

미호종개 *Iksookimia choii* (Cobitidae)의 난 발생 및 자어 형태 발달

송하윤 · 김우중 · 이완옥¹ · 방인철*

(순천향대학교 해양생명공학과, ¹국립수산과학원 중부내수면연구소)

Morphological Development of Egg and Larvae of *Iksookimia choii* (Cobitidae). Song, Ha-Yoon, Woo-Joong Kim, Wan-Ok Lee¹ and In-Chul Bang* (Department of Marine Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea; ¹Central Inland Fisheries Research Institute, NFRDI, Gapyeong 477-815, Korea)

The egg development and early life history of Korean endangered natural monument fish, *Iksookimia choii*, were investigated in 2006. The eggs from the females were obtained by injecting 10 IU g⁻¹ of human chorionic gonadotropin and inseminated by wet method in the laboratory. The fertilized eggs were 1.1~1.3 mm in diameter and had no oil globules. Hatching of the embryo began about 24 hrs after fertilization under water temperature of 25°C. The newly-hatched larvae were 2.5~2.7 mm in total length (TL), and their mouth and anus were not yet opened. Six days after hatching, the postlarvae were 4.7~5.4 mm TL, and tip of the caudal notochord was flexed 45° upward. The juveniles stage was reached when all fin-rays were formed at 35 days after hatching, and their total length were 20~22 mm.

Key words : endangered fish, *Iksookimia choii*, egg development, early life history

서 론

미꾸리과 (Cobitidae) 어류는 유럽과 아시아 담수역에 널리 분포하는 저서성 어류로 전 세계에 16속 120여종이 알려져 있다(Nalbant, 2002). 국내에 서식하는 미꾸리과 어류는 6속 16종이며 이 중 *Iksookimia*속 어류는 6종이 알려져 있으며, 대부분이 지리적으로 격리되어 분포하고 있다(김과 박, 2002). 어류의 초기 생활사에 대한 연구는 종의 특징을 구명하는 것은 물론 유사종과의 분류학적인 문제의 해결과 종간 유연관계를 연구하는데 중요한 기초 자료가 된다. 이에 따라 우리나라에 서식하는 미꾸리과 어류를 대상으로 생태 및 분류학적 연구 등이 활발히 진행되어 왔으며, 미꾸리과 어류의 난 발생 및 초기

생활사에 대한 연구로는 미꾸라지(Kim et al., 1987), 수미꾸리(Kim and Lee, 1995) 등이 있다. 한편 *Iksookimia*속 어류 또한 생태 및 분류학적 연구가 활발히 진행되어 왔으나 이들 어종에 대한 난 발생 및 초기생활사 연구는 미비한 실정이다.

미호종개 *Iksookimia choii*는 소형 1차 담수어로 수심이 얕고 유속이 비교적 완만한 모래밭에서 서식하며, 미호천의 인근 수계 및 금강 일부지역에 한정적으로 서식하는 한국 고유종이다. 본 종은 *Cobitis choii*로 최초로 기재되었으며(Kim and Son, 1984), Nalbant (1993)에 의해 *Iksookimia*속으로 다시 분류되었다. 1993년부터 본 종의 대략적인 분포지역이 밝혀졌으나 서식 지역이 매우 좁은 것으로 알려져 왔다. 이에 따라 법적으로 본 종의 보호를 위해 환경부에서 멸종위기 및 보호 대상으로

* Corresponding author: Tel: 041) 530-1286, Fax: 041) 530-1638, E-mail: incbang@sch.ac.kr

지정하여 보호하였음에도 불구하고 지속적인 서식지의 변화와 함께 그 수는 점차 감소하고 있다. 더욱이 본 종이 최초로 발견된 미호천에서는 더 이상 서식이 확인되지 않고 있어(홍, 2004), 환경부에서는 2005년 2월 멸종위기 I급 야생 동식물로 지정하였고, 문화재청에서는 2005년 3월 17일 자로 천연기념물 제454호로 지정하여 법적 보호 장치는 마련되었지만, 실질적인 본종의 복원을 위한 생태 및 생활사 등 기초 생물학적 연구는 전혀 이루어지지 않았다.

따라서 본 연구에서는 멸종위기에 처한 미호종개 원종의 보존과 관리, 인공증식기술의 개발, 생태계 복원을 위한 기초연구로서 인공수정에 의한 난 발생과정 및 자치어 발달에 대하여 실험하고 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

1. 실험어의 확보

본 실험은 미호종개의 복원을 위해 2006년 8월 7일 문화재청의 승인을 얻어 충청북도 진천군 백곡면 사송리 일대의 백곡천에서 족대(망목 4×4 mm)로 채집된 암컷 3개체(전장 8.9±0.8 cm, 체중 3.5±0.5 g), 수컷 3개체(전장 7.0±0.8 cm, 체중 1.4±0.5 g)를 실험실로 운반하

여 수온 25°C로 사육 관리하였다.

2. 산란유도 및 관리

성숙한 개체들은 HCG (Human chorionic gonadotropin)호르몬을 10 IU g⁻¹의 농도(김 등, 1992)로 복강 주사한 뒤, 12시간 경과 후 복부 압박법으로 채란하여 습식법으로 인공 수정하였고 사육 수온은 25±1°C로 유지하여 관리하였다. 부화 자어는 난황흡수가 거의 완료되는 부화 후 4일째부터 윤충류(rotifer)를 공급하였고, 부화 8일째부터는 알테미아(*Artemia*) 부화 유생을, 이후 성장에 따라 순차적으로 배합사료를 공급하였다. 사육 용수는 부화 후 20일까지 매일 오전, 오후에 1/2씩 환수하였다.

3. 난발생 및 자치어 관찰

인공수정을 통해 얻은 수정란 중 일부를 직경 7 cm 유리 패트리디쉬에 분산 수용하여 해부현미경(SZX-ILLB 100, Olympus Co., Japan)의 10~50배율 하에서 관찰하였으며, 발육단계에 따른 자치어의 형태발달과정을 측정하기 위하여 부화 직후부터 부화 후 180일까지 마취제(MS-222, Tricaine methanesulfonate; Sindel Co., Canada)를 이용하여 마취한 후 1일 10개체씩 전장과 체중을 측정하였다. 디지털 카메라를 이용하여 발달 단계별로 사

Table 1. Time required for embryonic stages of *Iksookimia choii* at 25°C.

Stage	Time		Fig. 1	Characteristics
	Hr	Min		
Zygote period				
Fertilization	00	00	A	Sperm and egg are fertilized
Swelling	00	5	B	Fertilization egg is swelling
1-cell	00	40	C	Blastodisc
Cleavage period				
2-cell	00	50	D	2 blastodisc is cleavage
4-cell	01	00	E	2-4 array of blastomeres
16-cell	01	30	F	4-4 array of blastomeres
32-cell	01	30	G	4 regular tiers of blastomeres
64-cell	02	05	H	8 regular tiers of blastomeres
Morula	02	30	I	Cleavage plans irregular; flattening produces an elliptical shape
Blastula	04	50	J	Elliptical shape; flat border between blastodisc and yolk
Postgastrula	07	50	K	
Segmentation period				
4~6 somites	14	25	L	4~6 somites furrow; polster prominent
18~23 somites	21	20	M	18~23 somites furrow
34~42 somites			N, O	34~42 somites furrow
Hatching period hatching	24	00	P	

진 촬영을 하였다.

결 과

1. 난발생 과정

미호종개의 난 발생 과정은 수정, 난할, 포배, 낭배, 체절 및 기관 형성과 부화의 6단계로 구분하였으며, 발생기간 및 세부 발생단계는 Table 1과 같다. 미호종개의 수정란의 크기는 직경이 1.1~1.3 mm (평균 1.2 mm, n=20)로서 유구가 존재하지 않았으며, 구형의 투명한 황색을 나타내는 침성 집착란이었다.

인공 수정된 미호종개의 수정란은 수분을 흡수하기 시작하여 5분 이내로 난막과 난황이 분리되기 시작하였고 (Fig. 1, A), 수정 후 40분이 경과하면 동물극에 배반(blastodisc)이 형성되었다 (Fig. 1, B). 50분 경과 후 배반의 중앙이 수직 이등분되었으며, 2세포기로 이행하였고 (Fig. 1, C), 1시간 경과 후 4세포기로 도달하였다 (Fig. 1, D). 수정

후 1시간 20분 후에는 8세포기로 이행하였고 (Fig. 1, E), 1시간 35분 후에는 16세포기로 도달하였다 (Fig. 1, F). 수정 후 1시간 50분에는 32세포기로 이행하였으며 (Fig. 1, G), 2시간 5분 후에는 64세포기로 도달하였고 (Fig. 1, H), 이후 계속 발생이 진행되어 3시간 50분 후에는 상실기에 접어들어 할구가 작아지고 조밀해졌으며, 이후 난할의 발생속도가 느려졌다 (Fig. 1, I). 수정 후 4시간 50분에 포배기(blastula)에 달하였으며 (Fig. 1, J), 수정 6시간 30분 후에 배반이 난황의 2/3를 덮어 내려와 낭배기(gastrula)에 도달하였다 (Fig. 1, K). 7시간 50분 후에는 배반이 난황의 대부분을 덮으며, 난황 위에 유백색의 배체(embryo)가 형성되어 얇게 나타났고, 14시간 25분 전후에 근절이 3~4개가 생기고 안포가 형성되었다 (Fig. 1, L). 18시간 18분 전후에는 안포 뒤에 이포가 생기면 근절도 18~23개로 증가하였고, 난황주머니는 원추형으로 연장, 변형되기 시작하였다 (Fig. 1, M). 20시간 10분 후에는 배체가 간헐적으로 운동을 시작하였으며, 근절은 26~32개로 증가되었고 꼬리 부분이 난황으로부터 떨어져 연장되기 시

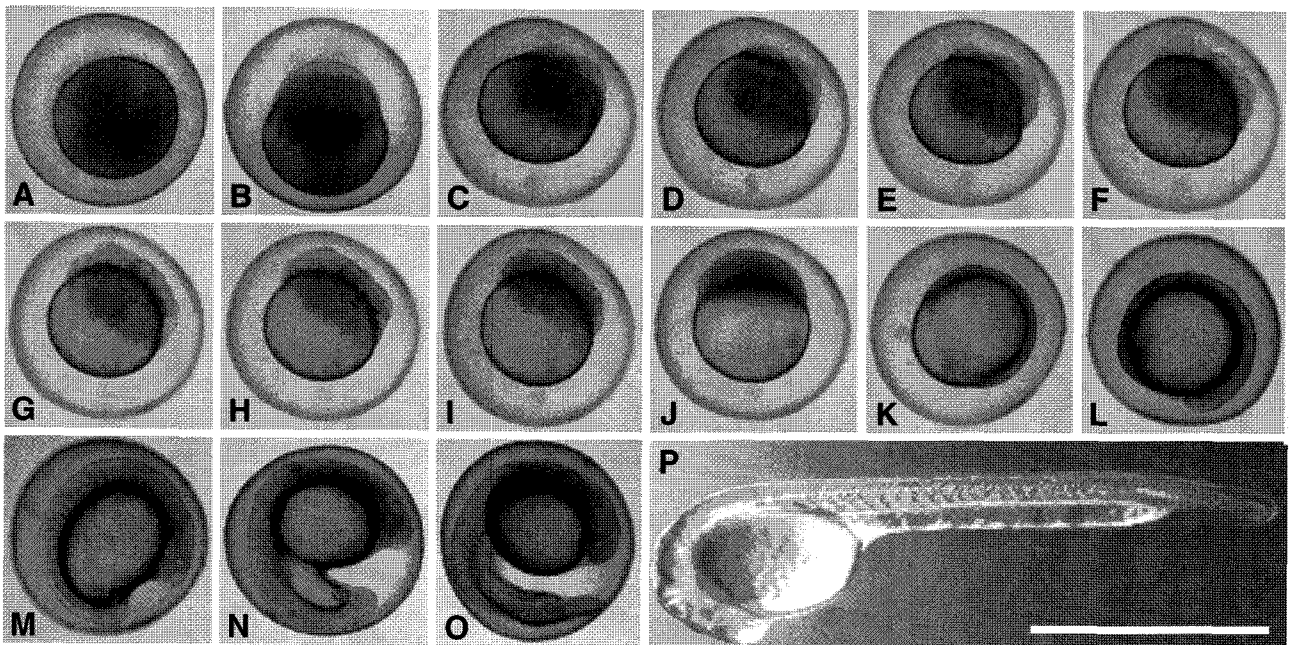


Fig. 1. Egg development of *Iksookimia choii*. Time required each for developmental stage is shown in Table 1. A, Formation of perivitelline membrane, 5 mins after fertilization; B, Formation of blastodisc, 40 mins after fertilization; C, 2 cells stage, 50 mins after fertilization; D, 4 cell stage, 1 hr after fertilization; E, 8 cells stage, 1 hr 20 mins after fertilization; F, 16 cells stage, 1 hr 35 mins after fertilization; G, 32 cells stage, 1 hr 50 mins after fertilization; H, 64 cells stage, 2 hrs 5 mins after fertilization; I, Morula stage, 3 hrs 50 mins after fertilization; J, Blastula stage, 4 hrs 50 mins after fertilization; K, Gastrulation, 6 hrs 30 mins after fertilization; L, formation of eye lens, 3~4 mytomes stage, 14 hrs 25 mins after fertilization; M, 18~23 mytomes stage, 18 hrs 18 mins after fertilization; N, 26~32 mytomes stage, 20 hrs 10 mins after fertilization; O, formation of heart, 23 hrs 18 mins after fertilization; P, The hatched larva, 24 hrs after fertilization, 2.8 mm in total length. The bar indicates 1 mm.

작하였다(Fig. 1, N). 23시간 18분 전후로 난황 앞쪽에 심장이 형성되어 서서히 고동하는 것을 관찰할 수 있었으며 배체는 난막 내를 활발하게 회전 운동하였고, 난황 등쪽에 가슴지느러미의 원기가 나타나며 꼬리부분이 난황으로부터 분리되었다(Fig. 1, O). 수정 후 24시간을 전후하여 꼬리부분부터 난막을 뚫고 부화되기 시작하였다(Fig. 1, P).

2. 자어 및 치어의 형태 발달

1) 전기자어

부화 후 1일째의 자어는 전장이 3.3~4.1mm (평균 3.6 mm, n=10)로 항문과 입은 아직 열려있지 않았고, 흑색 소포가 출현하지 않고 체색은 무색투명하였다. 등지느러미, 뒷지느러미 및 꼬리지느러미는 막상으로 연결되어 있

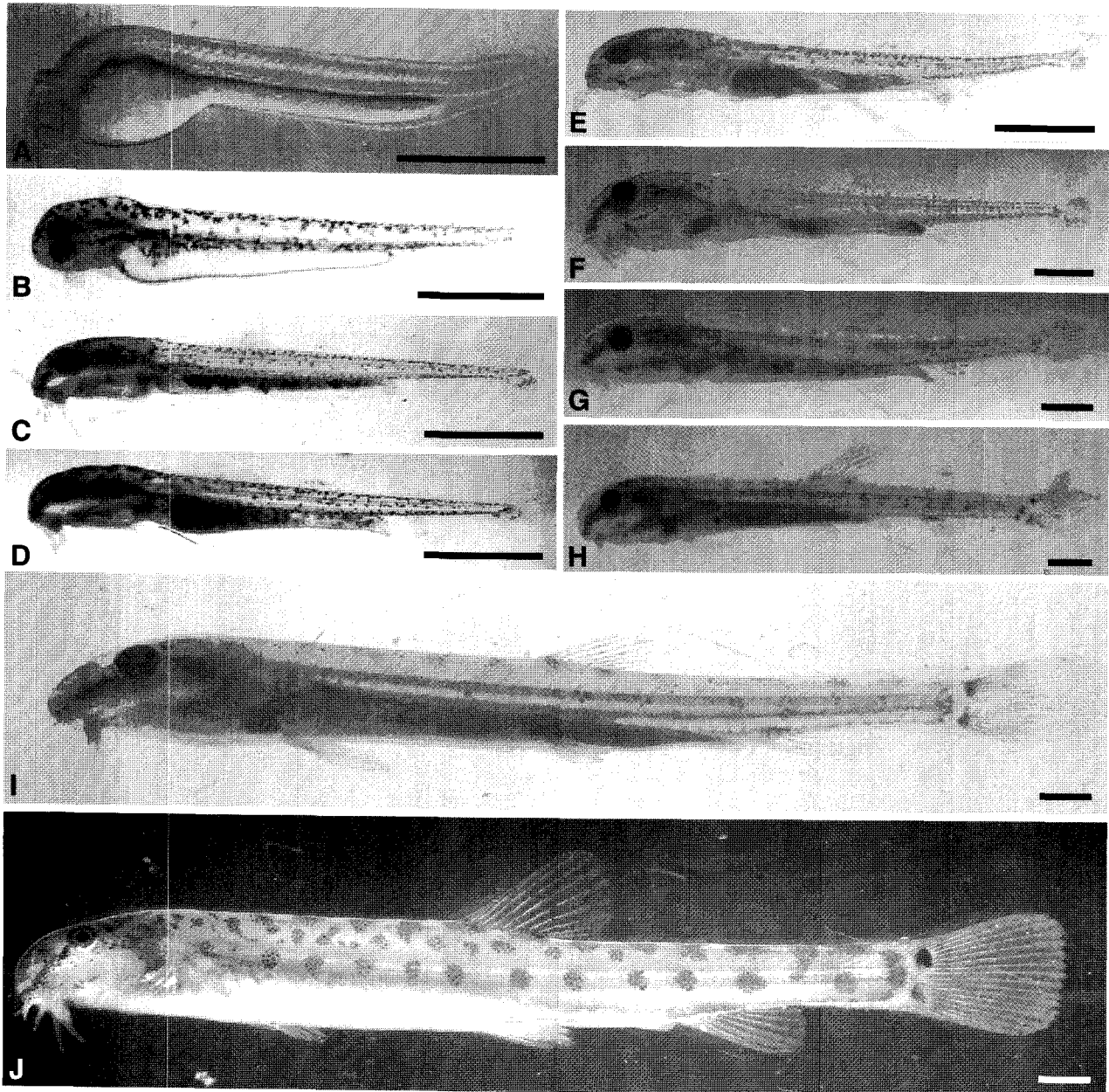


Fig. 2. Larval development of *Iksookimia choii*. A, 1 day after hatching, 3.6 mm in total length; B, 3 days after hatching, 4.2 mm; C, 4 days after hatching, 4.6 mm; D, 5 days after hatching, 4.75 mm; E, 6 days after hatching, 5.1 mm; F, 12 days after hatching, 8.2 mm; G, 14 days after hatching, 9 mm; H, 27day after hatching, 12 mm; I, 30 days after hatching, 20 mm; J, 35 days after hatching, 21.8 mm. The bar indicates 1 mm.

으며, 활발한 유영력을 갖지는 못하지만 부화 후 2~5시간 후에는 꼬리를 이용하여 올챙이처럼 유영하였다(Fig. 2, A). 부화 3일째의 자어는 전장 3.9~4.3 mm (평균 4.2 mm, n=10)로 눈에는 색소포가 연하게 착색이 되기 시작하였으며, 별모양의 흑색소포는 머리 윗부분과 부레, 체측 근절상에 다수 출현하여 막 지느러미 아래로 검은 띠를 이루었다(Fig. 2, B). 부화 4일째의 자어는 전장 4.2~5.2 mm (평균 4.6 mm, n=10)로 두부의 발달과 눈에 색소포가 갈게 착색이 되었으며, 난황 흡수가 완료되어 입과 항문이 완전히 열리게 되어 유히를 활발하게 섭식하였다. 이 시기에는 미꾸리과 어류의 특징인 3쌍의 외새가 출현하며, 항문은 전장의 70% 지점으로 난황의 바로 뒤쪽에 위치하였다. 꼬리지느러미의 원기가 출현하며 막 지느러미로 구성된 부채모양의 가슴지느러미가 머리와 비슷한 크기로 커지고, 주둥이 앞쪽과 아래쪽에 1~2쌍의 입수염이 생겼다(Fig. 2, C). 부화 5일째의 자어는 전장 4.6~5 mm (평균 4.75 mm, n=10)로 몸이 가늘어졌으며, 등지느러미의 원기가 막지느러미 내에서 형성되기 시작하였다. 가슴지느러미가 최대로 커져서 두부의 길이와 비슷하거나 커지고, 외새가 5쌍으로 증가하며 흑색소포는 원형과 별 모양으로 두부와 착색을 따라서 체측에 나타나 증가하였다(Fig. 2, D).

2) 후기자어

부화 후 6일째의 자어는 전장 4.7~5.4 mm (평균 5.1 mm, n=10)로 착색 발달이 굵어 후기 자어로 이행하였다. 원형의 흑색소포는 머리와 체측면에 많아졌고 띠를 이루게 되며 외새가 최대로 확장이 되어 아가미 뚜껑 밖으로 돌출되기도 한다. 개체에 따라 2~3쌍의 입수염이 출현하였다(Fig. 2, E). 부화 후 12일째의 자어는 전장 8~8.5 mm (평균 8.2 mm, n=10)로 외새가 아가미 뚜껑으로 완전히 덮이고, 꼬리지느러미가 발달하여 7~8개의 줄기가 발생하였으며, 입수염이 3쌍으로 증가하였다(Fig. 2, F). 부화 15일째의 자어는 전장 8.3~9.2 mm (평균 9 mm, n=10)로 지느러미의 발달이 빨라지기 시작하였다.

등지느러미의 줄기가 3~4개 형성되었고, 꼬리지느러미의 줄기는 14개 형성되었다. 항문 뒤쪽으로 몸 3/4지점에 뒷지느러미의 원기가 막 지느러미에서 발달하기 시작하였다(Fig. 2, G). 부화 27일째의 자어는 전장 10~13 mm (평균 12 mm, n=10)로 각 지느러미의 발달이 가장 활발해져서 모든 지느러미가 발달하기 시작한다. 등지느러미의 기초수가 6개 나타났으며, 막 지느러미가 거의 소실되어 배지느러미가 분기하였다(Fig. 2, H). 부화 후 30일째의 자어는 전장 18~22 mm (평균 20 mm, n=10)로 막 지느러미가 완전히 소실되어 각 지느러미가 분화되었다(Fig. 2, I).

3) 치어기

부화 35일째는 치어기로 전장이 20~22 mm (평균 21.8 mm, n=10)로 모든 지느러미의 기능이 완벽해지며, 각 지느러미의 기초수가 정수에 도달하여 성어와 유사한 체색과 체형을 갖춘 치어로 이행하였다(Fig. 2, J).

고찰

미호종개의 인위적인 산란 유도를 위해 HCG 호르몬을 이용하였을 경우 미호종개의 배란율과 반응속도는 미꾸리, *Misgurnus anguillicaudatus* (Lin et al., 1987)와 미꾸라지, *M. mizolepis* (김 등, 1992)의 연구와 유사한 결과를 보이며 암컷 10 IU g⁻¹의 농도로 효과적으로 산란이 유도되었다. 미호종개 성숙란의 난경은 평균 0.9±0.02 mm로 나타나 기름종개속(genus *Cobitis*)의 줄종개, *C. tetralineata*의 0.98±0.01 mm (김 등, 2006)와 비슷하며, 참종개, *I. koreensis*의 1.10±0.08 mm (김, 1978), 미꾸리, *M. anguillicaudatus*의 1.1 mm (Uchida, 1939), 왕종개, *I. longicorpa*의 1.32±0.12 mm (김과 고, 2005) 보다는 작았다. 미호종개의 수정란은 구형의 투명한 황색을 띤 침성 점착난으로 분리침성난인 수수미꾸리, *Niwaella multifasciata* (Kim and Lee, 1995), 분리 침성 점착란인 미꾸

Table 2. Comparisons of egg developmental characteristics in cobitid fishes.

Species	Egg size mean (mm)	Hatching (mm)	Days until hatching	References
<i>Iksookimia choii</i>	1.1~1.3	3.5~4.0	1 (23~25°C)	Present study
<i>Cobitis takatsuensis</i>	1.5	5.7	4~5 (18°C)	Shimizu et al., 1998
<i>Niwaella multifasciata</i>	1.5~1.9	5.1~5.9	6 (10~14°C)	Kim and Lee, 1995
<i>Cobitis biwae</i>	1.1~1.2	4.6	2~3 (23~26°C)	Okada and Seishi, 1937
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	0.7~0.9	3.4~4.0	1~3 (20~28°C)	Uchida, 1939
<i>Misgurnus mizolepis</i>	1.04~1.18	2.6~2.8	1 (24~27°C)	Kim et al., 1987

라지(Kim *et al.*, 1987)와는 차이를 보였다. 수정란의 크기는 평균 1.2 mm로 일본산 미꾸리과 어류인 *C. biwae* 1.1~1.2 mm(Okada and Seishi, 1937)와 비슷한 크기였으며, 수수미꾸리, *N. multifasciata*의 1.5~1.9 mm(Kim and Lee, 1995)보다는 작았다. 수정 후 부화까지 소요되는 시간은 수온 25°C에서 약 24시간이 소요되었으며, 이는 미꾸리(Okada, 1959), 미꾸라지(Kim *et al.*, 1987)와 거의 비슷하였고, 미꾸리과 어류 *C. sinensis*의 수온 23~26°C에서 48시간(Okada, 1959)에 비하면 수온의 차이는 있었지만 비교적 빠른 편이다.

미호종개의 부화 직후 자어의 평균전장이 2.8 mm로 미꾸리(Uchida, 1939)의 4.0 mm, 수수미꾸리 5.4 mm(Kim and Lee, 1995)에 비하여 작았으며, 미꾸라지(Kim *et al.*, 1987) 2.72 mm와 비슷한 크기였다(Table 2). 모든 지느러미가 형성되고 각 지느러미 줄기수가 정수에 달하는 치어기는 부화 후 35일째인 평균전장이 21.8 mm로 미꾸라지(Kim *et al.*, 1987)의 24일째 15.4~16.4 mm, 수수미꾸리의 85일째 17.3~19.9 mm(Kim and Lee, 1995)보다 성장이 빠른 편이었지만, 치어기로의 이행 시간은 미꾸라지보다는 느리고 수수미꾸리보다는 빨랐다. 이러한 차이는 대상 종의 특성 및 사육 수온에 따른 차이에 기인한 것으로 사료된다.

적 요

멸종위기 야생동식물이면서 천연기념물인 담수어류 미호종개의 난발생 과정 및 초기 생활사를 연구하였다. 성숙란은 인간 성선 자극호르몬(HCG) 10 IU g⁻¹을 주사하여 얻었으며, 습식법으로 수정하였다. 수정란은 원형으로 투명한 황색을 띤 침실 점착란이었으며, 수정란의 직경은 1.1~1.3 mm로 유구는 존재하지 않았다. 부화는 수온 평균 25°에서 수정 후 24시간을 전후하여 시작하였다. 부화 직후 자어는 전장이 2.5~2.7 mm(평균 2.8 mm)로 입과 항문은 닫혀있었다. 부화 후 6일째 자어는 전장이 4.7~5.4 mm(평균 5.1 mm)로 꼬리 끝부분 착색이 45°로 완전하게 굽어 후기 자어로 이행하였다. 부화 후 35일째 개체의 전장은 20~22 mm(평균 21.8 mm)로 모든 지느러미가시와 줄기가 정수에 달하여 치어 단계로 이행하였다.

사 사

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업의 연구

비 지원에 의해 수행되었으며, 성숙한 미호종개 어미를 채집하는데 도움을 주신 한국민물고기보존협회 이순재 사무국장께 감사드립니다.

인 용 문 헌

- 김동수, 김종현, 박인석. 1992. 태반성 성선 자극 호르몬 처리에 의한 미꾸라지의 산란유도 및 연중 다산란 유도를 위한 연구. 한국양식학회지 5(2): 109-115.
- 김익수. 1978. 전주천 참종개 *Cobitis koreensis*의 생태. 한국생태학회지 2: 9-14.
- 김익수, 고명훈. 2005. 섬진강에 서식하는 왕종개 *Iksookimia longicorpa* (Cobitidae)의 생태. 한국어류학회지 17(2): 112-122.
- 김익수, 고명훈, 박종영. 2006. 줄종개 *Cobitis tetralineata* (Pisces; Cobitidae)의 개체군 생태. 한국어류학회지 29(3): 277-286.
- 김익수, 박종영. 2002. 한국의 민물고기. 교학사, 서울.
- 홍영표. 2004. 멸종위기종 미호종개의 현황과 보존. 2004년 한국어류학회 추계학술대회 p. 59-72.
- Kim, I.-S. and E.-H. Lee. 1995. Studies on early embryonic development of *Niwaella multifasciata* (Pisces; Cobitidae). *Korean J. of Limnol.* 28(4): 455-462. (in Korean)
- Kim, I.-S. and Y.-M. Son. 1984. *Cobitis choii*, a new cobitid fish from Korea. *Korean J. of Zoology* 27(1): 49-55. (in Korean)
- 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(1): 16-23. (in Korean)
- Lin, H.R., C. Peng, L.Z. Lu, X.J. Zhon, G. Van Der Kraak and I. Baker. 1987. Induced ovulation in the loach (*Paramisgurnus dabryanus*) using pimozide and [D-Ala, Pro-N-ethylamide]-LHRH. *Aquaculture* 46: 333-340.
- Nalbant, T.T. 1993. Some problems in the systematics of genus *Cobitis* and its relatives (Pisces: Ostariophysi, Cobitidae). *Rev. Roum. Biol. Biol. Anim.* 38: 101-110.
- Nalbant, T.T. 2002. The tribe Cobitini: a monophyletic assemblage. II International Conference: Loaches of the genus *Cobitis* and related genera. P. 51. Programme & Book of abstracts. Sep. 9~13, 2002. Olsztyń. Poland.
- 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 takatsuensis*. *Ichthyol. Res.* **45**(4): 377-384

Uchida, K. 1939. The fishes of Tyosen. Part I. Nemato-

gnathi, Eventognathi. *Bull. Fish Exp. Sta. Gov. Gener. Tyosen* **6**: 428-458. (in Japanese).

(Manuscript received 26 February 2008,
Revision accepted 15 March 2008)