수가 증가하여 9~10개에 이르렀다(Fig. 1Q). 수정 후 46시간에는 근절의 수가 17~19개로 증가하였고 안포 뒤쪽으로 이포, 꼬리 쪽으로 Kupffer's vesicles이 형성되었으며, 꼬리가 신장되었다(Fig. 1R). 수정 후 51시간에는 Kupffer's vesicles이 사라졌으며, 근절의 수는 21~23개에 이르렀고 근절과 근절 사이에서는 움직임이 관찰되었다(Fig. 1S). 수정 후 55시간에는 근절의 수가 28개에 도달하였고 눈에는 렌즈가 형성되었으며, 꼬리가 좌우로 움직임을 보였다(Fig. 1T). 수정 후 62시간에는 근절이 36개 이상으로 증가하였고 심장이 형성되었으며 심장박동이 관찰되었다. 또한 안포에는 흑색소포가 착색되기 시작하였으며 배체는 불규칙적인 회전운동을 하였다(Fig. 1U).

6) 부화(Hatching period)

수정 후 104시간에는 배체가 난막을 뚫고 나오면서 부화가 시작되었고 수정 후 122시간에는 50%가 부화하였으며, 수정 후 128시간에는 모든 개체가 부화하였다(Fig. 1V).

3. 수온별 수정률 및 부화율

대륙종개 난의 수정률은 수온 15°C에서 평균 $95.8 \pm 3.9\%$ 로 수온 20°C에서의 평균 $91.4 \pm 5.5\%$ 보다는 다소 높게 나타났고, 유의한 차이가 없었다($t(4) = 1.118, p > 0.05$). 부화율은 수온 15°C에서 평균 $80.1 \pm 1.2\%$ 로 나타났고 수온 20°C에서는 평균 $61.5 \pm 6.8\%$ 로 나타나 수온 15°C 그룹에서 높게 나타났으며 유의한 차이를 보였다($t(2.115) = 4.663, p < 0.05$). 기형률은 수온 15°C에서 평균 $5.3 \pm 1.3\%$ 로 나타났고, 수온 20°C에서는 평균 $10.1 \pm 2.6\%$ 로 나타나 수온 15°C 그룹에서 낮은 기형률을 보였으며 유의한 차이를 보였다($t(4) = -2.868, p < 0.05$) (Fig. 2).

4. 자·치어 형태 발달

1) 난황자어기(Yolksac larvae)

부화 직후의 자어는 전장 $3.01 \sim 3.21$ (3.12 ± 0.06) mm ($n = 10$)로 두부는 아래쪽으로 굽어 있고 타원형의 난황을 가지고 있었으며 몸은 무색이었다(Fig. 3A). 부화 후 1일에는 전장 $3.49 \sim 3.73$ (3.62 ± 0.08) mm ($n = 10$)로 두부가 살짝 들려 전방을 향하기 시작하였고 두부, 안구, 체측에서 흑색소포가 관찰되었다(Fig. 3B). 부화 후 2일에는 전장 $3.89 \sim 4.01$ (3.96 ± 0.04) mm ($n = 10$)로 난황의 크기는 부화 직후 자어에 비해 절반으로 줄었으며 감각기관(cupulae)이 체측에 발달하기 시작했고 외부

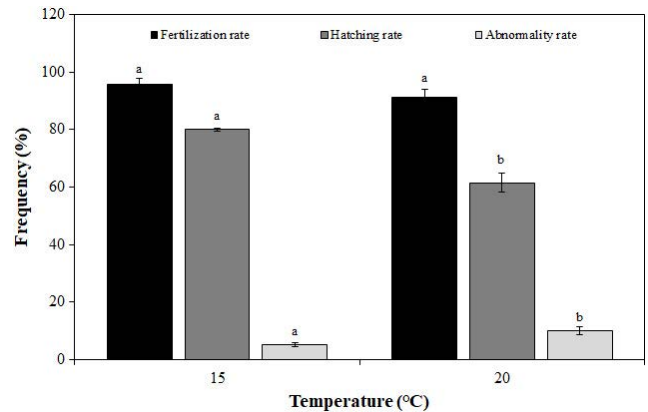


Fig. 2. Change in fertilization, hatching, abnormality rate of *Barbatula nuda* eggs affected by water temperature. The vertical lines show standard deviation (SD).

충격과 빛에 반응하기 시작했다(Fig. 3C). 부화 후 3일에는 전장 $4.45 \sim 4.72$ (4.60 ± 0.09) mm ($n = 10$)로 두부가 전방으로 완전히 향하고 입이 개구되었으며, 아가미뿔개가 발달하였고 흑색소포가 몸 전체로 침착되기 시작하였다(Fig. 3D).

2) 전기자어기(Preflexion larvae)

부화 후 4일에는 전장 $4.73 \sim 5.00$ (4.89 ± 0.09) mm ($n = 10$)로 항문이 열리면서 알테미아 유생을 섭취하기 시작하였고 난황을 모두 흡수하였다(Fig. 3E). 부화 후 5일에는 전장 $4.99 \sim 5.15$ (5.06 ± 0.05) mm ($n = 10$)로 감각기관이 두부 전방까지 발달하였으며(Fig. 3F), 부화 후 6일에는 전장 $5.22 \sim 5.38$ (5.28 ± 0.05) mm ($n = 10$)로 아가미뿔개가 발달하여 가슴지느러미 기부에 이르렀다(Fig. 3G). 부화 후 7일에는 전장 $5.53 \sim 6.14$ (5.69 ± 0.19) mm ($n = 10$)에 이르렀고(Fig. 3H), 부화 후 10일에는 전장 $6.30 \sim 7.50$ (6.67 ± 0.45) mm ($n = 10$)로 꼬리지느러미 하단부에 기조가 형성되기 시작했으며 등지느러미 원기도 관찰되었다(Fig. 3I).

3) 중기자어기(Flexion larvae)

부화 후 14일에는 전장 $8.50 \sim 8.84$ (8.66 ± 0.14) mm ($n = 10$)로 척색 말단이 위로 휘어지기 시작하였고, 등지느러미 기조는 6개가 형성되었으며 뒷지느러미 원기가 관찰되었다(Fig. 3J).

4) 후기자어기(Postflexion larvae)

부화 후 21일에는 전장 $10.24 \sim 11.57$ (10.98 ± 0.40) mm ($n = 10$)로 입수염 3쌍과 배지느러미 원기가 관찰되었고 등지느러미 기조 7개, 뒷지느러미 기조 5개가 발달하였다 또한 막지느러미가 감소함에 따라 각각의 지느러미 형질이 뚜렷하게 나타났으며, 척색 말단은 45°로 완전히 휘어졌고 감각기관의 길이는 짧아졌다(Fig. 3K).

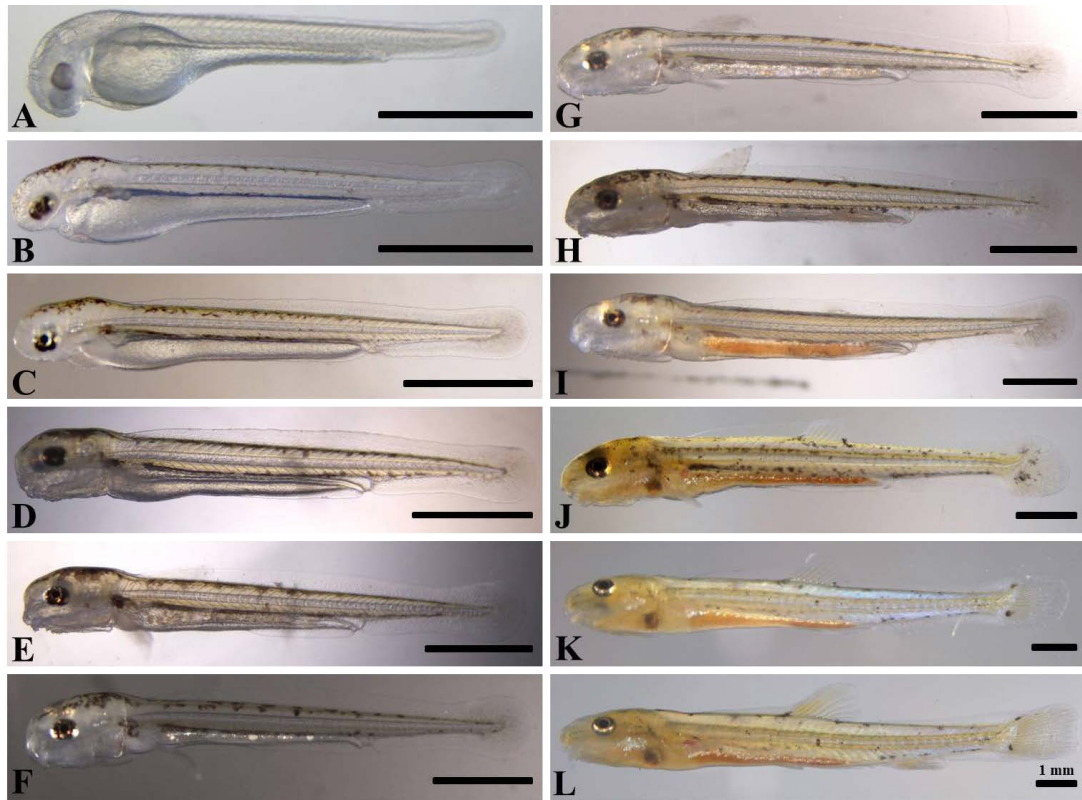


Fig. 3. Larva and Juvenile development of *Barbatula nuda* at water temperature $20 \pm 1^\circ\text{C}$. The scale bar indicates 1 mm. A: Newly hatched larvae, 3.12 mm in total length (TL); B: 1 days post-hatching (DPH), 3.62 mm in TL; C: 2 DPH, 3.96 mm in TL; D: 3 DPH, 4.60 mm in TL; E: 4 DPH, 4.89 mm in TL; F: 5 DPH, 5.06 mm in TL; G: 6 DPH, 5.28 mm in TL; H: 7 DPH, 5.69 mm in TL; I: 10 DPH, 6.67 mm in TL; J: 14 DPH, 8.66 mm in TL; K: 21 DPH, 10.98 mm in TL; L: 26 DPH: 13.47 mm in TL.

5) 치어기(Juvenile)

부화 후 26일에는 전장 13.10~14.10 (13.47 ± 0.37) mm ($n = 10$)로 체측과 두부에 감각기관은 더 이상 관찰되지 않았고, 3쌍의 입수염은 신장되었다. 또한 배지느러미 기조 수 5개가 관찰되었고 모든 지느러미 기조 수가 정수에 달하여 치어기로 이행하였다(Fig. 3L).

고 찰

대륙종개의 산란시기는 4~5월로 추정되고 있으며(Kim and Park, 2002), 친어를 포획할 당시 서식지 수온은 $15 \sim 16^\circ\text{C}$ 였다. 대륙종개의 수온별 난발생 실험에서는 부화율과 기형률에서 유의한 차이가 나타나 산란시기 서식지 수온인 15°C 가 부화수온으로 적합하였다. 호르몬 투여를 통한 인공 산란유도는 어중에 따라 유효 농도에서 차이를 나타내므로 대상종의 성숙도를 고려하여 호르몬 처리가 필요하다(Park *et al.*, 1994; Park, 2020). 또한 HCG를 이용한 산란유도 시 처리농도가 증가할수록 기형률이 증가하는데, 고용량의 HCG는 미숙란의 성숙을 억제하며 난

질에 영향을 준다(Koo and Johnston, 1978; Cerda *et al.*, 1997). 대륙종개의 부화율은 수정률에 비해 다소 낮았는데, 산란시기에 친어를 포획하였기에 채란시기나 친어의 성숙 정도보다는 근연종인 미꾸리에게 효과가 있는 HCG 10 IU/g를 사용했기 때문에(Lee *et al.*, 1992), 호르몬의 농도가 난질에 영향을 미친 것으로 추정되었다. 기형률은 수온 20°C 그룹이 15°C 그룹에 비해 높게 나타났는데, 어류의 초기생활사에서 기형은 일반적인 현상으로 자연에서 10% 이하인 것으로 보고되고 있다(Klumpp and Westernhagen, 1995). 기형은 친어의 난질이 불량하거나 수온의 변화, 호르몬을 통한 산란유도, 화학물질의 영향 등으로 인해 발생하는 것으로 알려져 있는데(Koo and Johnston, 1978; Bonnet *et al.*, 2007; Finn, 2007), 본 연구에서는 수온이 20°C 일 경우 15°C 에 비해 기형율을 높게 유발하는 것으로 나타났다.

종개과 어류의 근연종들과 초기생활사를 비교해 보면 상천천에 서식하는 대륙종개의 성숙란은 황색에 가까운 회색을 나타냈으며 Byeon (2010)이 보고한 황색과 유사하였다(Table 2). 또한 *Triplophysa bleekeri* 황색(Li and Yan, 2009), 종개 회색(Ko, 2017), 쌀미꾸리 회색 또는 밝은 녹색(Park *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021), *B. oreas* 황색(Kobayasi and Moriyana, 1957)으로

Table 1. The time required for egg development of *Barbatula nuda*

Period	Stage	Elapsed time (hours: min.)		Characters	Fig. 1
		15±1°C	20±1°C		
Zygote	Insemination	00:00	00:00	Sperm and egg are inseminated	–
	Swelling	00:15	00:15	Swelling	A
	Blastodisc (1 cells)	01:15	00:55	Blastodisc	B
Cleavage	2 cells	01:40	01:20	2 blastodisc is cleavage	C
	4 cells	02:05	01:40	2-2 array of blastomeres	D
	8 cells	02:35	02:00	2-4 array of blastomeres	E
	16 cells	03:15	02:25	4-4 array of blastomeres	F
	32 cells	04:00	02:50	4-8 array of blastomeres	G
	64 cells	04:50	03:30	8-8 array of blastomeres	H
Blastula	128 cells	06:00	04:20	8-16 array of blastomeres	I
	Morula (256 cells)	07:15	05:30	16 regular tiers of blastomeres	J
	Blastula (512 cells)	09:40	06:30	Flattening produces an elliptical shape	K
	Early gastrulation	13:00	–	Early Gastrulation (30% epiboly)	L
Gastrula	Middle gastrulation	19:00	10:50	Middle gastrulation (50% epiboly)	M
	Late gastrulation	23:30	–	Late gastrulation (90% epiboly)	N
Embryonic	Formation of embryo	28:00	20:00	Formation of embryo	O
	3~4 myotomes	34:00	22:00	3~4 myotomes, formation of optic vesicles	P
	9~10 myotomes	39:00	25:00	9~10 myotomes	Q
	17~19 myotomes	46:00	27:50	17~19 myotomes, formation of auditory vesicles and Kupffer's vesicles, Tail begin to extended	R
	21~23 myotomes	51:00	29:50	21~23 myotomes, disappear Kupffer's vesicles, Myotomes begin to moved	S
	28 myotomes	55:00	33:20	Tail begin to moved, formation of eye lens	T
	36< myotomes	62:00	44:00	Formation of heart (beating), Black pigmentation in eyes	U
Hatching		104:00	–	Hatching start	
		122:00	72:50	Hatching 50%	V
		128:00	77:50	Hatching 100%	

대륙종개와 유사하지만 일부 차이를 보였다. 이러한 차이는 친어가 섭취한 먹이원, 난의 성숙단계별 차이, 난질의 영향으로 인한 것으로 추정된다(Harris, 1984; Park *et al.*, 2019). 대륙종개의 포란수는 암컷 전장 70.64~79.24 mm 일 때 980~1,543개로 Byeon (2010)이 보고한 1,004~1,418개와 유사하였다. 근연종인 종개도 504~1,406개(Ko, 2017)로 대륙종개의 포란수와 유사하였고, 쌀미꾸리도 Park *et al.* (2020)의 연구에서 900~1,200개, Kim *et al.* (2021)의 연구에서 574~1,752개로 비교적 유사하였지만, *B. oreas*는 2,000개(Kobayasi and Moriyana, 1957)로 대륙종개보다 많았다. 성숙란의 난경은 0.71±0.03 mm로 Byeon (2010)의 0.75±0.04 mm, 쌀미꾸리 0.71±0.02 mm(Kim *et al.*, 2021)와 유사하였으며, 종개 0.87±0.03 mm(Ko, 2017), *B. oreas* 1 mm(Kobayasi and Moriyana, 1957), *T. bleekeri*

0.94~1.10 mm(Li and Yan, 2009)보다 작았다. 일반적으로 수정란이 발달하는데 필요한 시간과 수온의 관계는 반비례 관계이며(Pauly and Pullin, 1988) 특히 수온은 수정란이 부화되기까지 도달하는 시간과 매우 밀접한 관련이 있는데(Blaxter, 1969; Welcomme, 1985), 대륙종개는 수온 15±1°C에서 부화까지 104~128시간이 소요되었고 수온 20±1°C에서 부화까지 77시간 50분이 소요되었다. 또한 수온 13~16°C에서 168시간이 소요된 *B. oreas*(Kobayasi and Moriyana, 1957), 수온 9~12.8°C에서 287시간이 소요된 *T. bleekeri*(Li and Yan, 2009)보다 빠르게 진행되었고 수온 25°C에서 30~48시간이 소요된 쌀미꾸리(Park *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021)보다 느렸다. 부화 자어의 크기는 3.12±0.06 mm로 *B. oreas* 4 mm(Kobayasi and Moriyana, 1957), *T. bleekeri* 4.32 mm(Li and Yan, 2009), *L.*

Table 2. Morphological comparisons of egg, larva and juvenile stage characteristic of families Nemacheilidae fishes

Stage	Characters	Nemacheilidae species									
		<i>Triplophysa bleekeri</i>	<i>Lefua echigonia</i>	<i>Lefua torrentis</i>	<i>Lefua costata</i>	<i>Lefua costata</i>	<i>Barbatula oreas</i>	<i>Barbatula toni</i>	<i>Barbatula nuda</i>	<i>Barbatula nuda</i>	
Egg	Color	Yellowish	-	-	-	Grey	Light green	Deep yellow	Grey	Yellow	Yellowish grey
	Fecundity (mm, TL)	-	-	-	1,038 ± 478	1,050 ± 150 (70~90)	2000	955 ± 451 (60~81)	1,211 ± 207 (76~77)	1,308 ± 293 (70~79)	
	Diameter (Fertilized, mm)	0.94~1.10	-	-	0.71 ± 0.02 (1.19 ± 0.05)	- (1.21 ± 0.06)	1.0 (1.26)	0.87 ± 0.03	0.75 ± 0.04	0.71 ± 0.03 (1.13 ± 0.01)	
	Hatching time (W.T.)	287 h (9~12.8°C)	-	-	30~38 h (25°C)	42~48 h (25 ± 1°C)	168 h (13~16°C)	-	-	104~128 h (15 ± 1°C)	
Larva and Juvenile	Hatched larva (mm, TL)	4.32	2.56~2.60	3.5~4.5	3.01 ± 0.11	2.81 ± 0.11	4.0	-	-	3.12 ± 0.06	
	Days until juvenile (mm)	55 (14.05, TL)	-	-	20 (11.5 ± 0.67, TL)	26 (18.5 ± 0.85, TL)	-	-	-	26 (13.47 ± 0.37, TL)	
References		Li and Yan, 2009	Aoyama and Doi, 2011	Aoyama and Doi, 2011	Kim <i>et al.</i> , 2021	Park <i>et al.</i> , 2020	Kobayasi and Moriyama, 1957	Ko, 2017	Byeon, 2010	This study	

torrentis 3.5~4.5 mm (Aoyama and Doi, 2011)보다 작았으며, *L. echigonia* 2.56~2.60 mm (Aoyama and Doi, 2011), 쌀미꾸리 2.81 ± 0.11 mm (Park *et al.*, 2020), 3.01 ± 0.11 mm (Kim *et al.*, 2021)보다는 컸다. 부화자어가 치어기까지 도달하는 데 26일이 소요되어 *T. bleekeri* 55일 (Li and Yan, 2009)보다 빨랐지만, Kim *et al.* (2021)이 보고한 쌀미꾸리 20일보다 느렸고 Park *et al.* (2020)의 결과와는 동일하였다. 대륙종개 치어의 크기는 13.47 ± 0.37 mm로 *T. bleekeri* 14.05 mm (Li and Yan, 2009), 쌀미꾸리 18.5 ± 0.85 mm (Park *et al.*, 2020)보다 작았으며, *L. echigonia* 12.37~13.09 mm (Aoyama and Doi, 2011), *L. torrentis* 11.40~12.90 mm (Aoyama and Doi, 2011), 쌀미꾸리 11.5 ± 0.67 mm (Kim *et al.*, 2021)보다 컸다. 쌀미꾸리의 발달 단계를 연구자에 따라 다른 결과가 나온 것은 자·치어 발달단계 표기와 용어에서 인용된 문헌의 차이로 인해 발생한 것으로 보인다 (Okiyama, 1989; Charles *et al.*, 1995; Kim, 1997).

본 연구에서 대륙종개와 종개과 근연종들 간 초기생활사는 수정란의 색상, 난경, 부화자어의 크기 등에서 차이를 보였고, 심지어 같은 종이라도 연구자의 사육환경이나 친어의 성숙도 등에 따라 발달단계에 소요되는 시간이 다르게 나타났다. 종개속의 대륙종개와 종개는 과거 분류학적 논란이 있었기 때문에 (Cao *et al.*, 2012), 추가적으로 종개의 난발생 및 초기생활사 연구가 필요하며 이를 통해 종개속 어류에 대한 분류학적 유연관계를 밝히는 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

대륙종개의 난발생 및 초기생활사 연구를 위해 2020년 4월 26일 북한강 지류인 상천천에서 대륙종개를 채집하였다. 성숙한 암컷과 수컷의 복강에 HCG 10 IU/g를 주사하였고 15시간 후에 건식법으로 인공수정하였다. 대륙종개 암컷 전장 70.64~79.24 mm (n=3)의 포란수는 1,308 ± 293개였고, 성숙란은 황회색의 침성점착란이었다. 수정란의 난경은 1.13 ± 0.01 mm (n=10)였고 수정 후 104시간 만에 부화하였다. 난발생 시 수온 15°C 그룹의 부화율은 평균 80.1 ± 1.2%로 나타났고, 수온 20°C 그룹은 61.5 ± 6.8%로 나타나 발생 수온은 15°C에서 적합하였다 (p < 0.05). 부화 직후의 자어는 전장 3.12 ± 0.06 mm (n=10)였으며 몸은 투명하였다. 부화 후 4일에는 전장 4.89 ± 0.09 mm (n=10)로 입과 항문이 열리면서 먹이활동을 시작하였고 난황이 모두 흡수되면서 전기자어기로 이행하였다. 부화 후 14일에는 전장 8.66 ± 0.14 mm (n=10)로 척색말단이 위로 휘어지기 시작해 중기자어기로 이행하였고 부화 후 21일에는 전장 10.98 ± 0.40 mm (n=10)로 척색말단이 45°로 완전히 휘어졌다. 부화 후 26일에는 전장 13.47 ± 0.37 mm (n=10)로 모든 지느러미 기조가 정수가 되어 치어기로 이행하였다.

REFERENCES

- An, J.H., B.J. Kim and Y.S. Bae. 2021a. Distribution of the Korean *Barbatula* species reviewed by the morphological traits of nostrils. *Korean J. Ichthyol.*, 33: 117-125.
- An, J.H., J.N. Yu, B.J. Kim and Y.S. Bae. 2021b. Genetic diversity and relationship of the genus *Barbatula* (Cypriniformes; Nemacheilidae) by mitochondrial DNA cytochrome b partial gene in Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 33: 107-116.
- Aoyama, S. and T. Doi. 2011. Morphological comparison of early stages of two Japanese species of eight-barbel loaches: *Lefua echigonia* and *Lefua* sp. (Nemacheilidae). *Folia Zool.*, 60: 355-361.
- Banarescu, P.M., T.T. Nalbant and M. Goren. 1982. The noemacheiline loaches from Israel (Pisces: Cobitidae: Noemacheilinae). *Isr. J. Zool.*, 31: 1-25.
- Bhatt, J.P., K. Manish, R. Mehta and M.K. Pandit. 2016. Assessing potential conservation and restoration areas of freshwater fish fauna in the Indian river basins. *Environ. Manag.*, 57: 1098-1111.
- Blaxter, J.H.S. 1969. 4 development: eggs and larvae. *Fish Physiol.*, 3: 177-252.
- Bonnet, E., A. Fostier and J. Bobe. 2007. Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology*, 67: 786-794.
- Byeon, H.K. 2010. Ecological study of *Orthrias nudus* (Balitoridae) in the Eoron Stream of Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 22: 162-167.
- Cao, L., R. Causse and E. Zhang. 2012. Revision of the loach species *Barbatula nuda* (Bleeker 1865) (Pisces: Balitoridae) from north China, with a description of a new species from Inner Mongolia. *Zootaxa*, 3586: 236-248.
- Cerda, J., K. Selman, S.M. Hsiao and R.A. Wallace. 1997. Evidence for the differential regulation of ovarian follicle responsiveness to human chorionic gonadotropin in vitro in a Serranid teleost, *Centropomus striata*. *Aquac.*, 159: 143-157.
- Chae, B.S., H.S. Song and J.Y. Park. 2019. A field guide to the freshwater fishes of Korea. LG Evergreen Foundation, Korea, pp. 89-126.
- Charles, B.K., W.B. William, R.K. Seth, U. Bonnie and F.S. Thomas. 1995. Stages of embryonic development of the Zebrafish. *Dev. Dyn.*, 203: 253-310.
- Cooke, S.J., C. Paukert and Z. Hogan. 2012. Endangered river fish: factors hindering conservation and restoration. *Endanger. Species Res.*, 17: 179-191.
- Duncan, J.R. and J.L. Lockwood. 2001. Extinction in a field of bullets: a search for causes in the decline of the world's freshwater fishes. *Biol. Conserv.*, 10: 97-105.
- Finn, R.N. 2007. The physiology and toxicology of salmonid eggs and larvae in relation to water quality criteria. *Aquat. Toxicol.*, 81: 337-354.
- Fukuhara, O. 1992. Study on the development of functional morphology and behavior of the larvae of eight commercially valuable teleost fishes. *Contrib. Fish. Res. Japan Sea Block*, 25: 1-122.
- Han, M.S., K.S. Choi and M.H. Ko. 2020. Has the restoration project of *Pseudopungtungia tenuicarpa* (Pisces: Cyprinidae) in the Jojongcheon Stream, Hangang River failed?. *Korean J. Ichthyol.*, 32: 182-190.
- Han, R., X. Luo, Y. Han, Z. Liu, H. Xu and X. Jiang. 2016. Dietary protein requirement of *Barbatula barbatula nuda* juvenile. *Chinese J. Anim. Nutr.*, 28: 3905-3911.
- Harris, L.E. 1984. Effects of a broodfish diet fortified with canthaxanthin on female fecundity and egg color. *Aquac.*, 43: 179-183.
- Hermoso, V., A.F. Filipe, P. Segurado and P. Beja. 2015. Filling gaps in a large reserve network to address freshwater conservation needs. *J. Environ. Manage.*, 161: 358-365.
- Hong, Y.K., H. Yang and I.C. Bang. 2021. The spawning behaviour of the endangered freshwater fish *Koreocobitis naktongensis* (Cypriniformes: Cobitidae) under artificial conditions. *Korean J. Ichthyol.*, 33: 15-21.
- IUCN species survival commission 2000. IUCN red list of threatened species. Retrieved from <http://www.iucn.org/redlist/2000/index.html>
- Jonsson, N. and J. Jonsson. 1999. Trade-off between egg mass and egg number in brown trout. *J. Fish Biol.*, 55: 767-783.
- Kim, H.S., M.S. Han and M.H. Ko. 2021. Spawning period characteristics and early life history of the eight barbel loach, *Lefua costata* (Pisces: Balitoridae). *Korean J. Environ. Ecol.*, 35: 285-293.
- Kim, I.S. 1997. Illustrated encyclopedia of fauna & flora of Korea, Vol. 37, Freshwater Fishes. Ministry of Education, Yeongi, Korea, 629pp.
- Kim, I.S. and J.Y. Park. 2002. Freshwater Fishes of Korea. Kyohak Publishing, Seoul, Korea, 465pp.
- Kim, J.K., J.H. Ryu, S. Kim, D.W. Lee, K.H. Choi, T.Y. Oh, K.S. Hwang, J.N. Kim, H.J. Kwun, H.S. Ji and J.N. Oh. 2011. An identification guide for fish eggs, larvae and juveniles of Korea. Hanguel graphics, Busan, Korea, pp. 6-19.
- Klumpp, D.W. and H. Von Westernhagen. 1995. Biological effects of pollutants in Australian tropical coastal waters: embryonic malformations and chromosomal aberrations in developing fish eggs. *Mar. Pollut. Bull.*, 30: 158-165.
- Kobayasi, H. and S. Moriyana. 1957. On the development of a loach, *Barbatula toni oreas* (JORDAN et FOWLER). *Japanese J. Ichthyol.*, 6: 177-183.
- Ko, M.H. 2017. Life history of the siberian stone loach *Orthrias toni* (Pisces: Balitoridae) in the Buk Stream, Goseong, Korea. *Korean J. Ichthyol.*, 29: 197-204.
- Koo, T.S.Y. and M.L. Johnston. 1978. Larva deformity in striped bass, *Morone saxatilis* (walbaum), and blueback herring, *Alosa aestivalis* (mitchill), due to heat shock treatment of developing eggs. *Environ. Pollut.*, 16: 137-149.
- Kottelat, M. 2006. Fishes of Mongolia: A check-list of the fishes known to occur in Mongolia with comments on systematics and nomenclature. The World Bank, Washington, U.S.A.

- 103pp.
- Kottelat, M. 2012. Conspectus Cobitidum: An inventory of the loaches of the world (Teleostei: Cypriniformes: Cobitoidei). Raffles B. Zool. Suppl., 26: 1-199.
- Koumoundouros, G., P. Divanach and M. Kentouri. 1999. Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions. Mar. Biol., 135: 561-572.
- Lee, J.Y., J.M. Yoon, J.H. Lee, J.K. Shin and H.Y. Park. 1992. Breeding and reproductive studies on Korean native loach. III. Early embryonic development. Korean J. Animal Reprod., 16: 63-77.
- Lee, W.O., K.H. Kim, D.H. Kim, Y.C. Cho and E.O. Kim. 2004. Study of morphological characteristics and early life history of long snout bullhead, *Leiocassis longirostris* of introduced fish from China. Korean J. Ichthyol., 16: 42-50.
- Li, Z.L. and T.M. Yan. 2009. Morphological development of *Triplophysa bleekeri* (Sauvage & Dabry de Thiersant, 1874) embryo and larvae. Acta. Hydrobiol. Sin., 33: 636-642.
- Nel, J.L., D.J. Roux, G. Maree, C.J. Kleynhans, J. Moolman, B. Reyers, M. Rouget and R.M. Cowling. 2007. Rivers in peril inside and outside protected areas: a systematic approach to conservation assessment of river ecosystems. Divers. Distrib., 13: 341-352.
- Nelson, J.S., T.C. Grande and M.V.H. Wilson. 2016. Fishes of the World (Fifth edition). John Wiley & Sons, Hoboken, U.S.A., p. 192.
- Okiyama, M. 1989. An atlas of the early stage fishes in Japan. Tokai Univ. Press., Tokyo, Japan, 25pp.
- Park, I.S. 2020. Artificial induction of spawning by human chorionic gonadotropin and carp pituitary extract in marine medaka, *Oryzias dancena*. Korean J. Environ. Biol., 38: 323-331.
- Park, I.S., H.B. Kim, H.J. Choi, Y.D. Lee and H.W. Kang. 1994. Artificial induction of spawning by human chorionic gonadotropin (HCG) or carp pituitary extract (CPE) in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Aquac., 7: 89-96.
- Park, J.M., D.J. Yoo and K.H. Han. 2021. Early life history characteristics of an induced hybrid between *Acheilognathus majusculus* and *Acheilognathus yamatsutae*. Korean J. Fish. Aquat. Sci., 54: 170-179.
- Park, J.M., H.B. Jeon, H.I. Jo, S.J. Cho, H.Y. Suk and K.H. Han. 2018. Early life history of *Tanakia latimarginata*. Korean J. Ichthyol., 30: 75-83.
- Park, J.M., S.J. Cho and K.H. Han. 2020. Early life history of *Lefua costata* (Cypriniformes: Balitoridae) from Korea. Dev. Reprod., 24: 307-316.
- Park, J.Y. and I.S. Kim. 2003. Skin and its gland cells a nemacheiline loach, *Orthrias nudus* (Pisces: Balitoridae) in Korea. Korean J. Ichthyol., 15: 19-25.
- Park, Y.J., H.P. Jeong and J.S. Kim. 2019. Nutritional components of alaska pollock *Theragra chalcogramma* roe of various grades. Korean J. Fish. Aquat. Sci., 52: 105-113.
- Pauly, D. and R.S. Pullin. 1988. Hatching time in spherical, pelagic, marine fish eggs in response to temperature and egg size. Environ. Biol. Fishes, 22: 261-271.
- Smialek, N., J. Pander and J. Geist. 2021. Environmental threats and conservation implications for Atlantic salmon and brown trout during their critical freshwater phases of spawning, egg development and juvenile emergence. Fish. Manag. Ecol., 28: 437-467.
- Song, H.B. and S.S. Choi. 2000. Reproductive ecology and early life history of paradise fish, *Macropodus chinensis* (Pisces: Belontiidae) in Aquarium. Korean J. Limnol., 33: 282-294.
- Souza-Shibatta, L., D.G. Ferreira, L.D. Assumpção, O.A. Shibatta, S.H. Sofia, S.F.R. Pini, P.S.D. Silva, S. Makrakis and M.C. Makrakis. 2022. Genetic diversity of the Surubim-Do-Iguaçu, a giant catfish species threatened with extinction: recommendations for species conservation. Diversity, 14: 16.
- Wang, X., X. Wang, L. Kou, J. Shi, Z. Xiao, H. Wei, Y. Liu, J. Li and X. Luo. 2018. Oxygen consumption rate and rhythm and asphyxial point in fish *Barbatula barbatula nuda*. Fish. Sci. (Dalian), 37: 309-315.
- Welcomme, R.L. 1985. River Fisheries. FAO tech, 262. Retrieved from <https://www.fao.org/3/t0537e/T0537E00.htm#Toc>
- Yang, Y., H. Chen and Y. Chen. 2019. The complete mitochondrial genome of *Barbatula nuda* and *B. toni* (Teleostei: Nemacheilidae). Mitochondrial DNA B, 4: 2585-2587.
- Zhao, X., S. Hu, P. Xie, M. Ao, L. Cai, J. Niu and X. Ma. 2015. The complete mitochondrial genome of *Barbatula nuda* (Cypriniformes: Nemacheilidae). Mitochondrial DNA, 26: 692-693.