

## 밀어 (*Rhinogobius brunneus*)의 산란행동 및 초기생활사

문 윤 기 · 나 영 언<sup>1</sup> · 안 광 국\*

(충남대학교 생명과학부, <sup>1</sup>충남대학교 생명과학원)

Spawning Behavior and Early Life History of Korea Freshwater Goby (*Rhinogobius brunneus*). Moon, Woon-Ki, Young-Eun Na<sup>1</sup> and Kwang-Guk An\* (School of Bioscience and Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea; <sup>1</sup>Research Institutes of Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)

The objective of the study was to elucidate early life history of *Rhinogobius brunneus*, based on laboratory observations and field works, along with its courtship and spawning behaviors. The male and female fish matured were sampled for the lab experiments from Gap-Stream, which is one of the tributaries of Geum-River, Korea. The spawning behaviors and courtship of matured adults had a typical pattern; matured males of *Rhinogobius brunneus* built up spawning nests and had their own territory before the spawning, and the behavior then triggered the egg spawning of female with active courtship. The females attached elliptic egg mass as a single layer, on the stones below the spawning nest. After the spawning, the egg mass was guarded by males only until the hatching. The size of egg fertilized, measured by microscope was about  $1.5 \pm 0.1$  mm in length and  $0.7 \pm 0.1$  mm in the egg's width. According to the lab experiments conducted under four temperature regime, the lapsed time for the hatching was shortened as temperatures increased in the treatments. On the contrary to the hatching time, the average length of newly hatched larvae showed a reverse relation with water temperature. The larvae, considered a final stage of the early life history was about 3.6 mm in total length for water temperature of 18°C, whereas they were between 3.1 mm and 3.2 mm for over 25°C. This indicates that higher water temperature may decrease the growth rate in the early life history. These results may provide valuable information for the population conservation and ecosystem protection under accelerated water pollution and habitat degradations in Korea.

**Key words :** early life history, *Rhinogobius brunneus*, spawning behavior, territory, fish ecology

### 서 론

밀어 (*Rhinogobius brunneus*)는 농어목(Perciformes), 망둑어과(Gobiidae) 밀망둑속(*Rhinogobius*)에 속하며, 우리나라의 전 담수역과 중국, 일본, 연해주 등지에도 분포

하는 전장 60~80 mm의 소형 담수어로 체측 반분 변이가 다양하다(정, 1977; 김과 박, 2002). 본종의 산란기는 5~8월로 알려져 있고, 주로 자갈 밑에 산란둥지를 만들고 산란하며, 수컷이 수정란을 지키고 돌보는 부성애가 강한 어류이다(최와 이, 1994).

본 종에 대한 연구로는 국내보다는 주로 일본에서 활

\* Corresponding author: Tel: 042) 821-6408, Fax: 042) 822-9690, E-mail: kgan@cnu.ac.kr

발히 이루어 졌으며, 변이에 대한 연구로는 Mizuno (1976), Mizuoka (1967, 1971, 1974), Nishijima (1968)는 반문 및 체색 등의 형태 변이에 따라 일본산 밀어에 대하여 8가지 유형으로 구분하였으며, Sakai and Masuda (1989)은 유전적 분화에 대하여 보고하였다. Sakai and Yasuda (1978)에 의해 이중 두가지 유형인 Large-dark type B와 Cross-band type의 난 발생에 대한 비교 연구가 수행되었다. 또한, Hidaka and Takahashi (1987)는 Orangy type에서의 온도와 광주기의 영향에 따른 생식소 성숙을, Katoh (1996)는 계절에 따른 생식소의 변이에 대하여 각각 보고 하였으며, 대만에서도 본 종의 변이에 대하여 Tzeng (1986)에 의해 대만산 밀어의 3가지 유형의 구분이 제안되었다.

본 종에 대하여 국내에서는 최근까지 서식지역에 따른 체색 변이가 심한 종으로만 알려져 왔으나(정, 1977)와 Jeon and Aonuma (1995)의 문헌에 따르면, 국내에서의 밀망독속 어류의 검색방법과 분포지역에 대한 연구를 통하여 4가지 분류유형을 제안하였고, 김 (1995)은 지역적으로 차이를 보이는 개체들에 대한 유전적 연구를 통하여 밀망독속 어류의 분류학적 위치를 제안하였으나, 현재 까지도 확실한 분류학적 위치가 확립되어있지 못하다. 또한 한 등(1998)에 의해 본 종에 대한 기본적인 생활사가 밝혀져 있지만 발생학적인 자료가 아직도 미비한 상태에 있다.

따라서, 본 연구에서는 밀어 (*Rhinogobius brunneus*)의 생식행동을 밝히고, 수온의 변화에 따른 명확한 발생·생태학적인 자료를 제시하여 종 자원의 보존과 증식에 대한 기반구축을 마련하고자 한다.

## 실 험 방 법

본 실험에 사용된 밀어는 대전시 갑천 상류인 흑석동 일대에서 2회에 걸쳐 족대(망목: 5×5 mm)를 사용하여 채집하였으며, 채집된 개체들은 실험실로 운반하여 저면 여과장치가 설치된 저장조(유리 수조, 60×30×30 cm, 수온 22±1°C)에 암·수를 나누어 2~3주 동안 순치 사육하였다. 순치기간 동안과 실험기간 동안 수온의 유지는 자동온도조절기와 전기히터를 사용하였으며, 사육수는 실험실에 설치된 여과장치를 통과시켜 잔류염소를 제거한 후 각 수조에 설치된 공급밸브와 배수구를 통하여 하루 약 10L씩 환수시켜 주었다. 광원은 전원자동조절장치에 의해 광조건 15시간, 암조건 9시간으로 설정된 형광등(40 W)에 의해 일정시간 유지하였고, 먹이로 Brine

shrimp (*Artemia naupill*)의 난을 부화시켜 1일 2회 충분히 공급하였다.

구애 및 산란행동을 관찰하기 위해 각각의 저장조로부터 암·수 1:1의 비율로 사육조(유리 수조, 60×30×30 cm, 수온 22±1°C)로 옮겼으며, 모래(직경: 0.5±0.2 cm)와 자갈(직경: 2±1 cm)로 수조바닥을 구성하였고, 산란둥지는 바닥으로부터 약 1.5~2 cm의 높이에 바닥이 편평한 돌(직경: 15±5 cm)을 넣어 주었다. 구애행동과 산란행동은 디지털카메라(Fuji-film, Rine Pix 4900 Zoom), 수동카메라(Nikon, FM2) 및 Video recorder (Samsung, Model MyCam)를 이용하여 관찰·촬영 및 기록을 수행하였다.

밀어의 수정난은 실험실에서 성어들의 자연 교배를 유도하여 확보하였다. 난의 크기는 Ocular micrometer를 사용하여 측정하였으며, 확보된 수정 난들은 부화조(유리 수조, 25×20×10 cm, 22±1°C)로 옮겨 난 발생과정을 관찰하였다. 각 발생 단계와 경과시간의 결정은 관찰된 수정난(n=20)의 90% 이상이 동일한 단계에 도달 되었을 때를 기준으로 하였다. 부화한 자·치어는 사육조(유리 수조, 25×20×10 cm, 22±1°C)에서 사육하였으며, 난 발생 과정과 자·치어의 성장에 따른 형태발달은 해부현미경(Olympus, SZH-10)하에서 관찰과 기록을 수행하였다. 초기 먹이로는 난황이 모두 흡수된 시점부터 Rotifer, *Brachionus plicatilis*를 배양하여 공급하여 주었고, 자어의 길이가 5 mm 이상이 되었을 때부터 Brine shrimp를 부화시켜 1일 2회 Rotifer와 같이 공급하여 주었으며, 서서히 Brine shrimp로 교체하여 공급하였다. 자·치어의 계측은 10 mm까지는 Ocular micrometer를, 10 mm 이상부터는 버니어캘리퍼스를 사용하였다. 난 발생과정의 용어와 단계표기는 Balon (1975)에 의거하였다. 또한, 난 발생에 미치는 수온의 영향을 알아보기 위해 수온 18, 22, 26 및 30°C의 수온에서 실험을 실시하였다. 각각의 수온은 자동온도조절기와 히터를 사용하여 ±1°C로 일정하게 유지시켜 주었다.

## 결 과 및 고 찰

본 연구기간 동안 밀어 (*Rhinogobius brunneus*)는 다른 망독어과 어류들과 유사한 산란행동 및 서식지 점유 특성을 보였다(정, 1977; 김과 박, 2002). 특히, 수컷은 번식을 수행하기 위해 산란기간 동안 일정한 범위의 세력권(territory)을 형성하였으며, 세력권내의 위치한 바위(밀면이 편평한 돌)나, 이매패의 빈 껍질 또는 인공물 등

**Table 1.** Patterns of reproductive behavior in *Rhinogobius brunneus*.

	Male	Female
Premating stage	The formation of territory Selection of some pebbles for nest and cleaning the nest	Swimming freely
Courtship stage	Leading the female to the nest - Dashing to the female and returning to nest (repeated) - Spreading all fins - Shaking the body (Caudal part bent upwards) Near the nest area - Moving forward and shaking the head (in the nest)	Chasing      Entering the nest
Mating stage	Stimulating - Butting and biting Releasing the sperms	Laying the eggs
Postmating stage	Parental caring - Oxygen supplying and cleaning by tail fin and guarding the fertilized egg; Protecting the territory	Leaving the nest Swimming freely

에 수정란을 부착하여 산란 동지로 활용하였다. 번식을 하기 위해 수컷은 자신의 세력권내에 동지를 형성한 후 암컷을 동지로 유도하여 산란 및 방정 (sperm releasing) 을 실시하였고, 동지와 수정란을 지키고 보호하기 위해 적극적인 방어 행동을 보였는데 이런 특성들은 이전에 보고한 연구결과와 일치하였다(정, 1977; 김과 박, 2002).

### 1. 산란행동

본 종에서 나타난 산란행동은 4개의 단계로 관찰되었다(Table 1). 첫째, 수컷은 산란하기 전에 세력권내에 자기영역의 동지를 형성하였고 적극적인 방어 행동을 보였다(Premating stage). 둘째, 그 후 수컷은 성숙한 암컷을 동지로 유도하는 구애행동(Courtship stage)을 보였고, 셋째, 이에 이어 방정, 방란을 보였고(Mating stage), 마지막으로, 알을 보호하는 적극적인 보호행동을 보였다(Postmating stage; Table 1).

#### 1) 세력권 형성단계 (Territorial Forming Stage)

성숙된 수컷은 구애행동을 하기 전 미리 마련된 산란 동지 주위를 청소하였다. 동지 내부에 있는 이물질 및 산란에 방해가 되는 바닥의 모래와 작은 돌은 지느러미와 입을 사용하여 동지 밖으로 제거하였고, 동지의 아랫면에 거꾸로 붙어 주로 시계방향으로 회전하였으며, 지느러미(주로 가슴·뒷지느러미)를 사용하여 산란공간에 수류를 일으키는 동작을 보였다. 일련의 청소과정을 마친 후 수컷은 성숙된 암컷을 인식하기 시작하였으며, 동지 안에서 암컷의 위치를 수시로 확인하였고, 암컷이 시야에서 벗어나게 되면 동지에서 나와 암컷을 찾기도 하였다. 이때, 다

른 종의 개체나 작은 수컷이 접근하면 입을 크게 벌려 위협하며 세력권 밖으로 쫓아내는 행동을 보였다. 그러나 자신과 비슷한 크기의 수컷에 대해서는 서로 마주보며 입을 크게 벌려 위협하고 두부를 공격하였고 싸움에 패배한 수컷은 산란동지를 떠났으며 세력권 경쟁에서 이긴 수컷은 산란장을 획득하여 이용하는 것이 관찰되었다.

#### 2) 구애 단계 (Courtship Stage)

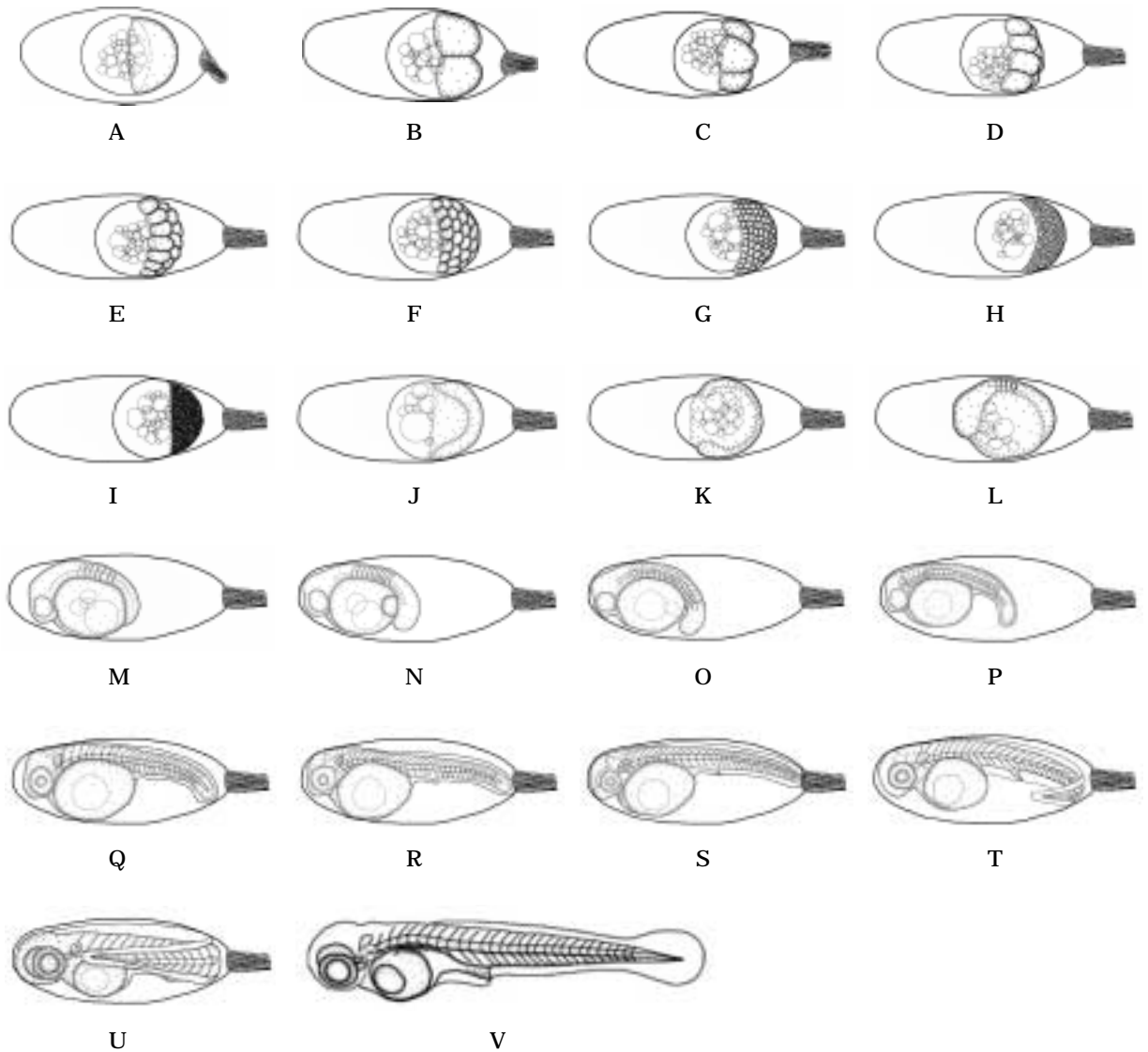
성숙한 암컷의 위치를 확인한 수컷은 서서히 암컷에 접근하였고, 서로 마주보는 위치에 존재하였다. 만약, 수컷이 암컷의 뒤쪽으로부터 접근하는 경우에는 암컷을 지나친 다음 몸을 돌려 서로 마주보는 동작을 취했다. 수컷은 암컷에 더 가까이 접근한 후 갑자기 암컷을 향하여 돌진하였고, 바로 앞에서 180° 몸을 돌려 자신의 꼬리 부위가 암컷의 정면으로 향하였다. 이때 수컷은 모든 지느러미를 활짝 펴고 미부(배지느러미 뒤쪽)가 약 10~15° 정도 위로 향하도록 굽혔고, 좌우로 심하게 흔들며 암컷을 동지 쪽으로 유도하였다. 수컷의 유도에 동지 가까이 암컷이 접근하면, 수컷은 동지 안으로 들어가 암컷을 마주보며 몸을 앞뒤·좌우·상하로 심하게 흔들며 암컷을 동지 안으로 유인하였다. 만약, 암컷이 동지에서 멀어지면, 수컷은 동지내부를 청소하거나, 다시 암컷의 위치를 확인하고 일련의 행동을 반복함으로써 암컷을 동지 안으로 유인하였다.

#### 3) 산란 단계 (Spawning Stage)

성숙한 암컷이 수컷의 유인에 의해 동지 안으로 들어오게 되면 수컷은 암컷의 복부나 몸통을 두부로 건들거나, 주둥이로 물어 산란을 유도하였다. 암컷이 동지의 밑

**Table 2.** The comparisons of average total length, egg diameter and egg forms in the gibel fish.

Species	Average total length as an adult (mm)	Egg diameter (mm)	Egg form
<i>Acanthogobius flavimanus</i>	250	$5.5 \pm 0.95$	Ellipse
<i>Acanthogobius lactipes</i>	70	$(2.5 \pm 0.5) \sim (3.3 \pm 0.5)$	Ellipse
<i>Synechogobius hasta</i>	530	$5.5 \pm 1.1$	Ellipse
<i>Rhinogobius giurinus</i>	70 ~ 90	$2.4 \pm 0.5$	Ellipse
<i>Rhinogobius brunneus</i>	80	$(1.5 \pm 0.1) \sim (0.7 \pm 0.1)$	Ellipse
<i>Tridentiger bifasciatus</i>	80	$(1.40 \pm 0.50) \sim (1.58 \pm 0.66)$	Ellipse
<i>Mugilogobius fontinalis</i>	50	$0.94 \pm 0.44$	Ellipse
<i>Luciogobius guttatus</i>	80	$(0.6 \pm 2.7) \sim (2.8 \pm 0.7)$	Ellipse
<i>Odontamblopus lacepedii</i>	300	$1.3 \pm 0.7$	Ellipse

**Fig. 1.** The egg development of *Rhinogobius brunneus* under the water temperature of  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . The detailed stages of A ~ V are explained in the text.

면에 거꾸로 매달려 방란을 시작했을 때 수컷이 곧 이어 방정을 시작 하였다. 이런 특성은 얼룩동사리(최와 나, 2000)의 경우처럼 수컷이 암컷의 몸을 받쳐주는 행동은 보이지 않았으며, 수컷은 암컷이 방란을 하는 동안 등지 주위를 경계하거나 접근하는 다른 개체들을 쫓아 버리는 행동을 보였다. 일련의 과정을 통해 산란된 수정란들은 등지 아랫면에 한 층으로 조밀하게 붙어 있었으며, 1회에 약 550~820개를 산란하는 것으로 나타났다.

#### 4) 산란 후기 (Post Spawning Stage)

암컷은 산란을 마친 후에 등지를 떠났으며, 수컷은 수정되지 않거나, 발생도중 죽은 알들을 제거하는 동작을 보였다. 한편, 독중개 (*Cottus poecilopus*)의 연구 (Goto, 1982; 조 등, 1993; 변 등, 1995) 및 줌구굴치 (*Micropercops swinhonis*)의 연구(김과 김, 1996)에서 제시된 외부자극이나 먹이의 부족에 따른 난 섭식의 행동은 밀어에서 관찰되지 않았다. 또한, 가슴지느러미를 이용하여 수류를 일으켜 수정란들에게 신선한 물을 공급하였고, 접근하는 개체에 대해서는 적극적으로 방어하는 등 강한 부성애 행동은 부화될 때까지 계속되었다.

## 2. 수정란 및 난 발생

### 1) 수정란

우리나라 밀어의 수정란은 등지 하면에 단층으로 조밀하게 부착된 분리 침성란으로 나타났으며, 난의 형태는 타원형으로서 평균 장경은  $1.5 \pm 0.1$  mm, 단경은  $0.7 \pm 0.1$  mm ( $n = 10$ )로 측정되었다 (Table 1). 이런 수정란 크기는 망둑어 속의 어류 중 *Tridentiger bifasciatus* 및 *Odontoblopus lacepedii*와 유사한 경향을 보였으며 (Table 2), 일본산 밀어인 Large-Dark type B (Sakai and Yasuda, 1978)의 크기 (장경: 1.9 mm, 단경: 0.8 mm)보다는 장경에서 약간 작게 나타났다. 이런 크기는 이전에 한국산 밀어에 대해 보고한 한 등 (1998)의 결과 (수정란의 장경:  $1.56 \pm 0.67$  mm, 단경:  $1.28 \pm 0.62$  mm)와는 뚜렷한 차이를 보였으나 본 연구에서 이런 차이에 원인규명은 밝혀지지 않았다. 한편, 우리나라의 밀어는 동일 망둑어과 어류로서 Dotu and Satoshi (1995)가 연구한 *Acanthogobius flavimanus*와 *Synechogobius hasta* 또한 김 등 (1992)에 의해 연구된 *Luciogobius guttatus*의 수정란 크기 보다는 월등히 작은 것으로 나타났다 (Table 2). 이런 망둑어과 어종간의 수정란의 크기는 Table 2에서 보여주는 바와 같이, 산란 가능한 성어의 평균 전장 (Mean total length) 크기에 따른 영향으로 사료되었다 (Table 2).

### 2) 난 발생

실험실에서  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수온 상태에서 자연교배를 유도하여 얻은 밀어 수정란의 난 발생 과정은 다음과 같이 요약된다 (Fig. 1, Table 3).

#### I. 수정란 형성 (Fertilized egg)

- 수정란 (Fertilized egg): 수정된 난은 외부의 물을 흡수하여 장경  $1.5 \pm 0.1$  mm, 단경  $0.7 \pm 0.1$  mm ( $n = 10$ )의 타원형의 분리 침성란으로 형태가 완성되며, 세포질이 동물극 방향으로 집중되었다.
- 배반형성 (Blastodisc): 수정이 일어난 후 45분이 경과하면 세포질은 동물극으로 집중되어 렌즈모양의 배반을 형성된 반면 난황이 식물극 쪽으로 집중되는 것은 관찰되지 않았다 (Fig. 1A).

#### II. 난할과정 (Cleavage)

- 2 구기: 수정 후 75분 (01:15)에 경찰에 의해 배반

**Table 3.** Embryonic development of *Rhinogobius brunneus* under water temperature of  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Elapsed time		Fig. 1	Stage of embryonic development
H: M	T.M.		
00: 45	45	A	Formation of blastodisc
01: 15	75	B	2-cell stage
01: 45	105	C	4-cell stage
02: 15	135	D	8-cell stage
02: 45	165	E	16-cell stage
03: 15	195	F	32-cell stage
03: 45	225	G	64-cell stage
05: 15	315	H	Morula stage
07: 15	435	I	Blastula stage
11: 45	705	J	Gastrula stage
14: 15	855	K	Yolk plug
21: 45	1305	L	Formation of embryo
24: 25	1465	M	Formation of optic vesicle, 5~6 somites
26: 45	1605	N	Appearance of Kuffer's vesicle, 8~9 somites
28: 45	1725	O	Differentiation of tail, 16~17 somites
32: 45	1965	P	Formation of auditory vesicle, 20~21 somites
35: 45	2145	Q	Formation of lenses and 23~24 somites
39: 15	2355	R	Formation of anus
48: 45	2925	S	Beginning of heart beating (80/min)
54: 30	3270	T	Melanophores appearance on dorsal of tail
70: 45	4245	U	Formation of pectoral fins
95: 00	5700	V	Hatching and the formation of 25~27 somites

\*. H: hours, M: minutes, T.M. = total minutes elapsed

이 2개의 세포로 세분되었다(Fig. 1B).

- 4 구기 : 수정 후 105분(01:45)에 경할에 이은 위할에 의해 4개의 세포로 세분되었다(Fig. 1C).
- 8 구기 : 수정 후 135분(02:15)에 경할에 의해 8개의 세포로 세분되었다(Fig. 1D).
- 16 구기 : 수정 후 165분(02:45)에 각 할구의 크기가 불규칙해지며, 16개의 세포로 세분되었다(Fig. 1E).
- 32 구기 : 수정 후 195분(03:15)에 32개의 세포로 나뉘어 졌다(Fig. 1F).
- 64 구기 : 수정 후 225분(03:45)에 할구의 크기가 작아져 64개의 세포로 세분되었다(Fig. 1G).
- 상실기(Morula stage) : 수정 후 315분(05:15)에 할구의 크기가 점점 작아져 육안으로 헤아릴 수 없는 상실기에 도달하였다(Fig. 1H).

### III. 포배형성과정 (Blastulation)

- 포배형성(Blastula) : 수정 후 435분(07:15)에 계속적인 난할에 의해 할구가 더욱 작아지며, 배반엽이 아래쪽으로 확장하여 포배기에 도달했다(Fig. 1I).

### IV. 낭배형성과정 (Gastulation)

- 낭배형성(Gastula) : 수정 후 705분(11:45)에 배반엽이 식물극 방향으로 확장되어 난황의 1/2을 덮었고, 배환(germ ring)이 최대크기에 도달했다(Fig. 1J).
- 난황전형성(Yolk plug) : 수정 후 855분(14:15)에 배반엽이 더욱 확장되어 난황의 2/3 이상을 덮었고, 난황전(yolk plug)이 형성되었다(Fig. 1K).

### V. 기관형성 (Organogenesis)

- 배체형성(Embryo formation) : 수정 후 1305분(21:45)에 발생 진행이 계속되어 배체 난황의 위쪽에 뚜렷하게 형성되었다. 배체는 두부와 미부가 구분이 되었으며, 3~4개의 체절이 형성되었다(Fig. 1L).
- 안포형성(Optic vesicle) : 수정 후 1465분(24:25)에 배체의 두부 부위에서 안포(optic vesicle)가 형성되었으며, 체절은 5~6개로 증가하였다(Fig. 1M).
- 쿠퍼소포형성(Kuffer's vesicle) : 수정 후 1605분(26:45)에 배체의 미부 부분의 난황 안에서 둥근 Kuffer's vesicle이 뚜렷하게 형성되었으며, 체절은 8~9개로 증가하였다(Fig. 1N).
- 꼬리분화(Differentiation of tail) : 수정 후 1725분(28:45)에 embryo의 미부 부위가 신장되어 난황에서 분리되기 시작하였으며, 체절은 16~17개로 증가하였다(Fig. 1O).
- 이포형성(Auditory vesicle) : 수정 후 1965분(32:45)에 embryo의 두부 부위 뒤쪽에서 이포가 형성되었

으며, 난황에서 분리되어진 미부 부위는 계속 확장되었다. 체절은 20~21개로 증가하였다(Fig. 1P).

- 렌즈형성(Lenses) : 수정 후 2145분(35:45)에 배체의 안포에 렌즈가 형성되었으며, 체절은 23~24개로 증가하였다(Fig. 1Q).
- 항문형성(Anus) : 수정 후 2355분(39:15)에 난황으로부터 분리되어져 신장되던 몸통에 항문이 형성되었다(Fig. 1R).

### VI. 심장 및 색소포 형성 (Heart & Melanophores)

- 심장박동(Heart beating) : 수정 후 2925분(48:45)에 두부와 난황의 사이에서 심장이 형성되었으며, 80/min로 박동을 보였다(Fig. 1S).
- 색소포형성(Melanophores) : 수정 후 3270분(54:30)에 embryo의 항문 주위와 몸체의 배쪽으로 검은색의 멜라노포어가 관찰되기 시작하였다(Fig. 1T).
- 가슴지느러미형성(Pectoral fins) : 수정 후 4245분(70:45)에 난황의 상부에서 짝의 형태로 가슴지느러미의 원기가 형성되었다(Fig. 1U).

### VII. 부화 (Hatching)

- 부화(Hatching) : 수정 후 5700분(95:00)에 수정난은 일련의 발생과정을 거쳐 두부부위가 난막을 뚫고 나와 부화되었다(Fig. 1V).

밀어의 난 발생 실험 결과에 따르면, 밀어는 수온  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 45분 후에 배반(Blastodisc)을 형성하였으며, 30분의 간격으로 난할이 진행되었고, 수정 후 05시 15분에 상실기, 07시 15분에 포배형성, 11시 45분에 낭배형성과정을 거쳐 21시 45분에 배체(Embryo)를 형성하였다. 이 후 발생이 진행되어 95시간에 부화가 이루어졌다. 한 등(1998)은 수온  $16.5^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 50분~1시간에 배반을 형성하였고, 약 1시간의 간격으로 난할이 진행되었고, 수정 후 7시간 40분~8시간에 상실기, 12시간에 포배형성, 14시 40분에 낭배형성을 거쳐 23시간에 배체를 형성하였고 이 후 발생이 계속 진행되어 수정 후 145시간 만에 부화하였다고 보고하였다. 망둑어과 어류인 두줄망둑(김과 한, 1990)은 수온  $20.5^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 40분에, 모치망둑(김과 한, 1991)은 수온  $24.5\sim 25.5^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 30분에, 문절망둑(Dotu & Moto, 1955)은 수온  $13^\circ\text{C}$ 에서 수정 후 3시간 30분에 각각 배반을 형성하였다. 문절망둑의 경우 배반(Blastodisc)의 형성에 많은 시간이 걸린 것은 종에 따른 개체의 크기와 난의 크기(Table 2)보다는 발생이 진행된 수온의 차이에 기인한 것으로 생각되어진다. 본 실험에서는 밀어의 경우, 수정에서 부화까지 95시간이 소요된 반면, 한 등(1998)에 따르면 동일종인 밀어에서 146시간 30분이 소요된 것으로

**Table 4.** The comparisons of time elapsed for embryonic developments of the gobiid fish. The abbreviations of embryonic developmental stages are as follows: A = The formation of blastodisc, B = Morula stage, C = Blastula stage, D = Gastrula stage, E = Embryo formation, F = Hatching. The references in the table were expressed as English, even if the original references were written in Korean language: *T. trigonocephalus* by Kim and Han (1990); *R. brunneus* by Han *et al.* (1998); *L. guttatus* by Kim *et al.* (1992); *M. abei* by Kim and Han (1991); *A. flavimanus* by Dotu and Moto (1955).

Species	Temperature	Stage of embryonic development					
		A	B	C	D	E	F
<i>T. trigonocephalus</i>	20.5°C	00 : 40	10 : 00	14 : 00	18 : 00	21 : 00	158 : 00
<i>R. brunneus</i>	16.5°C	00 : 30	07 : 40 ~ 08 : 00	12 : 00	14 : 40	18 : 00	146 : 30
<i>L. guttatus</i>	19.5 ~ 25.5°C (Mean: 22.7°C)	-	-	-	-	Observed	98 : 00
<i>M. abei</i>	24.5 ~ 25.5°C	00 : 30	04 : 00	06 : 30	08 : 00	13 : 00	103 : 00
<i>A. flavimanus</i>	13°C	03 : 30	09 : 40	14 : 10	-	60 : 00	672 : 00
This study	22 ± 1°C	00 : 45	05 : 15	07 : 15	11 : 45	21 : 45	95 : 00

**Table 5.** The elapsed time for hatching and total length in the larvae under various temperature treatments. The references in the table were expressed as English, even if the original references were written in Korean language: *R. brunneus* by this study; *R. brunneus\** by Han *et al.* (1998); *R. brunneus\*\** by Sakai and Yasuda (1978); *T. trigonocephalus* by Kim and Han (1990); *L. guttatus* by Kim *et al.* (1992); *M. abei* by Kim and Han (1991); *A. flavimanus* by Dotu and Moto (1955).

	Temperature (°C)	Elapsed time for hatching (Hrs : Min)	Total length of larvae (mm)
<i>R. brunneus</i>	18	189 : 40	3.6 ~ 3.7
	22	95 : 00	3.3 ~ 3.4
	26	54 : 00	3.2 ~ 3.3
	30	57 : 20	3.2
<i>R. brunneus*</i>	16.5	146 : 30	3.10 ~ 3.30
<i>R. brunneus**</i> (type LD)	21.0 ~ 27.5 (Mean: 25)	96 : 00 after the observation	3.5 ~ 3.8
<i>R. brunneus**</i> (type CR)	19.9 ~ 22.8 (Mean: 21.6)	-	3.8 ~ 4.3
<i>T. trigonocephalus</i>	20.5	158 : 00	2.88 ~ 3.14
<i>L. guttatus</i>	19.5 ~ 25.5 (Mean: 22.7)	98 : 00 after the observation	3.90
<i>M. abei</i>	24.5 ~ 25.5	103 : 00	2.04 ~ 2.10
<i>A. flavimanus</i>	13°C	672 : 00	4.6

보고하였다. 한편 망둑어과 어중에 속하는 두줄망둑에서는 수정에서 부화까지 158시간이 소요되었고(김과 한, 1990), 미끈망둑에서는 배체의 형성기부터 부화까지 98시간(김 등, 1992), 모치망둑에서는 103시간(김과 한, 1991), 문절망둑에서는 672시간(Dotu and Moto, 1955) 각각 소요된 것으로 보고되었다. 이러한 결과는 종에 따른 개체의 크기나, 산란되어진 수정란의 크기 차이에 대한 영향을 배제할 수는 없지만, 각각의 발생이 진행되는 수온의 차이에 기인한다고 할 수 있을 것으로 사료된다(Table 4, Table 5).

### 3) 수온별 난 발생

본 실험 어종인 밀어의 수온에 따른 난 발생 과정의 차이를 확인하기 위하여 수온 18°C, 22°C, 26°C, 30°C에서 실험한 결과, 부화까지 소요된 시간은 각각 189시간

40분, 95시간, 54, 57시간 20분으로 나타났다(Table 6).

한 등(1998)의 실험결과에 따르면, 수온 16.5°C 하에서 부화하는데 소요시간은 145시간 소요되었으며, Sakai and Yasuda (1978)은 수온 25.3 ~ 26.7°C 하에서 관찰을 시작한 후(안포 형성) 4일(96시간)에 부화하였다고 보고하였다. 이와 같이 동일한 종이지만 수정에서부터 부화까지 소요되는 시간 차이는 최와 나(2000)가 제시한 바와 같이 종종 어류의 수정란에 대한 수온 혹은 광주기 효과가 난 발생 진행에 영향을 줄 수 있는 것으로 사료되었다. 특히 실험 진행 도중 연속적으로 수온을 측정함에도 불구하고, 일부 시간 동안에 광의 조도 혹은 수온이 증가 혹은 감소 될 수 있어서 한 등(1998)의 저 수온(16°C) 하에서의 부화시간과 본 연구실험(18°C)에서의 부화 시간에 차이를 가져올 수 있을 것으로 사료되었다. 또한, 계

**Table 6.** The egg developmental stage and developmental time of *Rhinogobius brunneus* under various temperature conditions. In the table, Han *et al.* (1998) was expressed as English, even if the original reference was written in Korean language.

Developmental characters	This study				Han <i>et al.</i> (1998) 16.5°C	Sakai and Yasuda (1978) 25.3~26.7°C
	18°C	22°C	26°C	30°C		
Formation of blastodisc	01 : 00	00 : 45	00 : 30	00 : 20	00 : 50~01 : 00	-
2-cell stage	01 : 50	01 : 15	00 : 55	00 : 35	02 : 00	-
4-cell stage	02 : 40	01 : 45	01 : 20	00 : 50	03 : 00~03 : 30	-
8-cell stage	03 : 30	02 : 15	01 : 45	01 : 05	04 : 10	-
16-cell stage	04 : 20	02 : 45	02 : 10	01 : 20	05 : 00	-
32-cell stage	05 : 10	03 : 15	02 : 35	01 : 35	06 : 00	-
64-cell stage	06 : 00	03 : 45	03 : 00	01 : 50	06 : 30	-
Morula stage	08 : 40	05 : 15	04 : 10	02 : 40	07 : 40~08 : 00	-
Balstula stage	11 : 10	07 : 15	05 : 40	04 : 00	12 : 00	-
Gastrula stage	21 : 10	11 : 45	08 : 00	06 : 20	14 : 40	-
Yolk plug	25 : 50	14 : 15	10 : 00	07 : 10	16 : 00	-
Embryo formation	39 : 40	21 : 45	15 : 30	11 : 40	23 : 00	-
Formaton of optic vesicles	42 : 40	24 : 25	16 : 30	13 : 00	-	Observed
Appearance of Kuffer's vesicles	46 : 20	26 : 45	17 : 20	14 : 20	25 : 00	-
Differentiation of tail	49 : 20	28 : 45	21 : 10	16 : 05	32 : 00	-
Formation of auditory vesicle	56 : 20	32 : 45	22 : 40	17 : 20	44 : 00	After 6 hours of observed
Formation of lenses	62 : 00	35 : 45	23 : 40	19 : 50	72 : 00	-
Formation of anus	67 : 40	39 : 15	24 : 40	21 : 50	-	-
Beginning of heart beating (80/min)	82 : 40	48 : 45	35 : 10	26 : 00	-	-
Melanophores apper on dorsal of tail	88 : 40	54 : 30	38 : 40	30 : 25	126 : 00	After 19 hours of observed
Formation of pectoral fins	129 : 40	70 : 45	42 : 10	34 : 30	-	After 43 hours of observed
Hatching	189 : 40	95 : 00	54 : 00	57 : 20	145 : 00	After 4 days of fertilization

절적으로 대기온도 변화 및 일조량의 차이에 따른 계절별, 연별 수온 혹은 광주기 차이는 자연상태 하에서 밀어 개체군에 대한 연 변화를 초래할 수 있음을 시사하였다. 수온이 20°C 이하인 조건(자연상태 하에서 4~5월 초에 해당)에서 산란되어진 알들은 수정에서 부화까지 소요되는 시간이 길고, 둥지와 수정난을 보호하는 수컷에게 큰 부담을 줄 수 있다. 그러나, 20°C 이상의 수온조건에서 산란되어진 알들은 수정에서 부화까지 소요되는 시간이 짧고, 수컷에게 상대적으로 적은 부담을 줄 것이다. 그렇기 때문에 수온이 20°C 이상인 조건에서 수컷은 더 많은 산란의 기회를 갖게 될 것이고, 이에 따른 개체군의 급격한 수적 증가가 예상되어 질 수 있다.

### 3. 자 어

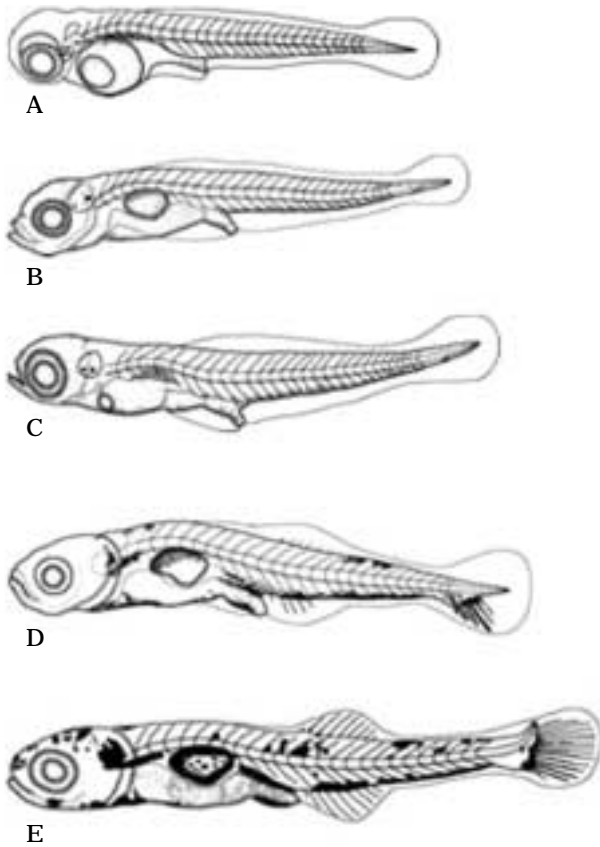
#### 1) 자어 발달

##### 1. 부화

수온 22±1°C에서 부화되어진 자어는 전장 3.25~3.35 mm (평균: 3.32 mm, n = 3)이었으며, 난황은 0.50~

0.55 mm (평균: 0.53 mm, n = 3)였다. 입과 항문은 아직 열려 있지 않았고, 흑색 소포는 난황과 항문 주위, 몸체의 배쪽을 따라 산재되어 있었다. 두부쪽에서 3~4번째 체절에서 시작되는 막상의 지느러미들은 꼬리지느러미와 연결된다. 두부에서 항문까지의 길이는 전장의 47.7~47.8% (평균 47.8%, n = 3)로 항문이 몸의 중앙보다 앞쪽에 위치하였고, 체절은 27~28개였다. 한 등(1998)은 부화 직후 자어의 크기는 16.5°C 하에서 3.10~3.30 mm (평균: 3.22 mm, n = 5)로 보고하여 본 연구결과 보다 약간 작은 크기였지만 이는 수온 차이 때문으로 사료되며, 흑색소포의 분포는 한 등(1998)의 결과와 비교해 볼 때 비슷한 위치였다. 또한, Sakai and Yasuda (1978)은 일본산 밀어인 Large-dark type B의 경우 전장이 3.5~3.8 mm (n = 30)으로, Cross-band type의 경우 전장이 3.8~4.3 mm (n = 181)로 모두 본 실험의 결과 보다는 큰 크기였다. 그렇지만, 본 연구에서 흑색소포의 분포는 한 등(1998) 및 Sakai and Yasuda (1978)의 연구에서와 유사한 분포 양상을 보였다(Fig. 2A).





**Fig. 2.** The larval development of *Rhinogobius brunneus* under the water temperature of  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . The detailed stages of A ~ E are explained in the text.

## II. 부화 후 4일

자어는 전장 3.85~3.90 mm (평균: 3.88 mm,  $n=3$ )였으며, 난황은 거의 흡수되어 유구만 뚜렷하게 남아 있으며, 0.35 mm의 길이였다. 입과 항문은 완전하진 않지만 열려 있으며, 소화관이 거의 직선의 형태로 형성되었다. 흑색소포는 자어의 복부와 항문주위 그리고 미부의 배쪽으로 증가되어있었고, 부레의 위쪽으로 밀집되어있었다. 두부에서 항문까지의 길이는 전장의 48.7~49.4% (평균 49.05%,  $n=3$ )로 항문의 위치가 부화 직후보다 몸의 중앙에 위치하였다 (Fig. 2B).

부화 후 6일: 자어는 전장 4.0~4.1 mm (평균 4.03 mm,  $n=3$ )였으며, 난황은 완전히 흡수되었고, 입과 항문은 완전히 열려져 있었고, 먹이로 공급한 *Rotifer*를 섭취하기 시작하였다. 흑색소포는 자어의 복부와 항문주위, 부레위쪽 그리고 몸체의 배쪽을 따라서 증가되어졌고, 꼬리지느러미의 기부에서 증가되어졌다. 두부에서 항문까지의 길이는 전장의 47.5~48.8% (평균 48.2%,  $n=3$ )로 항문의 위

치는 소화관이 형성되기 시작한 자어와 별 차이가 없었다 (Fig. 2C).

## III. 부화 후 16일

자어는 전장 5.5~5.75 mm (평균: 5.63 mm,  $n=3$ )였으며, 척색 말단이 위쪽으로 굽어지기 시작하였다. 꼬리지느러미에 기조가 5~6개 형성되었고, 제 2 등지느러미 부위는 융기 되어져 있으나 기조의 형성은 없다. 뒷지느러미에 4~5개의 기조가 형성되었다. 흑색소포는 두부와 복부, 항문주위, 몸체의 배쪽을 따라 잘 발달되었고, 등부에도 형성되기 시작하였다. 두부에서 항문까지의 길이는 전장의 49.6~50.4% (평균: 50%,  $n=3$ )로 자어의 몸 중앙에 위치하기 시작하였다 (Fig. 2D).

## IV. 부화 후 18일

자어는 전장 6.0~6.1 mm (평균: 6.06 mm)였으며, 척색 말단이 위쪽으로  $10 \sim 15^\circ$  정도 굽었으며, 꼬리지느러미의 기조는 8~9개, 제 2 등지느러미와 뒷지느러미의 기조는 각각 6개 형성되었다. 흑색소포는 두부와 미부에 더욱 증가되어졌다. 전장에 대한 두부에서 항문까지의 길이는 52.4~52.5% (평균 52.5%,  $n=3$ )로 항문이 몸의 중앙보다 뒤쪽에 위치하였다.

## V. 부화 후 24일

자어는 전장 7.5~7.7 mm (평균: 7.63 mm,  $n=3$ )였으며, 척색말단이 위쪽으로  $80 \sim 90^\circ$ 로 굽었으며, 꼬리지느러미의 기조는 14~16개, 제 2 등지느러미와 뒷지느러미의 기조는 각각 8~9개가 형성되었다. 흑색소포는 더욱 증가하여 두부와 미부의 몸통에 분포하였다 (Fig. 2E).

## 2) 수온별 자어 발달

수온별 자어 발달을 비교하기 위해, 난 발생 수온과 동일한 18, 22, 26,  $30^\circ\text{C}$ 에서 각각 자어의 성장을 관찰하였다 (Table 7). 그 결과, 수온  $18^\circ\text{C}$ 에서 부화된 자어는 전장 3.6~3.7 mm로  $22^\circ\text{C}$ 에서의 3.3~3.4 mm,  $26^\circ\text{C}$ 에서의 3.2~3.3 mm,  $30^\circ\text{C}$ 에서의 3.2 mm보다 더 큰 상태로 부화되었으며, 이는 난 발생의 결과 수온이 낮을수록, 부화까지 소요되는 시간이 증가하여, 자어가 더 발달된 상태로 부화되었기 때문으로 사료되어진다.  $30^\circ\text{C}$ 에서 부화되어진 자어들은 생체의 대사활동이 다른 수온에 있는 자어들보다 더 활발하여 난황의 흡수가 부화 후 1일 만에 완료되었으며, 부화 후 2일 만에 먹이의 섭취가 관찰되었으나, 공급하여 준 먹이의 양이 자어의 대사 활동에 필요한 에너지를 공급하기에 부족하여, 자어들이 부화 후 3일 만에 아사된 것으로 판단되며, 더 이상 실험 결과를 관찰할 수 없었다. 또한,  $18^\circ\text{C}$ 에서 부화되어진 자어들은 부화 직후, 다른 수온의 자어들보다 형태적으로 매우 발달된

**Table 7.** The developmental process of the larva under four different temperature regimes in the laboratory.

Characters of larval development	Days after the hatching			
	18°C	22°C	26°C	30°C
Newly hatched larvae	3.6~3.7 mm	3.3~3.4 mm	3.2~3.3 mm	3.2 mm
Mouth and anus opened	2 days	4 days	3 days	1 day
Formation of digestive organs	(3.6~3.7 mm)	(3.8~3.9 mm)	(3.8~3.9 mm)	(3.6~3.7 mm)
Absorption of yolk sac and oil globules beginning of exogenous feeding	4 days (3.8~3.9 mm)	6 days (4.0~4.1 mm)	4 days (3.9~4.0 mm)	2 days (3.7~3.8 mm)
End of the caudal part bent slightly upwards Formation of 5~6 rays on caudal fin, 4~5 rays on the anal fin	-	16 days (5.5~5.8 mm)	12 days (4.8~4.9 mm)	-
End of the caudal part bent 10~15° upwards Formation of 8~9 rays on the caudal fin and 6 rays on the second dorsal fin and anal fin	-	18 days (6.0~6.1 mm)	16 days (6.2~6.3 mm)	-
End of the caudal part bent 80~90° upwards Formation of 14~16 rays on the caudal fin and 8~9 rays on the second dorsal fin and anal fin	-	24 days (7.5~7.7 mm)	20 days (6.9~7.0 mm)	-

상태로 이미 부레가 형성되어 있었으며, 난황의 크기가 다른 수온의 자어들보다 더 적은 상태였다. 부화 후 2일 만에 소화관이 형성되고, 부화 후 4일 만에 먹이의 섭취가 관찰되었으나, 수온의 급격한 증가에 의한 물리적인 충격에 의해 자어들이 죽어 더 이상 실험·관찰을 진행할 수 없었다. 18°C와 30°C의 자어들을 제외한 22°C와 26°C에서 부화되어진 자어들은 가장 안정적인 성장을 보여 주었는데, 전체적인 형태 발달은 26°C에서 부화되어진 자어가 22°C에서 부화되어진 자어들 보다 더 빠른 진행 양상을 보여 주었으나, 전장의 길이에 있어 22°C에서 부화되어진 자어들 보다 약간 작은 크기였다(Table 7).

본 연구에서 도출된 밀어의 산란행동, 난발생 과정 및 부화된 자어의 성장을 비교 검토한 결과에 따르면, 수컷은 세력권을 형성한 후 산란둥지를 만드는 것이 확인된 바 자연 하천에서 수질오염 및 부유물의 침적에 의한 산란둥지 형성이 불가능하게 되었을 시 본 종의 개체군 감소에 영향을 끼치게 될 것으로 사료된다. 이런 현상은 최근 우리나라의 전국규모의 하천에서 각종 대규모 토목공사 및 건설 사업으로 인해 토사가 계속 축적되어 가고 있고, 이로 인한 하천준설 사업이 이루어지는 상황에서 물리적 서식지 파괴에 의한 향후 밀어의 개체군 감소가 예상된다. 또한, 난 발생 과정 및 부화된 자어의 성장결과에 따르면, 수온이 높은 처리군은 수온이 낮은 처리군 보다 난 발생 과정이 더 빠르게 진행되어 부화까지 소요되는 시간이 더 짧게 나타났으나, 부화된 자어의 크기는 작은 것이 확인되었다. 따라서, 하천의 수온이 유량감소 및 천변식생 감소에 의해 상승될 경우 생식전략(reproduc-

tive strategy)의 효율성 감소로 밀어 개체군 감소에 기여할 것으로 사료된다.

## 적 요

본 연구는 밀어(*Rhinogobius brunneus*)의 산란행동 및 초기생활사를 밝히기 위하여 4가지 수온조건 하에서 실험을 수행되었다. 본 실험을 위해 밀어는 금강 지류중의 하나인 갑천에서 성숙된 수컷과 암컷을 채집하였으며, 일정기간의 순치과정을 거친 후에 실험을 실시하였다. 본 실험 결과에 따르면, 성숙된 성어들의 구애행동 및 산란행동의 유형은 다음과 같이 요약된다. 밀어의 성숙된 수컷은 산란에 앞서 세력권을 형성한 후 자신의 세력권 안에 산란을 위한 둥지를 형성한 후, 성숙된 암컷을 유인하여 둥지에 하부에 타원형 난을 단층으로 붙이는 부착난 층으로 파악되었다. 수정된 알들은 수컷에 의해 보호받는 종(Parental care species)임 이 관찰되었으며, 수정난의 평균 장경은  $1.5 \pm 0.1$  mm, 단경은  $0.7 \pm 0.1$  mm였다. 실험실내 4개의 수온처리군에 따르면, 고온처리군 보다 낮은 처리군에서 부화까지 더 긴 시간이 소요되었으며, 높은 수온일수록 부화까지 소요되는 시간이 단축되는 것으로 나타났다. 또한, 18°C의 낮은 실험수온에서 부화된 자어는 약 3.6 mm의 전장을, 25°C 이상의 높은 실험수온에서 부화된 자어는 3.1~3.2 mm의 전장을 보였다. 또한, 처리군에서 수온이 높을수록 빠른 성장을 보여 부화까지 소요되는 시간이 단축되는 결과를 보였으나, 부화 시 자어의 크기는 높은 수온 상태에서 보다는 낮은 수온상태에

서 부화된 개체가 큰 것으로 나타났다. 본 밀어에 대한 발생생태학적 기초연구는 수질오염 및 서식지 파괴에 의해 어종의 다양성이 빠르게 감소하는 상황에서 어류 개체군 보호 및 생태계보호에 기초자료를 제공할 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 부분적으로 한국과학재단 목적기초연구(과제번호: R08-2003-000-10535-0)지원으로 수행되었으며, 야외조사에 도움을 준 박경서 군(현재: 미시건 대학)에게 고마운 마음을 전한다.

## 인 용 문 헌

- 김용억, 한경호, 강충배, 류정화. 1992. 미끈망둑, *Luciogobius guttatus* Gill의 산란습성 및 초기생활사. 한국어류학회지 **4**: 1-13.
- 김용억, 한경호. 1990. 두줄망둑, *Tridentiger trignocephalus* (Gill)의 산란행동 및 초기생활사. 한국어류학회지 **2**: 53-62.
- 김용억, 한경호. 1991. 모치망둑, *Mugilogobius abei* (Jordan and Snyder)의 산란행동 및 초기생활사. 한국어류학회지 **3**: 1-10.
- 김익수, 김병직. 1996. 줄구굴치 (*Micropercops swinhonis*)의 산란습성 및 초기 난발생. 한국생태학회지. **19**: 477-486.
- 김익수, 김용억, 이용주. 1986. 한국산 망둑어과 어류. 한수지 **19**: 387-408.
- 김익수, 박종영. 2002. 한국의 민물고기. 교학사. 465pp.
- 김종범. 1995. 한국산 밀망둑속과 검정망둑속 (농어목, 망둑어과) 어류의 분류학적 고찰 및 종분화 연구. 인하대학교 박사학위 논문.
- 변회근, 조규송, 최재석, 김종필. 1995. 한국산 독중개의 번식행동. 한국육수학회지 **28**: 191-198.
- 정문기. 1977. 한국어도보. 일지사. 서울.
- 조규송, 변회근, 김종필. 1993. 치악산 계류에 서식하는 독중개, *Cottus poecilopterus*의 초기발생 및 생태. 한국육수학회지 **26**: 27-35.
- 최기철, 이원규. 1994. 우리민물고기 백가지. 현암사. p. 242-246.
- 최신석, 나영연. 2000. 얼룩동사리 (*Odontobutis interrupta*)의 산란행동 및 난발생에 관한 연구. 한국환경생물학회지 **18**: 323-330.
- 한경호, 김용억, 조규정. 1998. 한국산 밀어 (*Rhinogobius brunneus*)의 산란습성, 난발생 및 자어의 형태발달. 한국수산학회지 **31**: 114-120.
- Balon, E.K. 1975. Terminology of Intervals in Fish Development. *J. Fish. Res. Board Can.* **32**: 1663-1670.
- Dotu, Y. and S. Moto. 1955. On the breeding-habits, larvae and young of a goby, *Acanthogobius flavimanus* (Temmick et Schlegel). *Japan. J. Ichthyol.* **4**: 153-161 (In Japanese).
- Goto, A. 1982. Reproductive behavior of a river sculpin, *Cottus nazawae* Synder. *Japan. J. Ichthyol.* **28**: 453-457
- Hidaka, T. and S. Takahashi. 1987. Effects of temperature and daylength on gonadal development of a goby, *Rhinogobius brunneus* (orange type). *Japanese J. Ichthyol.* **34**: 361-367.
- Jeon, S-R and Y. Aonuma. 1995. Identification and distribution of Korean gobiid fish (Genus *Rhinogobius*). Sang-Myung Woman's University. *J. Natural Sci.* **2**: 1-32.
- Katoh, M. 1996. Seasonal variation in gonadal activity of female among four species of freshwater gobies in the *Rhinogobius brunneus* species complex in Okinawa, Japan. *Japanese J. Ichthyol.* **43**: 169-174.
- Masuda, Y., Ozawa T. and Enami. S. 1989. Genetic differentiation among eight color types of the freshwater goby, *Rhinogobius brunneus* from Western Japan. *Japanese J. Ichthyol.* **36**: 169-174.
- Mizuno, N. 1976. Studies on a freshwater fish, *Rhinogobius brunneus* (Pescis : Gobiidae). III. Distribution of four color types in Shikoku and Kyushu Islands. *Physiol. Eco. Japan.* **17**: 373-381.
- Mizuoka, S. 1967. Studies on fluvial variations in the gobioid fish. "yoshinobori" IV. Distributions and variations in color pattern and pectoral fin ray numbers. *Bull. Fac. Educ. Hiroshima Univ.* **3**: 43-52.
- Mizuoka, S. 1971. Studies on the variation of *Rhinogobius brunneus* (Temmick and Schlegel). II. On the three types in body color pattern in Tottori-Ken, Shimane-Ken, Yamaguchi-Ken and the western coast of hyūsyū. *Bull. Fac. Educ. Hiroshima Univ.* **3**: 11-17.
- Mizuoka, S. 1974. Studies on the variation of *Rhinogobius brunneus* (Temmick and Schlegel). III. On the six types of body and color pattern in the Sanin district the Hokuriku district and the Gotō Islands. *Bull. Fac. Educ. Hiroshima Univ.* **3**: 31-40.
- Nishijima, S. 1968. Two forms of the gobioid fish, *Rhinogobius brunneus* from Okinawa, Jima. Ryukyu Islands. *Zoo. Mag.* **77**: 397-398.

Sakai, H. and F. Yasuda. 1978. Development of eggs and larvae of the freshwater goby, *Rhinogobius brunneus*. *Japanese J. Ichthyol.* **25**: 92-100.

Tzeng, C.S. 1986. The freshwater fishes of Taiwan. Taiwan

Prov. Educ. Dept. Press. pp.66-69.

(Manuscript received 8 October 2004,  
Revision accepted 18 December 2004)