

Jac-Min Park, Seong-Jang Cho und Kyeong-Ho Han — Korea

Frühe Entwicklungsstadien von *Lefua costata* (Cypriniformes, Balitoridae) aus Korea

Zusammenfassung

Der Zweck dieser Studie ist die Beobachtung der frühen Entwicklungsstadien Koreanischer *Lefua costata* und die Nutzung der Resultate als grundlegende Basis für die taxonomische Forschung an balitoriden Schmerlen. Die befruchteten Eier waren von leicht grüner Farbe und komplett runder Form und die mittlere Größe war $1,21 \pm 0,06$ mm ($n=30$). Gleich nach dem Schlupf betrug die mittlere Länge der Larven $2,81 \pm 0,11$ mm ($n=5$), diese besaßen einen Dottersack. Am 3. Tag nach dem Schlupf hatten die Larven im Preflexion-Stadium eine mittlere Länge von $4,64 \pm 0,09$ mm ($n=5$) und das Maul war geöffnet, um mit der Nahrungsaufnahme beginnen zu können. Am 8. Tag nach dem Schlupf betrug die mittlere Länge im Postflexion-Stadium $9,43 \pm 0,46$ mm ($n=5$), der distale Teil des Notochord war zu 45° gebogen und 16 Flossenstrahlen waren an der Schwanzflosse entwickelt. Am 31. Tag nach dem Schlüpfen betrug die mittlere Länge der Juvenilen $22,3 \pm 0,85$ mm ($n=5$) und die Anzahl an Flossenstrahlen war die gleiche wie bei adulten Fischen, d.h. iv8 bei der Dorsale und iii8 bei der Anale.

Schlüsselwörter: Egg development, Juveniles, Larvae, *Lefua costata*, Early life history.

Originaltitel veröffentlicht unter Park, J.M.¹, Cho, S.J.², Han, K.H.³: Early life history of *Lefua costata* (Cypriniformes : Balitoridae) from Korea. Dev. Reprod. 2020 Dec. 24(4): 307-316. doi: 10.12717/DR.2020.24.4.307. Epub 2020 Dec 31. PMID: 33537517; PMCID: PMC7837420.

Übersetzt für AKFS-aktuell von Hans-Joachim Scheffel (Bremen).

¹ Gyeongsangbuk-Do Native Fish Business Center, Uiseong 37366, Korea, ² Boryeong Freshwater Eco Center, Boryeong 33416, Korea, ³ Fishery Science, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea. † Corresponding author Kyeong-Ho Han Fishery Science, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea. Tel: +82-61-659-7163 E-mail: aqua05@jnu.ac.kr.

Erhalten: 18. Oktober 2020, überarbeitet: 24. Oktober 2020, Akzeptiert: 1. November 2020.

Copyright © 2020 The Korean Society of Developmental Biology. Dies ist ein Open-Access-Artikel verbreitet unter den Bestimmungen der Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), welche den uneingeschränkten nicht-kommerziellen Gebrauch und die Vervielfältigung in jeglichem Medium erlaubt, vorausgesetzt die Originalarbeit wird genau zitiert.

Konkurrierende Interessen: Die Autoren haben erklärt, dass keine konkurrierende Interessen vorliegen.

Danksagungen: Nicht anzuwenden.

Ethische Genehmigung: Dieser Artikel bedarf keiner IRB/IACUC Genehmigung weil keine menschlichen oder tierischen Teilnehmer betroffen.

Einleitung

Viele Merkmale insbesondere während der Entwicklungsphasen von Fischen können wichtige Basisdaten hinsichtlich der Klärung taxonomischer Verwandtschaft von einander nahestehenden Spezies liefern (Blaxter 1974, Balon 1985). Bei der Studie der Grundzüge in der Systematik der Fische innerhalb der Cypriniformes während ihrer Entwicklung wurde befunden, daß es bestimmte Charakteristika befruchteter demersaler und epipelagischen Eier auch innerhalb der Gattung *Squalidus* gibt. Melanophoren-Vesikel bildeten sich nach dem Schlupf der jungen Fische innerhalb der Schlupfphasen über 1-2 Tagen. Zum Ende der Eientwicklung erschienen die Melanophoren-Vesikel im Auge des Embryos. Diese Melanophoren werden als wesentlicher Hinweis hinsichtlich der taxonomischen Relationen bei der Gattung *Squalidus* genutzt (Song et al. 2017).

Fische, die zu Cypriniformes, Cobitoidei und den Balitoriden gehören sind in Europa und Asien verbreitet (Kottelat 2012, Nelson et al. 2016). Balitoride Schmerlen, die in Ko-

rea leben beinhalten *Orthrias toni*, *O. nudus* und *Lefua costata* (Kim 1997, Kim et al. 2005, Kim & Park 2007), von denen *L. costata* verbreitet ist in Korea, Japan und einer maritim gelegenen sibirischen Provinz Russlands (Kim 1997, Kim et al. 2005).

Die Fische der Gattung *Lefua* in Korea sind morphologisch ähnlich den Fischen der gleichen Gattung in Japan. Sie zeigen unterscheidbare Charakteristika, die bereits in früher Lebensphase erscheinen. Diese Studie dient dazu die Unterschiede der Charakteristika der Gattung *Lefua* zwischen Korea und Japan zu untersuchen.

Schmerlen der Gattung *Lefua* in Japan lebend beinhalten 5 Spezies: *L. costata*, *L. nikkonis*, *L. echigonia*, *L. torrentis* und *L. tokaiensis* (Hosoya 2019). Im Falle von *L. torrentis* zeigte bereits die Publikation von Aoyama & Doi (2011) unterscheidende morphologische Begebenheiten im Kopfbereich und unterschiedliche Anordnungen von Melanophoren in der frühen Entwicklungsphase auf. Außerdem wurde befunden, daß *L. sp.* im selben Wasserlauf lebt wie *L. echigonia*, aber *L. echigonia* lebt in Feuchtgebieten und *L. sp.* in bergigen Talarealen. Später wurde *L. sp.* von Hosoya et al. (2018) als neue Art – eben *L. torrentis* – beschrieben.

Frühe Lebensphasen von *L. costata* wurden nur von Uchida (1939) aufgezeigt. Es ist notwendig die Charakteristika früher Lebensphasen während ihrer Entwicklung klar darzustellen.

Daher zielt unsere Studie darauf ab die frühen Lebensphasen, also die Eientwicklung und die Fischlarvenmorphologie von *L. costata* zu observieren und die Ergebnisse mit denen verwandter Spezies zu vergleichen, um diese als Basisdaten für taxonomische Studien zu nutzen.

Material und Methoden

1. Gewinnung der Elterntiere

Ein Laicherbestand für diese Studie wurde im Juni 2018 mit einem feststehenden Netz bei Sanguncheon, gelegen in Sonyang-myeon, Yangyang-gun, Gangwon-do gefangen und dann zum Laboratorium transportiert.

Die Elterntiere wurden in einem quadratischen Wassertank (1×1×1 m) gehältert, zur Zucht wurden sie in eine Anlage mit Gerinnen gebracht und gefrostete Schwarze Mückenlarven wurden zweimal am Tag als Futter verabreicht (Hikari, Japan), die Wassertemperatur betrug 22-24 °C (im Mittel 23±1 °C).

2. Induktion des Abblaus

Von den Elterntieren hatten die Weibchen eine Totallänge von 7-9 cm und ein Gewicht von 4-5 g ($n=10$) und die Männchen hatten eine Totallänge von 5-7 cm und ein Gewicht von 2-3 g ($n=20$). Um ein natürliches Abblaus zu induzieren wurden Männchen und Weibchen mit einem Anästhetikum (MS-222, Ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) betäubt. Dann wurde ein Sexualhormon (LHRH, Syndel, Nanaimo, Canada) für die Reifung in die Muskulatur injiziert, dies auf der Basis von 0.5 mL per kg Fischgewicht. Um zu stimulieren wurde die Wassertemperatur im Behälter auf 23-25 °C (im Mittel 24±1 °C) erhöht.

3. Eientwicklung und Fischlarvenmorphologie

Für die befruchteten Eier wurde eine Wassertemperatur von 24-26 °C (im Mittel 25±1 °C) aufrechterhalten. Um die Eientwicklung zu beobachten wurden nach dem Zufallsprinzip 30 Eier ausgewählt und mit einem Stereomikroskop (JP SMZ800, Nikon, Tokyo, Japan) untersucht und auf die obere 0,01 mm Skala genau vermessen mittels eines universalen Projektors (JP V-12BM, Nikon). Zur Ernährung der Fischlarven wurden mit dem 15. Tag nach dem Schlüpfen Naupliuslarven von *Artemia sp.* gegeben. Von da an wurde Trockenfutter (350 µm, Jeilfeed, Daejeon, Korea) in passender Form angeboten.

Um die morphologischen Charakteristiken der ausgewählten juvenilen Fische zu beschreiben wurde die externe Morphologie von fünf Exemplaren mit einem Stereomikroskop sofort nach dem Schlupf untersucht und die Größe wurde auf die obere 0,01 mm Skala genau gemessen mit einem Universalprojektor. Wir folgen hinsichtlich der Kriterien für verschiedene Entwicklungsstufen von Fischlarven der Arbeit von Okiyama (1988). Ontogenetische Melanophorenanordnungen wurden an 8 ausgewählten Regionen für jede Größengruppe beobachtet (Abb. 1).

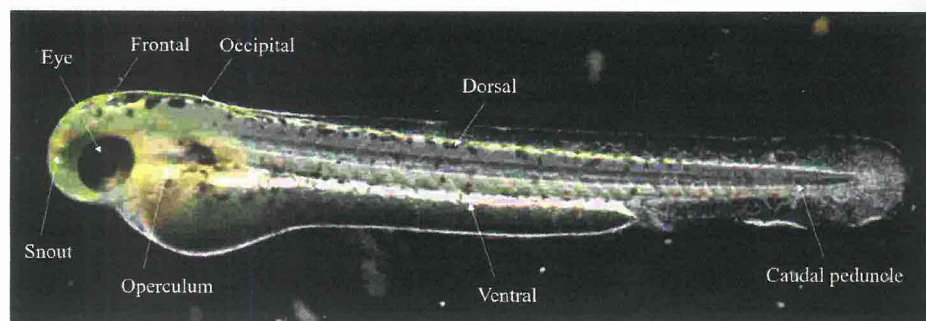


Abb. 1: Die Regionen für die Beobachtung der Melanophoren der Larven und Juvenilen von *Lefua costata*. Eye Auge, Frontal Stirn, Occipital Hinterhaupt, Dorsal dorsal, Snout Schnauze, Operculum hier: Kiemenbereich, Ventral ventral, Caudal peduncle Schwanzstiel.

Ergebnisse

1. Anzahl und Charakteristika abgeleiteter Eier

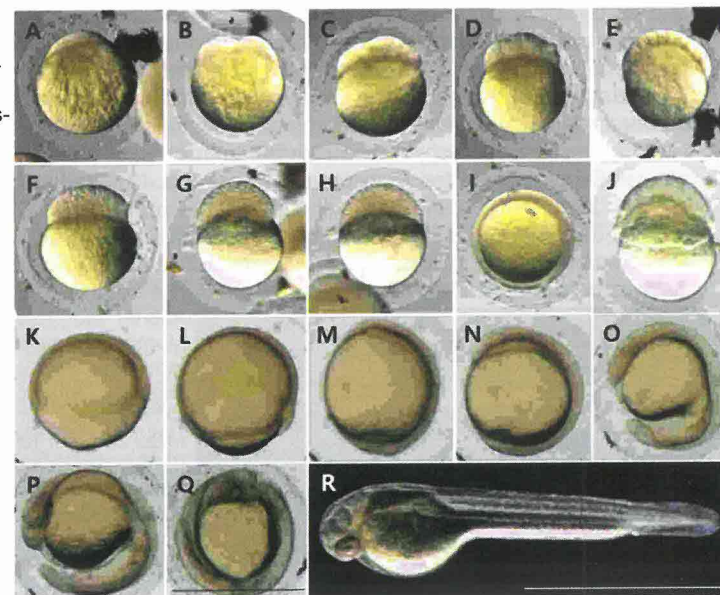
Die Laichabgabe eines Weibchens belief sich auf ca. 900-1200 Eier (im Mittel 1050 ± 150). Die Eier waren von leicht grüner Farbe und von komplett runder Form und erwiesen sich als haftende demersale Eier mit einer Klebefähigkeit an der Oberfläche. Die Eigrößen betrugen 1,15-1,27 mm (im Mittel $1,21 \pm 0,06$ mm, $n=30$).

2. Eientwicklung

30 Minuten nach der Befruchtung (after fertilization, AF) war das Blastoderm auf dem oberen Teil des Eidotters ausgebildet (Abb. 2A) und es erreichte die 2-Zell-Stufe als die Furchung am Animalpol innerhalb einer Stunde AF erschien (Abb. 2B). Ca. 1 Stunde 30 Minuten AF erreichte es die 4-Zell-Stufe als die meridionale Furchung in derselben Größe erscheint (Abb. 2C). Ca. 2 Stunden AF, erreichte es die 8-Zell-Stufe in derselben Weise (Abb. 2D) und es erreichte die 16-Zell-Stufe ca. 2 Stunden 30 Minuten AF (Abb. 2E). Ca. 3 Stunden AF erreichte es die 32-Zell-Stufe als die Anzahl der Zellteilungen zunahm (Abb. 2F) und bei 3 Stunden 30 Minuten AF erreichte es die 64-Zell-Stufe (Abb. 2G). Ca. 4 Stunden AF erreichte es eine Stufe, bei der die einzelnen Zellen sich kaum noch zählen ließen und bei der sich die einzelnen Zellen lösten (Abb. 2H). Ca. 6 Stunden 30 Minuten AF erreichte es das Blastula-Stadium (Abb. 2I) und bei 9 Stunden AF erreichte es das frühe Gastrula-Stadium zu einem Zeitpunkt als das Blastoderm vom animalen Pol aus bis zum vegetalen Pol abdeckte (Abb. 2J). Ca. 10 Stunden 30 Minuten AF war die Hälfte des Eis mit Blastodermis bedeckt und es erreichte das mittlere Gastrula-Stadium (Abb. 2K) und bei 12 Stunden AF war 90 % bedeckt womit das späte Gastrula-Stadium erreicht wurde (Abb. 2L). Ca. 14 Stunden AF war die Blastophore geschlossen

Abb. 2:

Entwicklung der Eier von *Lefua costata*. Maßstabsleiste = 1,00 mm. Die für jede Entwicklungsstufe benötigte Zeit ist in Tab. 1 ersichtlich.



Tab. 1: Eientwicklung von *Lefua costata* bei 25 ± 1 °C Wassertemperatur.

Stadium	Zeit vergangen	Charakteristika	Abb.2
Zellteilungsperiode			
Blastoderm	0 h 30 min	Blastoderm ist gebildet	A
2 Zellen	1 h 00 min	2-1 Anordnungen an Blastomeren	B
4 Zellen	1 h 30 min	2-2 Anordnungen an Blastomeren	C
8 Zellen	2 h 00 min	2-4 Anordnungen an Blastomeren	D
16 Zellen	2 h 30 min	4-4 Anordnungen an Blastomeren	E
32 Zellen	3 h 00 min	4-8 Anordnungen an Blastomeren	F
64 Zellen	3 h 30 min	8-8 Anordnungen an Blastomeren	G
Morula	4 h 00 min	Die Blastomeregröße ist kleiner	H
Blastula	6 h 30 min	Die Blastomerenfläche bedeckt das Eidotter	I
Gastrulation 1/3	9 h 00 min	bedeckt 1/3 des Eidotters	J
Gastrulation 2/3	10 h 30 min	bedeckt 2/3 des Eidotters	K
Gastrulation 3/3	12 h 00 min	bedeckt 3/3 des Eidotters	L
Embryonale Periode			
	14 h 00 min	Entwicklung des Embryos	M
	19 h 00 min	Entwicklung des Kupffer'schen Vesikels	N
	30 h 00 min	Ohrbläschen erscheint und hinterer Körper lang	O
Embryo kurz vorm Schlupf	33 h 00 min	Schnellere Bewegungen des embryonalen Körpers	P
Schlüpfperiode	42 h 00 min	Schlupf beginnt	Q
	48 h 00 min	50% sind geschlüpft	R

und es bildete sich ein embryonaler Körper (Abb. 2M). Ca. 19 Stunden AF bildete sich das Optische Vesikel, 10 Myotome ebenfalls und das Kupfer'sche Vesikel (Fig. 2N). Ca. 30 Stunden AF war das Kupfer'sche Vesikel verschwunden. Als der Schwanzbereich länger wurde begann der Embryo sich vom Eidotter zu lösen und es war zu beobachten wie Blut vom Herzen entlang des Eidotters floss (Abb. 2O). Ca. 33 Stunden AF verlängerte sich der Schwanzbereich bis zum oberen Teil des Kopfes und es kam zu aktiven Bewegungen des Embryos (Abb. 2P). Ca. 42 Stunden AF begannen Melanozyten sich in den Augen anzusammeln und der Schlupf startete als der Embryo vom Kopf aus die Eimembran durchstieß (Abb. 2Q). Ca. 48 Stunden AF waren mehr als 50 % der Embryos aus den befruchteten Eiern geschlüpft (Abb. 2R).

3. Morphologie der Fischlarven

Abb. 3:
Morphologische Entwicklung der Dottersacklarven, der Postflexion-Larven und der Juvenilen von *Lefua costata*.

(A) Frisch geschlüpfte Dottersacklarven, im Mittel 2,81 mm Totallänge (TL),
(B) 1 Tag nach dem Schlüpfen (days after hatching, DAH), im Mittel 3,79 mm TL,
(C) 8 DAH, im Mittel 9,43 mm TL,
(D) 15 DAH, im Mittel 13,0 mm TL,
(E) 20 DAH, im Mittel 15,5 mm TL,
(F) 26 DAH, im Mittel 18,5 mm TL,
(G) 31 DAH, im Mittel 22,3 mm TL.
Maßstabsstriche = 1,00 mm.

Sofort nach dem Schlupf (after hatching, AH) betrugen die Totallängen (TL) der Larven 2,70-2,93 mm (im Mittel 2,81±0,11 mm, n=5), ihre Mäuler und After waren nicht geöffnet, sie besaßen noch Eidotter und der gesamte Körper war umgeben von einem embryonalen Flossensaum. Melanozyten waren in den Augen enthalten und der Körper lag seitwärts ohne Schwimffähigkeit am Grund. Schwanzbewegungen konnten beobachtet werden (Abb. 3A).

Am ersten Tag AH betrugen die Totallängen der Dottersacklarven 3,71-3,87 mm (im Mittel 3,79±0,08 mm, n=5) und verzweigte Melanozyten waren auf den oberen Teilen von Kopf, Körper und den oberen Teilen der Dottersäcke zu sehen. Die im Auge gelagerten Melanozyten wurden dunkler und der After begann sich zu öffnen (Abb. 3B).

Am 8. Tag AH maßen die Postflexion-Larven 8,97-9,90 mm TL, im Mittel 9,43±0,46 mm, n=5), 7 Flossenstrahlen hatten sich

hatten sich in der differenzierten Dorsale entwickelt und 4 Flossenstrahlen hatten sich

entwickelt als die Analflosse begann sich zu differenzieren. Der hintere Teil des Notochords war zu 45° aufwärts gebogen und 16 Flossenstrahlen hatten sich in der Schwanzflosse gebildet. Die unpaaren Flossen waren noch im undifferenzierten larvalen Flossensaum gelegen und die dorsalen, analen und caudalen Flossen waren noch mit einem larvalen Flossensaum verbunden, hatten aber eine starke Anbindung an den Körper. Die Melanozyten oberhalb auf dem Körper gelegen wurden punktförmiger und verschwanden zumeist im seitlichen Bereich des Körpers. Einige verblieben im Kopf- und vorderen Bereich des Rumpfes (Abb. 3C).

Am 15. Tag AH maßen die Postflexion-Larven 12,2-13,8 mm TL (im Mittel 13,0±0,80 mm, n=5) und die Anzahl der Flossenstrahlen erhöhte sich auf 9 Dorsalstrahlen und 6 Analstrahlen und 3 Flossenstrahlen formten sich in jeder Ventraiflosse. Die dorsalen, analen, caudalen und ventralen Flossen waren alle separat erkennbar einschließlich der Zwischenhäute und die Caudale war noch mit einer oberen und unteren larvalen Flossenmembran mit dem Schwanzstiel verbunden. Im Bereich des Abdomens war eine zylinderrörmige und zweigeteilte Schwimmblase zu erkennen, diese ermöglichte es abwechselnd in mittleren Wasserschichten eine schwebende Position einzunehmen und zu schwimmen. Zwei Bartelpaare formten sich um die Maulpartie (Abb. 3D).

Am 20. Tag AH maßen die Postflexion-Larven 14,8-16,3 mm TL (im Mittel 15,5±0,75 mm, n=5) und die Anzahl der Strahlen je Flosse erhöhte sich auf 12 dorsale, 10 anale und 17 caudale und 3 formten sich in den ventralen Flossen aus. Die Melanozyten waren verstreut in der Form von kleinen Flecken im Bereich der oberen Kiemen und der Seitenlinie (Abb. 3E).

Am 26. Tag AH maßen die Juvenilen 17,7-19,4 mm TL (im Mittel 18,5±0,85 mm, n=5) und die Anzahl der Strahlen je Flosse erreichte die volle Anzahl und die Anzahl der Barteln erhöhte sich auf 4 Paare. Die Barteln der oberen und unteren Reihen waren kürzer als die in den Mittelreihen liegenden (Abb. 3F).

Am 31. Tag AH maßen die Juvenilen 21,5-23,2 mm TL (im Mittel 22,3±0,85 mm, n=5) und die Flossenformel für die Dorsale lautet IV.8 und für die Anale III.8 und die Melanozyten sind in der Form unregelmäßig verteilter kleiner Flecken entlang der mittleren Körperregion und der Seitenlinie vorhanden, so dass sich ein horizontales Band bildet und die äußere Gestalt gleicht den Elterntieren (Abb. 3G).

Tab. 2.

Totallängen (TL) und Körperlängen (KL) (mm) in verschiedenen Entwicklungsphasen von jungen *Lefua*-Spezies. 1) Present study, 2) Uchida (1939), 3) Aoyama & Doi, *TL von *L. echigonina*.

Stadium	<i>Lefua costata</i> ¹⁾ in Sanguncheon, Korea (TL, mm)	<i>L. costata</i> ²⁾ (TL, mm)	<i>L. echigonina</i> ³⁾ in Kako river, Japan (KL, mm)	<i>L. sp. (L. torrentis)</i> ³⁾ in Kako river, Japan (KL, mm)
Geschlüpfte Larven	2,70-2,93 (2,81)	3,9	2,56-2,60*	3.28-4.28
Dottersacklarven	3,71-3,87 (3,79)	-	-	5.16-5.56
Preflexion-Larven	4,55-4,74 (4,64)	4,1	4,21-4,92	5.78-6.19
Flexion-Larven	5,94-6,23 (6,08)	-	5,46-7,64	6.17-8.75
Postflexion-Larven	8,97-9,90 (9,43)	5,5	7,23-1,3	8.74-11.0
Juvenile	17,7-19,4 (18,5)	17,5	12,3-13,0	11.4-12.9

Diskussion

Die Eier von *L. costata* sind demersal mit anhaftender Eigenschaft und zeigen damit die gleiche Eigenschaft wie bei *M. mizolepis*, *Kichulchoia multifasciata* und *Koreocobitis naktongensis*, welche zu den Cobitidae gehören (Kim et al. 1987, Kim & Lee 1995, Song et al. 2009). Die Größe eines Eies von *Lefua costata* beträgt 1,15-1,27 mm (im Mittel 1,21±0,06 mm, n=30), was ähnlich zum mittleren Wert von 1,12 mm bei *M. mizolepis* liegt (Kim et al. 1987) und anderen cobitiden Fischen ist. Aber kleiner als die gemittelten Werte von 2,50 mm bei *K. multifasciata* (Kim & Lee 1995). Sofort nach dem Schlupf (after hatching, AH) maßen die Larven 2,70-2,93 mm Totallänge (TL) (im Mittel 2,81±0,11 mm, n=5), jedoch Uchida (1939) verzeichnete die TL von 3,90 mm. Angesichts dessen, dass der obere Teil des Kopfes am Ende des Dottersackes mit dem embryonalen Flossensaum verbunden ist [Anmerkung des Übersetzers: so dass sich unterschiedliche Ansätze für die Längenmessungen vorlagen? An dieser Stelle unverständliche Formulierung der Autoren] und Melanozyten an keiner Stelle eingelagert sind (außer in den Augen), so sind die morphologischen Charakteristika nicht signifikant unterschiedlich zu den Ergebnissen unserer Studie.

In unserer Studie verglichen wir die morphologischen Charakteristika der Larven von *L. costata* mit den verwandten Spezies (wie den japanischen *L. echigonia* und *L. torrentis*). Die Körperlängen (KL) geschlüpfter Larven von *L. echigonia* und *L. torrentis* betragen 2,56-2,60 mm und 3,28-4,28 mm respektive, diese sind größer als bei *L. echigonia* aber kleiner als bei *L. torrentis*, wie die in Tab. 2 angeführten mittleren Größen der beiden Spezies zeigen. Die Melanozyten waren in den Augen frisch geschlüpfter Larven von *L. costata* generell vorhanden, aber bei *L. echigonia* und *L. torrentis* fehlten sie. Die Dottersacklarven von *L. costata* maßen 3,71-3,87 mm und zweigförmige Melanozyten lagerten in oberen Teilen von Kopf und Rücken und auch obig am Dottersack und im Schwanzbereich. *L. torrentis* lag bei 5,16-5,56 mm KL und zweigförmige Melanozyten lagerten auch hier in oberen Teilen von Kopf, Rücken und auch obig am Dottersack und im Schwanzbereich und die Verteilung und Positionierung war ähnlich wie bei *L. costata*. Unterschiedlich war in der Dottersackperiode, dass *L. torrentis* einen Dottersack, ein offenes Maul und entwickelte pectorale Flossen besaß, wohingehend in der gleichen Entwicklungsstufe *L. costata* weder ein offenes Maul noch entwickelte Pektoralen besaß, womit ein deutlicher morphologischer Unterschied gegeben ist.

Die Preflexion-Larven von *L. costata* waren 4,55-4,74 mm lang (TL) und die Melanozyten im oberen Teil des Kopfes waren weit gestreut. In dieser Periode war das Maul offen und die pectoralen Flossen entwickelt. Die Preflexion-Larven von *L. echigonia* maßen 4,21-4,92 mm KL und der obere Teil des Kopfes hatte fleckenförmige Melanozyten, welche kleiner sind als die zweigförmigen Melanozyten, die über den ganzen Körper verteilt sind. Die Preflexion-Larven von *L. torrentis* maßen 5,78-6,19 mm KL und beide Formen an Melanozyten – kleine fleckenförmige und zweigförmige – waren im oberen Teil des Kopfes vorhanden, so dass die Verteilung der Melanozyten in den Körperregionen in der Preflexion-Periode als intermediär zwischen *L. costata* und *L. echigonia* bezeichnet werden kann.

Die Flexion-Larven von *L. costata* maßen 5,94-6,23 mm TL und die Größe der Melanozyten im Rumpfbereich und am oberen Teil des Dottersackes verringerte sich und im hinteren Schwanzwurzelbereich begann sich das Ende der Chorda dorsalis um 45° nach oben zu biegen und die Flossenstrahlen entwickelten sich in der Caudale. Die Flexion-Larve von *L. echigonia* maßen 5,46-7,64 mm KL und die Größe der kleinen fleckenförmigen Melanozyten am oberen Teil des Kopfes nahm zu und sie waren weit verteilt entlang der oberen Region der Kiemen und im mittleren Bereich des Körpers. Die

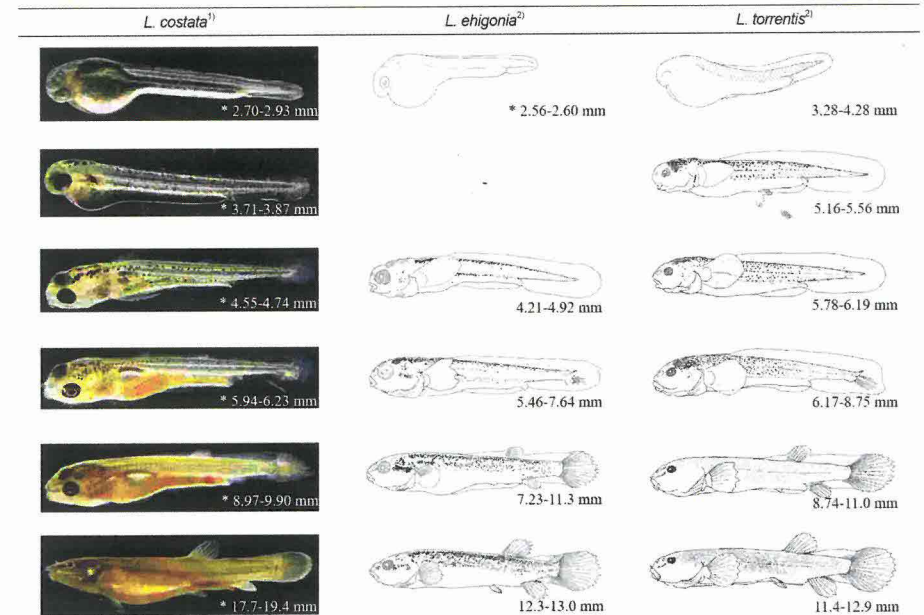


Abb. 4: Vergleich der Melanophorenverteilung bei den Larven und Juvenilen von Fischen der Gattung *Lefua*. **L. costata* und *L. echigonia*, frisch geschlüppte Larven, Totallängen; *L. echigonia* und *L. torrentis*, Körperlängen. 1) Diese Studie, 2) Aoyama & Doi (2011) (mit CC-BY-Erlaubnis). Von oben nach unten: geschlüppte Larven, Dottersacklarven, Preflexion-Larven, Flexion-Larven, Postflexion-Larven, Juvenile.

Flexion-Larven von *L. torrentis* maßen 6,17-8,75 mm in KL und die Melanozyten im Bereich des oberen Teils des Kopfes waren in gleicher Größe vorhanden und der Verteilungsbereich an Melanozyten im mittleren und vorderen Teil des Körpers erweiterte sich. Die Flexion-Larven von *L. costata* hatten eine ähnliche Form an Melanozyten am oberen Teil der Kiemen wie bei denen von *L. torrentis*, wohingegen im Unterschied dazu bei den Flexion-Larven von *L. echigonia* die Melanozyten weit über den Körper verbreitet waren.

Die Postflexion-Larven von *L. costata* hatten eine KL von 8,97-9,90 mm und die Größe der zweigförmigen Melanozyten am oberen Teil des Kopfes verringerte sich und jede Flosse war als solche erkennbar ausgebildet, wobei auch zu beobachten war wie sich die Flossenstrahlen in der Dorsale und Anale sich entwickelten. Die Postflexion-Larve von *L. echigonia* hatten eine KL von 7,23-11,3 mm und die am oberen Teil der Kiemen, in der Mitte des Körpers und in der Rückenpartie waren mehr verbreitet und die Flossenstrahlen waren in den dorsalen und analen Flossen ausgebildet. Die Postflexion-Larven von *L. torrentis* hatten eine KL von 8,74-11,0 mm und die Melanozyten am oberen Teil des Kopfes, der Körpermitte und der Rückenpartie liegend wurden kleiner und waren kleinfleckig. Diese Melanozyten waren über den ganzen Körper verteilt, aber nicht am Schnauzendach und am oberen Teil der Kiemen. Das Entwicklungsmuster für die Melanozyten während der Postflexion-Periode war ähnlich zu dem von *L. torrentis*. Während dieser Periode bildeten sich die larvalen Flossensäume um die Dorsale, Anale und Caudale zurück, dies war bei den nahe verwandten Spezies ebenso.

Juvenile von *L. costata* messen 17,7-19,4 mm TL und die Form der Melanozyten war ähnlich der der adulten Fische. Ein Paar Barteln war in den Nasengruben entwickelt und drei Paare Barteln um das Maul herum. Juvenile von *L. echigonia* haben eine KL von 12,3-13,0 mm und die meisten Melanozyten befanden sich unregelmäßig verteilt auf der oberen Hälfte des Körpers. Ein Paar Barteln befand sich bei den Nasengruben und drei Paare an Barteln fanden sich um das Maul herum an. Juvenile von *L. torrentis* messen 11,4-1,9 mm KL und kleine fleckenförmige Melanozyten waren gleichmäßig verteilt über den Körper. Ein Paar bartelige Fortsätze hatten sich bei den Nasengruben entwickelt und drei Paar Barteln um das Maul herum. Sowohl bei den in die juvenile Periode kommenden und in der Entwicklung weiter fortgeschrittenen *L. costata* als auch den nah verwandten Spezies waren alle unpaaren Flossen – Dorsale, Anale, Caudale – separat vorhanden mit kaum oder gar nicht mehr bestehenden larvalen Flossen-saumresten und die Anzahl der Barteln blieb die gleiche (Abb. 4).

Die Arbeit von Aoyama & Doi (2011) wies auf einen äußeren morphologischen Unterschied zwischen den Spezies hin. Demnach ist der Augendurchmesser von *L. echigonia* größer ist als der Abstand zwischen Maul und Nasengruben und *L. torrentis* hat einen Augendurchmesser, der kleiner ist als der Abstand vom Maul zu den Nasengruben. *L. costata*'s Augengröße (0,003-0,005 mm) gleicht dem Abstand vom Maul zu den Nasengruben (0,003-0,005 mm), was einen Unterschied zu *L. echigonia* und *L. torrentis* aufzeigt.

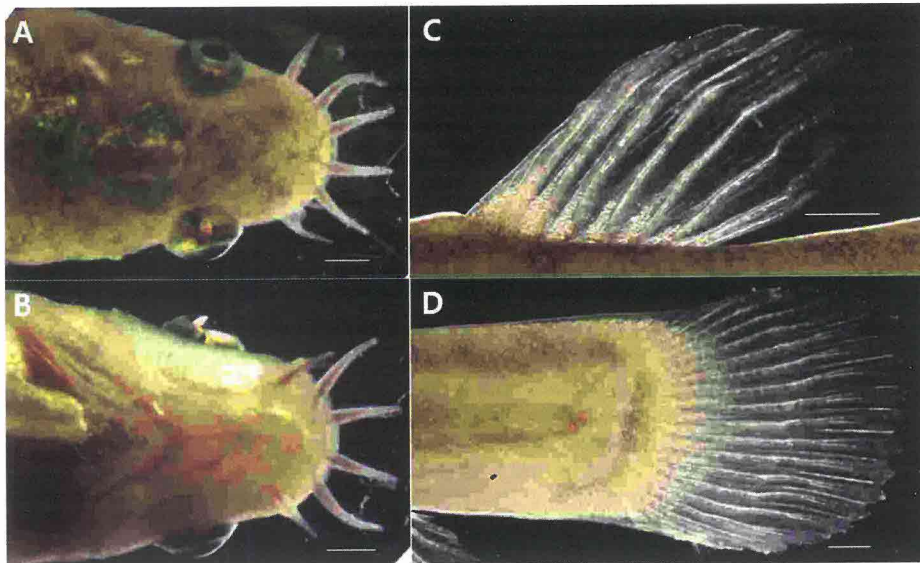


Abb. 5: Pigmentierung und Formen der Kopfes und der dorsalen und caudalen Flossen von *Lefua costata*. (A) Blick von oben, (B) Blick von unten auf den Kopf, (C) Dorsale, (D) Caudale. Maßstabsleiste = 1.0 mm.

Die Kopfform von *L. costata* ähnelt der von *L. echigonia*, aber wenn man bei *L. costata* von oben schaut ragt die Cornea bis außerhalb des Kopfes und dies ist auch von unterhalb des Kopfes so zu sehen. Wenn man bei *L. echigonia* von oben und unten schaut ragt die Cornea bis außerhalb des Kopfes. Im Gegensatz dazu liegt die Cornea von *L. torrentis* innerhalb des Kopfes. Ito et al. (2019) verglichen die Verteilung der Melanozy-

ten in den dorsalen und caudalen Flossen einschließlich der Kopfform mit nahe verwandten Spezies und beschrieben *L. tokaiensis* als neue Spezies. Wenn man dieses Ergebnis vergleicht mit denen von *L. costata*, so ist festzuhalten, dass *L. tokaiensis* die Melanozyten an der Dorsale und Caudale gelagert hat und das dunkle Band beginnt am Anfang der Caudale. *L. echigonia* hat ein Muster an Melanozytenverteilung ähnlich zu dem von *L. tokaiensis*, aber es zeigte sich unterscheidend, dass kein dunkles Band vorhanden war und Melanozyten und dunkle Bänder konnten auch nicht an Dorsale und Caudale beobachtet werden. Unter den nahe Verwandten glichen sich *L. costata* und *L. torrentis* in der Hinsicht, dass keine Melanozyten und dunklen Bänder in den dorsalen und caudalen Flossen vorhanden waren (Abb. 5).

Nach den Ergebnissen unserer Studie hinsichtlich der Merkmale – wie zum einen die Kopfform und zum anderen die Größe der frisch geschlüpften Larven – befindet sich die Spezies *L. costata* zwischen denen der japanischen Spezies *L. echigonia* und *L. torrentis*. Die Verteilung und Lage der Melanozyten wurde als variabel befunden je nach Entwicklungsstand der Fischlarven, aber es wurden Unterschiede zu den nahe verwandten Spezies gefunden, somit wurden Basisdaten für taxonomische Studien bereit gestellt.

Zitierte Literatur

- Aoyama, S. & Doi, T. (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.
- Balon, E.K. (1985): Early life histories of fishes: New developmental, ecological and evolutionary perspectives. - Dr W Junk, Dordrecht, Nederland, 280 pp.
- Blaxter, J.H.S. (1974): The early life history of fish. - Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Germany, 765 pp.
- Hosoya, K. (2019): Japanese freshwater fish, supplemented and revised compiled. - Mountain and Gyeongsha Shrine, Tokyo, Japan, 560 pp.
- Hosoya, K., Ito, T. & Miyazaki, J.I. (2018): *Lefua torrentis*, a new species of loach from western Japan (Teleostei: Nemacheilidae). - Ichthyol. Expl. Freshwater 2: 1-9.
- Ito, T.K., Hosoya, K. & Miyazaki, J.I. (2019): *Lefua tokaiensis*, a new species of nemacheilid loach from central Japan (Teleostei: Nemacheilidae). - Ichthyol. Res. 66: 479-487.
- Kottelat, M. (2012): Conspectus Cobitidum: an inventory of the loaches of the world (Teleostei: Cypriniformes: Cobitoidei). - Raffles Bull. Zool. 26: 1-199.
- Kim, I.S. (1997): Illustrated encyclopedia of fauna and flora of Korea, Vol. 37, Freshwater Fishes. - Ministry of Education, Yeongi, Korea, 629 pp.
- Kim, I.S. & Lee, E.H. (1995): Studies on early embryonic development of *Niwaella multifasciata* (Pisces: Cobitidae). - Korean J. Limnol. 28: 455-462.
- Kim, I.S. & Park, J.Y. (2007): Freshwater fishes of Korea. - Kyohak, Seoul, Korea, 467 pp.
- Kim, I.S., Choi, Y., Lee, C.L., Lee, Y.J., Kim, B.J. & Kim, J.H. (2005): Illustrated book of Korean fishes. - Kyohak, Seoul, Korea, 134 pp.
- Kim, Y.U., Kim, D.S. & Park, Y.S. (1987): Development of eggs, larvae and juveniles of loach, *Misgurnus mizolepis* Güther. - Bull. Korean Fish. Soc. 20: 16-23.
- Nelson, J.S., Grande, T.C. & Wilson, M.V.H. (2016): Fishes of the world. - 5th ed., John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 192 pp.
- Okuyama, M. (2015): An atlas of the early stage fishes in Japan. - Tokai Univ Press, Tokyo, Japan, p 25-43.
- Song, H.Y., Ko, M.H., Seo, I.Y., Moon, S.J. & Bang, I.C. (2017): Morphological development of egg and larvae of *Squalidus multimaculatus* (Gobiioninae). - Korean J. Ichthyol. 29: 52-61.
- Song, H.Y., Yang, H.Y., Cho, E.M., Shin, H.C., Bang, I.C. (2009): Morphological development of egg and larvae of *Koreocobitis naktongensis* (Cobitidae). - Korean J. Ichthyol. 21: 247-252.
- Uchida, K. (1939): The fishes of Tyosen (Korea) part I. Nematognathi, Eventognathi. - Bull. Fish. Exp. St. Gov. Gen. Tyosen 6: 399-458.

Anschriften der Autoren

Siehe S. 4.

