

납자루아과(Pisces: Acheilognathinae) 담수어류 3종의 숙주조개(작은말조개; *Unio douglasiae sinuolatus*) 크기에 대한 산란양상¹

최희규²·이혁제^{3*}

Spawning Patterns of Three Bitterling Fishes (Pisces: Acheilognathinae) in Relation to the Shell Size of Host Mussels (*Unio douglasiae sinuolatus*)¹

Hee-kyu Choi², Hyuk Je Lee^{3*}

요약

본 연구는 2015-2018년 5월 기간 동안 납자루아과 어류의 서식 집단 중 강원도 홍천 내촌천(HN), 덕치천(HD), 정선 골지천(JG) 및 조양강(JJ)을 대상으로 기 개발된 제한절편 길이 다형성(restriction fragment length polymorphism; RFLP) 분자마커를 이용하여 숙주조개 숙 난 및 치어에 대한 정확한 종 동정을 수행 후 납자루아과 어류의 숙주조개 크기에 대한 산란양상을 파악하고자 하였다. 연구대상 지역 내 납자루아과 어류는 내촌천과 골지천에서 1종(묵납자루; *Acheilognathus signifer*), 덕치천에서 3종(각시붕어; *Rhodeus uyekii*, 묵납자루; *A. signifer*, 줄납자루; *Acheilognathus yamatsutae*), 조양강에서 2종(묵납자루, 줄납자루)으로 확인되었고, 네 지역에서 모두 동서하고 있는 숙주조개인 작은말조개(*Unio douglasiae sinuolatus*) 982개체를 채집하였다. RFLP 분자마커를 이용하여 납자루아과 어류의 난 및 치어가 확인된 작은말조개($N=163$; 16.6%)에서 총 646개체의 납자루아과 어류의 난 및 치어(묵납자루 454, 줄납자루 43, 각시붕어 149개체)를 확인하였다. 각 지역 숙주조개 크기에 따른 산란선호도를 조사하기 위해 난 및 치어가 확인된 숙주조개(mussels with [presence] eggs/fry)와 확인되지 않은 숙주조개(mussels without [absence] eggs/fry)의 각장(shell length), 각고(shell height) 및 각폭(shell width)의 평균 크기를 비교하였다. 그 결과 3종의 납자루아과 어류가 동서하는 덕치천의 경우 난 및 치어가 확인된 숙주조개가 확인되지 않은 숙주조개보다 각장(1.98mm), 각고(0.85mm), 각폭(0.73mm)의 크기가 통계적으로 유의하게 크게 나타났으며(Mann-Whitney U tests, $P=0.002$, $P=0.012$, $P=0.009$), 다른 세 개의 지역에서도 난 및 치어가 확인된 조개의 각장, 각고, 각폭의 크기가 큰 결과를 보였으나, 통계적으로 유의하지는 않았다. 추가적으로 종 간 숙주조개 당 평균산란 난 및 치어의 수를 분석한 결과 각시붕어 9.31±5.94개, 묵납자루 2.86±2.45개, 줄납자루 2.50±1.32개로 각시붕어는 묵납자루와 줄납자루보다 숙주조개 당 평균 6.45~6.81개 더 많이 산란하였고, 통계적으로 유의한 결과를 나타내었다(Kruskal-Wallis test, $P<0.001$). 이 결과는 본 연구 대상 납자루아과 어류 3종에서 크기가 큰 작은말조개를 산란을 위한 숙주로서 선호함을 의미하고, 조개 크기에 대한 선호도 차이가 동서하는 납자루아과 종의 수가 많을수록 크게 나타났다. 또한, 묵납자루와 줄납자루의 경우 많은 숙주조개에 적은 양의 난을 추가적으로 고르게 산란하는 반면에 각시붕어는 비교적 적은 수의 숙주조개에 많은 양의 난을 산란하는 번식전략을 나타내었다. 2종 이상의 납자루아과 어류가 서식하는 덕치천(HD)과 조양강(JJ)에서 묵납자루와 줄납자루 2종이 동일한 조개에 산란하는 것이 관찰되었다($N=4$). 이는 납자루아과 어류가 2종 이상 동서할 때, 동일한 자원인 작은말조개를 자신의 산란숙주로 이용하기 위한 종간경쟁(interspecific competition)이 일어나고 있는 것으로 판단된다. 본 연구에서는 기존 연구된 생태학적 연구에 유전학적인 방법을 추가하여 각 집단 간, 종 간 숙주조개 크기에 대한 산란양상을 보다 정확히 규명하여 숙주조개를 이용하는 납자루아과 어류의 생태적 적응양상을 명확히 파악하고 더 나아가 숙주조개와 납자루아과 어류의 공생(mutualism) 혹은 숙주-기생의 상호관계(host-parasite relationship)를 규명하는데 기여할 수 있을 것으로 기대한다.

주요어: 납자루아과, 공진화, 숙주-기생 관계, 공생, 산란양상

1 접수 2019년 2월 12일, 수정 (1차: 2019년 3월 11일), 게재확정 2019년 3월 11일

Received 12 February 2019; Revised (1st: 11 March 2019); Accepted 11 March 2019

2 상지대학교 생명과학과 석사후연구원 Dept. of Biological Science, Sangji Univ., 83 Sangidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Korea

3 상지대학교 생명과학과 부교수 Dept. of Biological Science, Sangji Univ., 83 Sangidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Korea

* 교신저자 Corresponding author: hyukjelee@sangji.ac.kr

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the spawning preference of the Acheilognathinae fishes in relation to the shell size of host mussels after identifying the species of eggs and fries in the host mussel using our recently developed RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) molecular marker at four sites [Hongcheon Naechoncheon (HN) and Deokchicheon (HD) from the North Han River basin and Jeongseon Golljicheon (JG) and Joyanggang (JJ) from the South Han River] in South Korea during May in each year between 2015 and 2018. The Acheilognathinae fish observed in the studied sites included one species (*Acheilognathus signifer*) in HN and JG, three species (*Rhodeus uyeckii*, *A. signifer*, and *Acheilognathus yamatsutae*) in HD, and two species (*A. signifer* and *Acheilognathus yamatsutae*) in JJ, and we collected 982 host mussels (*Unio douglasiae sinuolatus*) that inhabited in all four sites. Using the RFLP molecular marker, we confirmed 46 eggs and fry of the Acheilognathinae fish (454 *A. signifer*, 43 *Acheilognathus yamatsutae*, and 149 *Acheilognathus yamatsutae*) in *Unio douglasiae sinuolatus* ($N=163$; 16.6%). We compare the average shell length, shell height, and shell width of mussels with [presence] eggs/fry and mussels without [absence] eggs/fry to examine the spawning preference according to the size of host mussels in each site. The results show that the shell length (1.98 mm), shell height (0.85 mm), and shell width (0.73 mm) of mussels with the eggs/fry were significantly larger (Mann-Whitney U test, $P=0.002$; difference=1.98 mm) than those of mussel without eggs/fry in HD where three species cohabitated. Although the shell length, shell height, and shell width of mussels with the eggs/fry were larger also in the other three sites, the difference was not statistically significant. In addition, we analyzed the mean number of spawned eggs and fry of each species and found 9.31 ± 5.94 *R. uyeckii*, 2.86 ± 2.45 *A. signifer*, and 2.50 ± 1.32 *A. yamatsutae*. *R. uyeckii* spawned 6.45-6.81 more eggs than *A. signifer* and *A. yamatsutae* on average per mussel, and it was statistically significant (Kruskal-Wallis test, $P < 0.001$). These findings indicate that the three species of Acheilognathinae fish tend to prefer larger mussels as their spawning hosts, and this tendency increases when the number of cohabitating bitterling fish species increases. Moreover, *A. signifer* and *A. yamatsutae* spawned a smaller number of eggs evenly in more host mussels while *R. uyeckii* spawned many eggs on relatively fewer mussels. We found mussels ($N=4$) having the eggs/fry of two coexisting species, *A. signifer* and *A. yamatsutae* in HD and JJ where more than two bitterling fish species occurred. It suggests the interspecific competition taking place between the Acheilognathinae fishes for utilizing the same resource of mussels for spawning when two or more species cohabitate. This study is expected help to understand better the spawning patterns and reproductive ecology of the Acheilognathinae fishes, which will provide insightful information for advancing our understanding of their ecological relationships - mutualism or host-parasitism - with host mussels.

KEY WORDS: ACHEILOGNATHINAE FISHES, COEVOLUTION, HOST-PARASITE RELATIONSHIP, MUTUALISM, SPAWNING PATTERNS

서론

어류는 다양하고 독특한 방식의 산란전략(reproductive strategy) 진화를 다양하게 함으로써 종의 멸종을 피하는 방향으로 분화되어 왔다(Balon, 1985). 여러 가지 산란전략 중 잉어과(Cyprinidae) 납자루아과(Acheilognathinae)는 담

수산 석패과(Bivalvia; Unionidae) 패류의 아가미 안에 산란하여 생존율이 낮은 생활사의 초기단계를 숙주조개 안에서 발생함으로써 다른 잉어과 어류보다 적은 수의 산란으로도 생존율을 높일 수 있는 독특한 생물학적 특성을 가지고 있다(De Wit, 1955; Zale and Neves, 1982; Aldridge, 1999). 납자루아과 어류는 몸이 납작하고 체고가 높은 소형 담수

어류로서 전 세계에 약 40여종이 보고된 바 있으며(Bogutskaya and Komlev, 2001; Damme *et al.*, 2007), 그 중 우리나라에는 2속 14종이 기록되어 있다(Kim and Park, 2002). 납자루아과 어류의 수컷은 산란시기에 화려한 혼인 색을 나타내며, 숙주조개 주위에서 자신의 영역을 방어하고 암컷을 유인한다. 암컷은 긴 산란관을 발달시켜 숙주조개의 출수공을 통해 아가미 안에 산란한다. 산란 직후 수컷은 숙주조개의 입수공에 자신의 정자를 방출하고, 숙주조개의 호흡에 의해 조개 속으로 정자가 옮겨지며, 조개 내에서 난의 수정이 일어난다(Smith *et al.*, 2004). 반대로 숙주조개는 납자루아과 어류가 자신의 아가미에 산란하는 순간 유생인 글로키디움(glochidium)을 방출하여 납자루아과 어류의 아가미, 지느러미 등에 부착시켜 분산 능력(dispersal capacity)을 높이는 생활사 전략(life history tactic)으로 진화하여, 납자루아과 어류와 숙주조개의 관계를 공생(symbiosis)의 관점으로 보고 된 바 있다(John *et al.*, 1997). 하지만, 최근 납자루아과 어류보다 잉어과(Cyprinidae)와 망둑어과(Gobiidae)에 부착된 글로키디움이 더 많이 관찰되었고, 숙주조개가 납자루아과 어류의 난을 배출하려하는 난출현상이 확인된 바 있다(de Wit, 1955; Reichard *et al.*, 2010). 특히, Reichard *et al.* (2011)은 납자루아과 어류와 숙주조개 간 상호작용을 기존에 알려져 왔던 상리공생(mutualism)에 의한 공진화(coevolution) 관점에서 숙주-기생의 상호관계(host-parasite relationship)로의 새로운 가설을 제기하였으나 보다 명확한 이해를 위해서는 추후 이 주제에 대한 많은 연구가 요구된다.

국내의 경우 멸종위기야생생물Ⅱ급인 묵납자루를 대상으로 자연상태와 실험실실험을 통해 숙주조개 종에 대한 산란 비율, 산란수의 관계를 분석하고, 숙주조개에 대한 숙주특이성(host specialization) 또는 종 선호도를 파악하기 위한 연구가 주로 진행되었다(Kim *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2014). 이러한 연구에서 숙주조개 속 난의 동정은 패트리디쉬에 직접 발생과정을 현미경으로 관찰하여 수행하였고, 최근에도 국내의 납자루아과 어류의 난에 대한 분류는 난의 유형, 크기, 발생과정을 직접 관찰을 통하여 조사하였다(Park *et al.*, 2018). 납자루아과 어류의 난은 같은 종의 경우에도 숙주조개의 크기와 산란시기에 따라 길이와 모양이 달라진다고 보고된바 있다(Kitamura, 2006, 2007; Kitamura *et al.*, 2012). 따라서, 납자루아과 어류의 산란양상을 명확히 파악하기 위해서는 숙주조개 속 난의 정확한 동정에 대한 유전학적 방법의 도입이 필요하다고 판단된다. 최근 PCR (polymerase chain reaction) 기반 RFLP (restriction fragment length polymorphism; 제한절편 길이 다형성) 분자기법을 이용하여 납자루아과 어류 3종 각시붕어(*Rhodeus uyekii*), 묵납자루(*Acheilognathus signifer*) 및 줄납자루(*Acheilognathus yamatsutae*)의 난 및 치어를 대상으로 정

확한 동정을 수행한 연구가 진행되었고(Choi and Lee, 2018), 이러한 연구방법을 이용할 경우 납자루아과 어류의 산란양상과 번식생태를 보다 명확히 이해하는데 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 납자루아과 어류의 서식지인 강원도 홍천군 내촌천(HN), 덕치천(HD)과 정선군 골지천(JG) 및 조양강(JJ)을 대상으로 숙주조개인 작은말조개(*Unio douglasiae sinuolatus*)를 채집하였고, 기 개발된 RFLP 분자마커를 이용하여 숙주조개 속 난 및 치어에 대한 정확한 종 동정을 수행하고 그 결과를 기반으로 납자루아과 어류의 숙주조개에 대한 종간경쟁의 가능성을 확인하고, 같은 서식처에서 동일한 자원인 작은말조개를 공유하는 납자루아과 어류 3종의 크기에 대한 선호도, 산란량의 차이 등 숙주조개에 대한 산란양상을 보다 정확히 규명하여 향후 이들 자연계생태의 효과적인 유지, 관리 및 보전 방법 개발에 활용할 수 있는 과학적 기초 데이터를 제공하고자 한다.

연구방법

1. 연구대상 지역

연구대상 지역인 내촌천(Hongcheon Naechoncheon; HN), 덕치천(Hongcheon Deokchicheon; HD)은 한강대권역, 한강수계, 북한강, 홍천강 본류로 유입되는 지류이며, 골지천(Jeongseon Goljicheon; JG)과 조양강(Jeongseon Joryanggang; JJ)은 한강대권역, 한강수계, 남한강, 동강 본류로 유입되는 지류이다(Figure 1). 본 조사지점은 환경부에서 수행한 제3차 전국자연환경조사(덕치천 유역, 내촌천 하류유역, 정선) 결과를 참고하였고, 연구대상종인 납자루아과 어류가 다수 서식한다고 알려져 있다. 문헌조사와 현지조사 결과를 병행하여 납자루아과 어류 1종 서식이 확인된 상류(HN, JG)와 2종 이상 서식이 확인된 하류(HD, JJ)로 각각 동일한 수계에 합류되는 하천의 상류, 하류로 두 지점씩 총 네 개의 지점을 선정하였다.

Sampling Site 1 (HN): 강원도 홍천군 내촌면 도관리 내촌천 (N 37° 48' 04.56", E 128° 05' 22.52")

Sampling Site 2 (HD): 강원도 홍천군 동면 덕치리 덕치천 (N 37° 41' 52.98", E 127° 55' 41.72")

Sampling Site 3 (JG): 강원도 정선군 여량면 유천리 골지천 (N 37° 28' 22.78", E 128° 43' 46.83")

Sampling Site 4 (JJ): 강원도 정선군 정선읍 용탄리 조양강 (N 37° 22' 03.52", E 128° 37' 14.64")

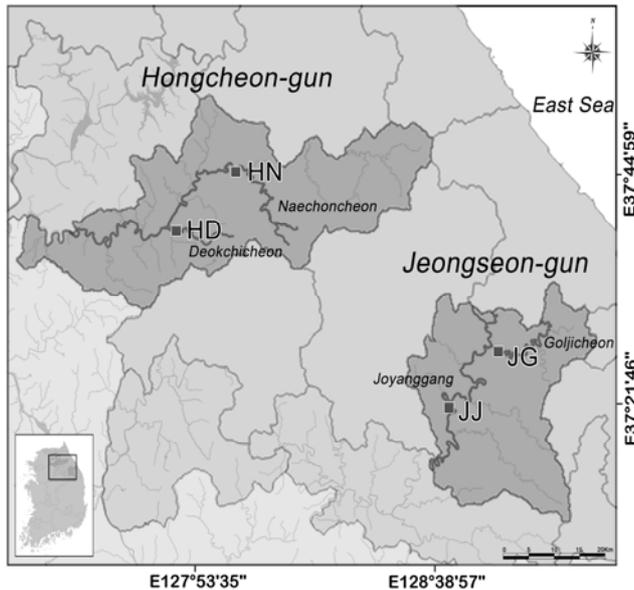


Figure 1. Sampling localities of three Acheilognathinae fishes at four sites in two river basins from South Korea. The study sites included Hongcheon (Naechoncheon; HN 37°48'04.56"N 128°05'22.52"E and Deokchicheon; HD 37°41'52.98"N 127°55'41.72"E) from the North Han River basin and Jeongseon (Goljicheon; JG 37°28'22.78"N 128°43'46.83"E and Joyanggang; JJ 37°22'03.52"N 128°37'17.64"E) from the South Han River.

2. 조사시기

연구대상 지역에 서식하는 납자루아과 어류 중의 산란양상을 알아보기 위해 문헌조사와 현지조사를 수행한 결과 각시붕어, 묵납자루, 줄납자루 3종이 관찰되었다. 조사시기의 선정을 위해 3종의 산란시기를 문헌 조사한 결과, 각시붕어 4~5월, 묵납자루 5~6월, 줄납자루 5~8월로 확인되었다(Song, 1994; Baek, 2005; Kim *et al.*, 2015). 따라서, 3종의 산란시기가 겹치는 5월(2015-2018년)에 시료채집을 실시하였다. 덕치천(HD)과 골지천(JG)의 경우 3회 시료채집을 수행하였으나, 조양강(JJ) 및 내촌천(HN)은 각각 2회와 1회 조사를 수행하였고 연구대상 지역의 조사 시기는 다음과 같다.

2015년 05월 29일 (Hongcheon Deokchicheon; HD)
 2016년 05월 14일 (Jeongseon Goljicheon; JG)
 2016년 05월 14일 (Jeongseon Joyanggang; JJ)
 2017년 05월 27일 (Hongcheon Deokchicheon; HD)
 2017년 05월 27일 (Jeongseon Goljicheon; JG)
 2018년 05월 12일 (Hongcheon Deokchicheon; HD)
 2018년 05월 13일 (Hongcheon Naechoncheon; HN)

2018년 05월 26일 (Jeongseon Goljicheon; JG)

2018년 05월 26일 (Jeongseon Joyanggang; JJ)

3. 조사방법

1) 서식처 내 이·화학적 환경특성

연구대상 지역의 물리·화학적 환경특성을 조사하기 위해 2018년 5월(HD; 12일, HN; 13일, JG; 26일, JJ; 26일) 조사 시 각 서식처의 하폭, 수폭, 하상구조, 수온, DO (용존산소량), pH (수소이온농도) 및 BOD (생물학적 산소요구량) 등을 조사하였으며, 하상구조물의 계측 및 분류는 Cummins (1962)의 방법을 적용하여 Boulder, Cobble, Pebble, Gravel, Silt/Sand의 5단계로 구분하여 상대적인 구성 비율을 측정하였고, 화학적 환경요인은 YSI Pro Plus (Van Walt Ltd, England)를 이용하여 측정하였다.

2) 어류 군집 조사

어류의 채집은 투망(망목 7×7 mm)과 족대(망목 5×5 mm)를 이용하였다. 문헌조사 시 확인된 법정보호종 묵납자루의 채집은 원주지방환경청의 포획허가(2015-17, 2017-10, 2018-6)를 취득한 후 조사를 진행하였으며, 어류의 동정은 기준에 발표된 검색표(Kim, 1997; Kim and Park, 2002)의 분류 체계에 따라 동정하였다. 채집된 어류는 현장에서 동정 및 사진촬영 후 즉시 방류하였다. 연구대상 지역 어류 군집 조사를 통하여 숙주조개를 이용하는 어류 종 및 상대수도(relative abundance)를 파악하였다.

3) 납자루아과 어류의 난 및 치어확보, 숙주조개 서식밀도조사 및 종동정

숙주조개의 채집은 현장에서 주로 손으로 수행하였으며, 각 지역 숙주조개의 서식밀도를 알아보기 위하여 납자루아과 어류의 서식밀도가 높은 하천의 수변부를 대상으로 2m 간격으로 각각 7회씩 방형구조사(1×1 m)를 수행하였다. 채집된 숙주조개는 각각 1개체씩 falcon tube (50 ml)에 넣어 99% 에틸알코올에 고정 후 실험실로 운반하였다. 실험실로 운반된 숙주조개는 납자루아과 어류의 산란선호도를 알아보기 위해 digimatic caliper (0-150 mm; Mitutoyo, Japan)를 이용하여 숙주조개의 각장(shell length), 각고(shell height) 및 각폭(shell width)을 0.01 mm까지 측정하였고 (Figure 2), 아가미 속 난 및 치어를 추출하여 99% 에틸알코올이 들어있는 micro-centrifuge E-tube (1.5 ml)에 넣어 보관하였다.

숙주조개의 종 동정은 채집된 숙주조개의 각각의 집단 간 크기와 모양의 차이가 있는 조개 10개체(HN: N=2; HD: 3; JG: 2; JJ: 3)를 무작위로 선정하여 유전자 분석을 통해

수행하였다. Genomic DNA 추출은 채집한 숙주조개 속 조직 일부(~ 2mm)를 절단하여 G-spin Total DNA Extraction Kit (INTRON Biotechnology, Korea)를 이용하여 추출하였으며, 추출된 DNA는 fluorometer (Invitrogen, USA)를 이용하여 농도를 확인 후 실험에 이용하였다. 미토콘드리아 DNA의 COI 유전자를 대상으로 PCR (polymerase chain reaction)을 통해 유전자 증폭 실험을 수행하였으며, 기존 연구에서 무척추동물을 대상으로 개발된 primers를 이용하였다(Folmer *et al.*, 1994).

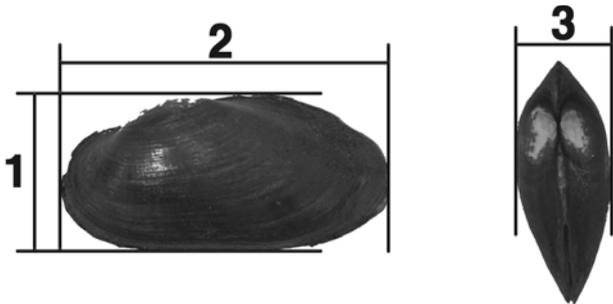


Figure 2. Methods used for estimating shell height, length and width of mussels, *U. douglasiae sinuolatus* in this study (1; shell height, 2; shell length, 3; shell width).

사용된 primer 뉴클레오티드(nucleotide) sequences (5' -3')는 다음과 같다.

COI - FW(LCO1490) (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3')
RV(HC02198) (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3')

미토콘드리아 DNA COI (cytochrome oxidase I) 유전자 염기서열(600 bp)을 확보 후 NCBI (national center for biotechnology information)의 GenBank search 분석 결과 모두 작은말조개(*U. douglasiae sinuolatus*)의 염기서열과 99% 일치하였다. 내촌천을 제외한 나머지 조사지역에서 재첩과(Corbiculidae)의 패류도 같이 관찰되었지만 Song and Kwon (1994)에 의하면 납자루속(genus *Acheilognathus*)과 납줄개속(genus *Rhodesus*)의 어류가 재첩을 숙주조개로 이용하지 않는다는 이전 연구결과가 있어 재첩은 납자루아과 어류의 산란숙주조개 대상 중에서 제외하였다.

4) 납자루아과 어류의 난 및 치어 종 동정을 위한 genomic DNA 추출, 미토콘드리아 DNA PCR 및 RFLP

숙주조개 속 납자루아과 어류의 난 및 치어의 종 동정을 위한 genomic DNA의 추출은 채집한 숙주조개 속 난 및 치어 조직의 일부(~ 2mm)를 절단하여 G-spin Total DNA

Extraction Kit (INTRON Biotechnology)를 이용하여 추출하였으며, 추출된 DNA는 fluorometer (Invitrogen)를 이용하여 농도를 확인 후 실험에 이용하였다.

미토콘드리아 DNA의 COI과 Cyt *b* (cytochrome *b*) 유전자를 대상으로 PCR을 통해 유전자 증폭 실험을 수행하였으며, 기존 연구에서 어류를 대상으로 개발된 primers를 이용하였다(Ivanova *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2014).

사용된 primer 뉴클레오티드(nucleotide) sequences (5' -3')는 다음과 같다.

COI - FW(FF2d) (5'-TTCTCCACCAACCACAARGAYATYGG-3')
RV(FR1d) (5'-CACCTCAGGGTGTCGAARAAAYCARAA-3')
Cyt *b* - FW(Cytb-F) (5'-GAYTTGAAGAACCATCGTTGT-3')
RV(Cytb-R) (5'-CTTCGGATTACAAGACCGATG-3')

숙주조개 속 난 및 치어에 대한 종 동정은 기존 연구된 RFLP분석을 통해 수행하였으며, 각시봉어, 묵납자루 및 줄납자루 3종을 대상으로 개발된 분자마커를 이용하였다(Choi and Lee, 2018). 각각의 유전자 PCR 반응조건 및 종판별을 위한 RFLP 실험 및 분석과정의 자세한 내용은 Choi and Lee (2018)을 참조하였다.

5) 통계분석

각 집단 및 종 간 산란양상을 파악하기 위해 통계분석 프로그램인 IBM SPSS Statistics (Ver. 21)을 이용하여 모 집단의 정규분포와 등분산 가정 여부를 확인하였고, 모수 또는 비모수 통계 방법으로 데이터 분석을 수행하였다. 집단 간 숙주조개의 서식밀도 차이를 알아보기 위해 하천의 수변부를 대상으로 방형구조사(1×1 m)를 수행한 결과를 이용하여 One-way ANOVA 분석을 수행하였고, 집단 간 pairwise comparisons을 위한 사후검정은 Scheffe test를 이용하였다. 숙주조개의 크기에 따른 납자루아과 산란선호도의 차이를 조사하기 위해 숙주조개의 아가미 속 난 및 치어가 확인된 조개(presence of eggs/fry; PEF)와 확인되지 않은 조개(absence of eggs/fry; AEF)의 두 그룹 간 평균을 비교하는 비모수 통계 방법(Mann-Whitney *U* test)을 이용하여 분석하였으며, 종 간 숙주조개의 크기에 대한 선호도 및 산란양상을 알아보기 위해 비모수 통계 방법(Kruskal-Wallis test)을 이용하여 분석하였다. 각각의 집단 및 종별 숙주조개의 크기에 대한 납자루아과 어류의 산란양의 상관관계 분석을 위해 상관성분석(Pearson's correlation coefficient)을 수행하였다.

종 간 숙주조개 당 산란양의 차이를 조사하기 위해 납자루아과 어류 2종 이상이 확인된 하천(HD, JJ)을 대상으로 분석을 실시하였으나, 묵납자루와 줄납자루 2종이 확인된 조양강(JJ) 집단에서 난 및 치어가 확인된 조개의 수가 15개

체 중 묵납자루의 난 및 치어가 확인된 조개가 13개체, 줄납자루의 난 및 치어가 확인된 조개가 2개체로 한 종으로 편향되게 관찰되어 통계분석을 수행하지 않았다. 따라서, 각시붕어, 묵납자루 및 줄납자루 3종이 동서하는 덕치천(HD) 집단을 대상으로만 통계분석을 수행하였다.

결과

1. 서식처 내 이·화학적 환경특성

조사지역의 이·화학적 수환경을 분석한 결과 북한강 수계인 내촌천(HN)에서 DO 87.8%, pH 7.89, BOD 4.02mg/L, 수온 15.8℃, 하폭 50-65m, 유폍 20-45m, 덕치천(HD)에서 DO 50.8%, pH 6.61, BOD 0.78mg/L, 수온 15.6℃ 하폭 45-70m, 유폍 35-50m로 확인되었으며, 남한강 수계인 골지

천(JG)에서 DO 97.3%, pH 9.07, BOD 4.33mg/L, 수온 18.2℃ 하폭 120-125m, 유폍 25-45m, 조양강(JJ)에서 DO 77.6%, pH 8.58, BOD 1.60mg/L, 수온 19.9℃ 하폭 160-170m, 유폍 60-80m로 하류지점인 덕치천(HD)과 조양강(JJ)의 하폭과 유폍이 상류지점 보다 넓어지는 것을 확인하였다. 하상구조의 경우 상류지점인 내촌천(HN)과 골지천(JG)에서 하류지점인 덕치천(HD), 조양강(JJ)보다 Boulder와 Cobble의 비율이 높게 나타났고, 하류지점으로 갈수록 Pebble, Gravel, Silt/Sand의 비율이 높은 결과를 나타냈다.

2. 연구대상 지역 내 숙주조개의 서식밀도

각 집단 간 숙주조개의 서식밀도 차이를 알아보기 위해 One-way ANOVA 분석을 수행한 결과, 내촌천(HN)에서 평균 6.57±2.57개, 덕치천(HD)에서 1.29±0.49개, 골지천(JG)에서 2.57±1.51개, 조양강(JJ)에서 9.00±6.73개로 단위면적

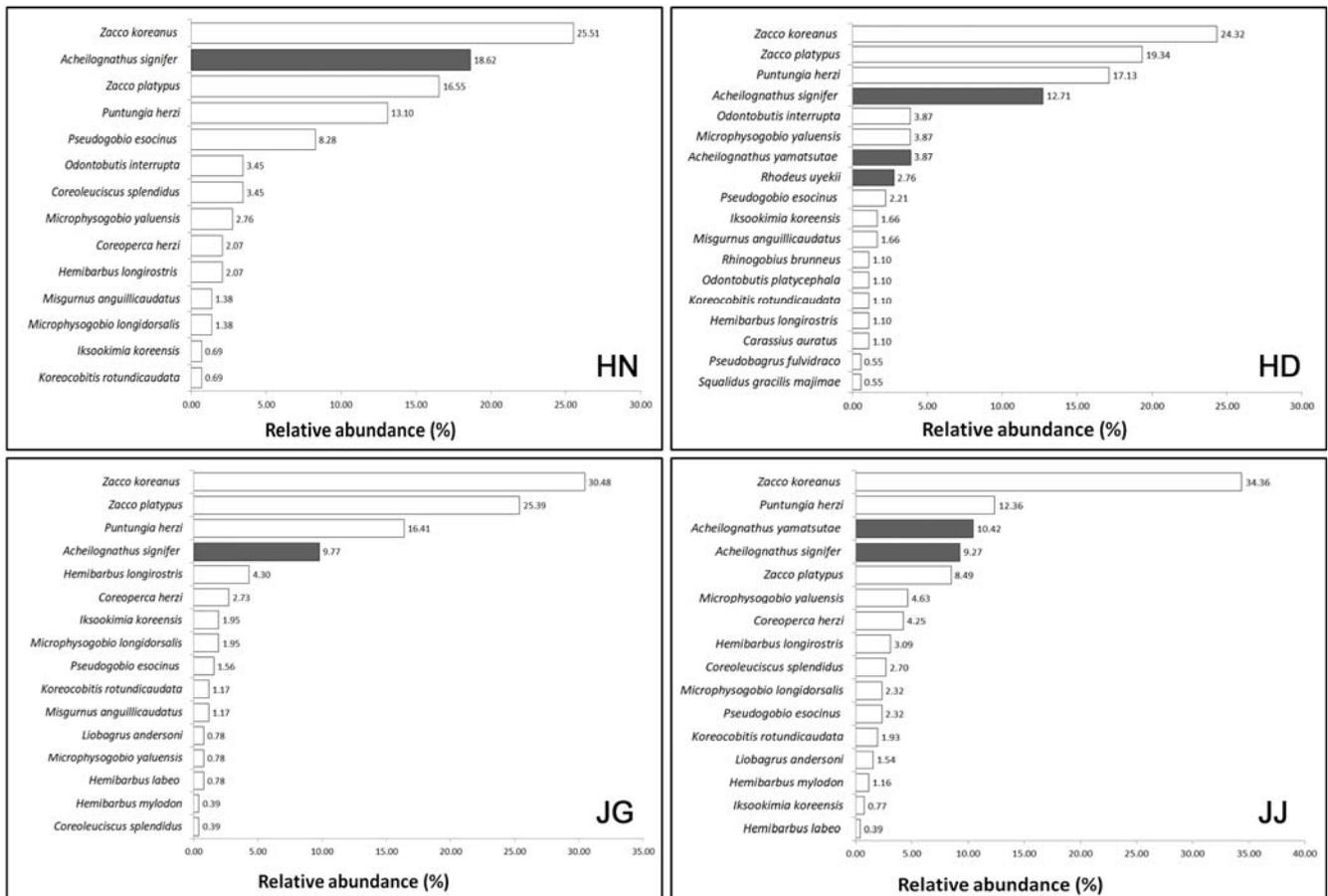


Figure 3. Fish community structure and relative abundance of collected fishes at four study sites (Naechoncheon; HN, Deokchicheon; HD, Goljicheon; JG and Joyanggang; JJ) during May of a 2015-2018 year. Horizontal bars highlighted in grey indicate Acheilognathinae fishes.

당 서식하고 있는 숙주조개의 수가 4개 집단 간 통계적으로 유의하게 차이가 나타났다(One-way ANOVA, $P=0.002$). 또한, 집단 간 pairwise comparisons 분석을 위해 사후검정(post-hoc) 분석 결과, 덕치천(HD)과 조양강(JJ), 골지천(JG)과 조양강(JJ) 간에서만 통계적으로 유의한 차이를 나타냈으며(Scheffe tests, $P=0.007$, $P=0.030$), 나머지 집단 간에는 통계적으로 유의한 결과는 나타나지 않았다.

3. 납자루아과 종 포함 어류 군집 조성 및 상대수도

연구대상 지역에서 출현한 어류 군집 조사결과 내촌천(HN)에서 4과 14종, 덕치천(HD)에서 4과 18종, 골지천(JG)에서 4과 16종, 조양강(JJ)에서 4과 16종으로 확인되었다. 채집된 어류 중 숙주조개를 이용하는 납자루아과 어류는 내촌천(HN)과 골지천(JG)에서 묵납자루 1종(HN; 18.62%, JG; 9.77%), 덕치천(HD)에서 각시붕어(2.76%), 묵납자루(12.71%) 및 줄납자루(3.87%) 3종, 조양강(JJ)에서 묵납자루(10.42%)와 줄납자루(9.27%) 2종으로 확인되었으며, 숙주조개를 이용하는 다른 속의 어류인 증고기속(genus *Sarcocheilichthys*)은 관찰되지 않았다(Figure 3).

4. 종 판별

채집된 총 982개의 작은말조개 중 163개(16.6%)에서 납

자루아과 어류의 난 및 치어가 확인되었고, 총 646개의 난 및 치어를 대상으로 RFLP 분자마커를 이용하여 종 동정을 수행하였다. 각 지점별 어류조사결과 묵납자루 1종이 확인된 내촌천(HN)은 총 136개체의 작은말조개가 채집되었으며, 그 중 11개체에서 납자루아과 어류의 난 및 치어가 확인되었다. 확인된 난 및 치어 29개체의 종 동정결과 모두 묵납자루로 분석되었다(Table 1). 각시붕어, 묵납자루 및 줄납자루 3종이 확인된 덕치천(HD)은 총 413개체의 작은말조개가 채집되었으며, 그 중 75개체에서 납자루아과 어류의 난 및 치어가 확인되었다. 확인된 난 및 치어 312개체의 종 동정결과 각시붕어가 16개의 숙주조개에 149개체, 묵납자루가 43개의 숙주조개에 123개체, 줄납자루가 16개의 숙주조개에 40개체의 순으로 산란된 것을 확인할 수 있었다(Table 1). 묵납자루 1종이 확인된 골지천(JG)에서 총 300개체의 작은말조개가 채집되었으며, 그 중 61개체에서 납자루아과 어류의 난 및 치어가 확인되었다. 확인된 난 및 치어 268개체의 종 동정결과 모두 묵납자루로 분석되었다. 묵납자루, 줄납자루 2종이 확인된 조양강(JJ)에서는 총 133개체의 작은말조개가 채집되었으며, 그 중 15개체에서 납자루아과 어류의 난 및 치어가 확인되었다. 확인된 난 및 치어 37개체의 종 동정결과 묵납자루가 13개의 숙주조개에 34개체, 줄납자루가 2개의 숙주조개에 3개체의 순으로 산란된 것을 확인할 수 있었다(Table 1).

Table 1. Number of collected mussels, observed number of eggs/fry, number of mussels with presence (PEF) or absence (AEF) of eggs/fry, results of RFLP marker-based species identification for Acheilognathinae fishes and number of individuals belonging to respective species at four study sites [Naechoncheon (HN), Deokchicheon (HD), Goljicheon (JG) and Joyanggang (JJ)].

Sampling site	Number of collected mussels	Number of eggs or fry	Species identification	Number of mussels with eggs/fry	Number of individuals
Naechoncheon (HN)	Total	136			
	PEF*	11	29	<i>A. signifer</i>	11
	AEF**	125			29
Deokchicheon (HD)	Total	413		<i>R. uyekii</i>	16
	PEF*	75	312	<i>A. signifer</i>	43
	AEF**	337		<i>A. yamatsutae</i>	16
Goljicheon (JG)	Total	300			
	PEF*	61	268	<i>A. signifer</i>	61
	AEF**	239			268
Joyanggang (JJ)	Total	133		<i>A. signifer</i>	13
	PEF*	15	37		13
	AEF**	118		<i>A. yamatsutae</i>	2

PEF*: presence of eggs/fry , AEF** : absence of eggs/fry

5. 숙주조개 크기에 따른 산란선호도

각 집단 간 숙주조개의 크기에 따른 납자루아과 산란선호도의 차이를 조사하기 위해 숙주조개의 아가미 속 난 및 치어가 확인된 조개(PEF)와 확인되지 않은 조개(AEF)의 평균 각장크기를 비교분석한 결과 내촌천(HN)에서 29.85±2.49mm (PEF), 29.36±5.14mm (AEF), 덕치천(HD)에서 37.01±3.68mm (PEF), 35.03±4.87mm (AEF), 골지천(JG)에서 38.09±4.20mm (PEF), 35.84±6.66mm (AEF), 조양강(JJ)에서 42.97±5.33mm (PEF), 42.09±6.46mm (AEF)로 모든 지점에서 PEF의 평균 각장 크기가 AEF에 비해 0.49~2.25mm 더 크게 나타났다. 통계분석을 통한 유의성을 검증한 결과 덕치천(HD)에서 가장 통계적으로 유의한 수준의 차이를 보였고(Mann-Whitney *U* test, *P*=0.002), 골지천(JG)의 분석결과 통계적으로 거의 유의한 수준의 차이

(marginally significant)를 보였다(*P*=0.077). 나머지 내촌천(HN)과 조양강(JJ)의 경우 통계적으로 유의한 수준의 차이는 보이지 않았다(*P*=0.552, *P*=0.765) (Figure 4). 숙주조개의 각고와 각폭의 크기 또한 각장크기와 유사하게 PEF에서 AEF에 비해 0.03~0.88mm (각고), 0.45~0.84mm (각폭)더 크게 나타났다.

각 지점별 숙주조개의 크기에 대한 납자루아과 어류의 산란량의 상관관계 비교분석 결과 내촌천(HN), 덕치천(HD), 골지천(JG)에서 각장의 크기가 클수록 산란된 난 및 치어의 수가 많은 양의 상관관계(Pearson correlation, *r*=0.235, *r*=0.158, *r*=0.241)를 나타냈으나, 조양강(JJ)에서는 각장의 크기와 산란된 난 및 치어의 수의 양의 상관성이 관찰되지 않았다(*r*=-0.105). 통계분석을 통한 유의성을 검증한 결과 골지천(JG)의 경우 통계적으로 거의 유의한 수준의 차이를 보였으나(*P*=0.061), 내촌천(HN)과 덕치천(HD)

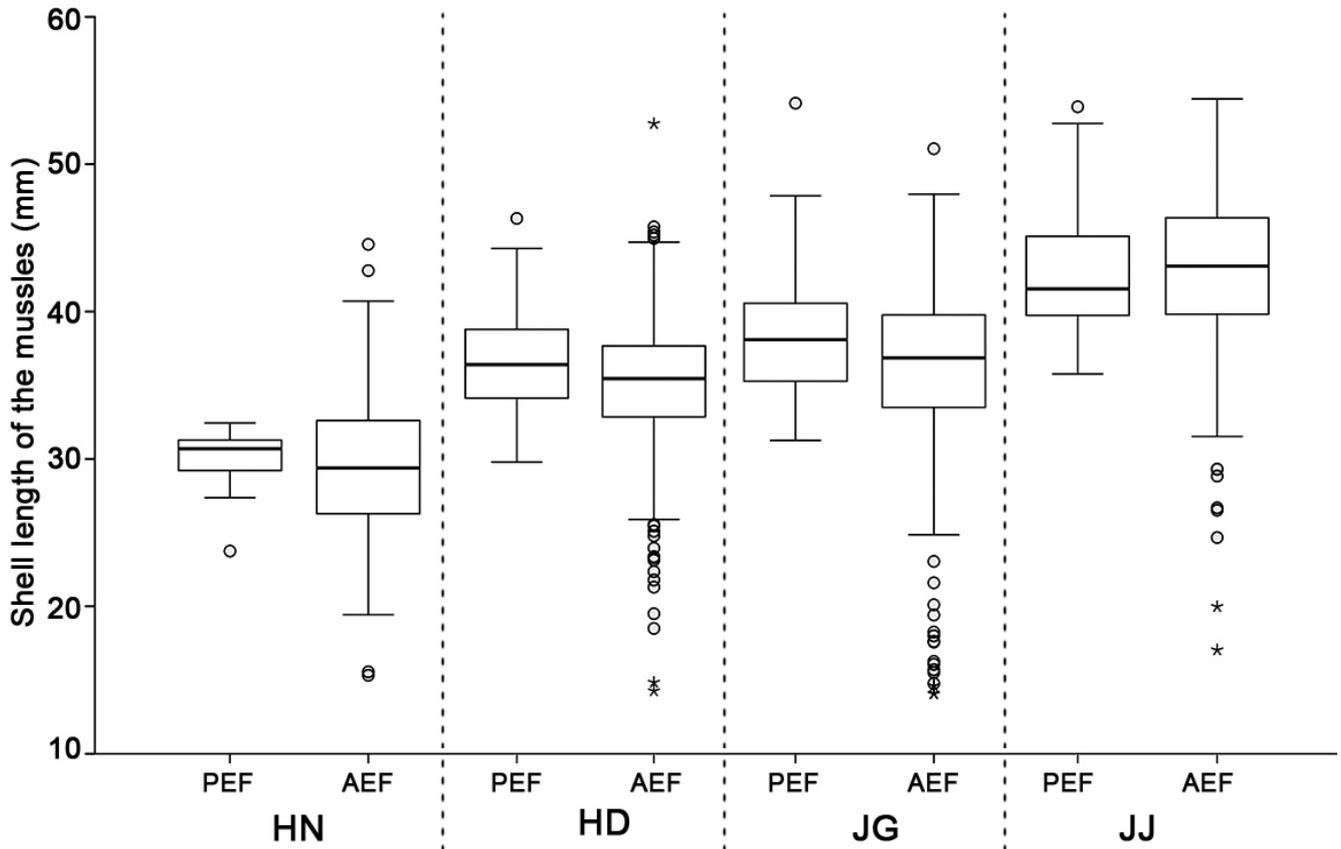


Figure 4. Box plot illustrating the difference in shell length between mussels with presence (PEF) or absence (AEF) of eggs/fry at four study sites. The line within the box is the median; the box marks the 25th and 75th percentiles; the whiskers mark the 10th and 90th percentiles; and the circles and asterisks represent outliers (HN-PEF: mean 29.85±2.49mm, AEF: 29.36±5.14mm, Mann-Whitney *U* test, *P*=0.552; HD-PEF: 37.01±3.68mm, AEF: 35.03±4.87mm, *P*=0.002; JG-PEF: 38.09±4.20mm, AEF: 35.84±6.66mm, *P*=0.077; JJ-PEF: 42.97±5.33mm, AEF: 42.09±6.46mm, *P*=0.765).

및 조양강(JJ)에서는 통계적으로 유의한 결과는 보이지 않았다($P=0.488$, $P=0.176$, $P=0.708$) (Figure 5).

6. 종 간 숙주조개에 대한 산란양상

숙주조개의 크기에 따른 종 간 산란선호도의 차이를 조사하기 위해 숙주조개의 아가미 속 난 및 치어가 확인된 조개(PEF)와 확인되지 않은 조개(AEF)의 평균 각장크기($35.03 \pm$

4.87mm)를 종 간 비교분석한 결과 각시붕어에서 $37.12 \pm 4.15\text{mm}$ (PEF), 묵납자루에서 각장 $37.07 \pm 3.27\text{mm}$ (PEF), 줄납자루에서 각장 $37.20 \pm 4.23\text{mm}$ (PEF)로 3종 모두 PEF의 평균각장의 크기가 AEF에 비해 2.04~2.17mm 더 큰 결과를 보였다. 통계분석을 통한 유의성을 검증한 결과 묵납자루만이 통계적으로 유의한 수준의 차이를 보였고(Mann-Whitney U test, $P=0.009$), 나머지 각시붕어와 줄납자루의 경우 통계적으로 유의한 수준의 차이는 보이지 않았다

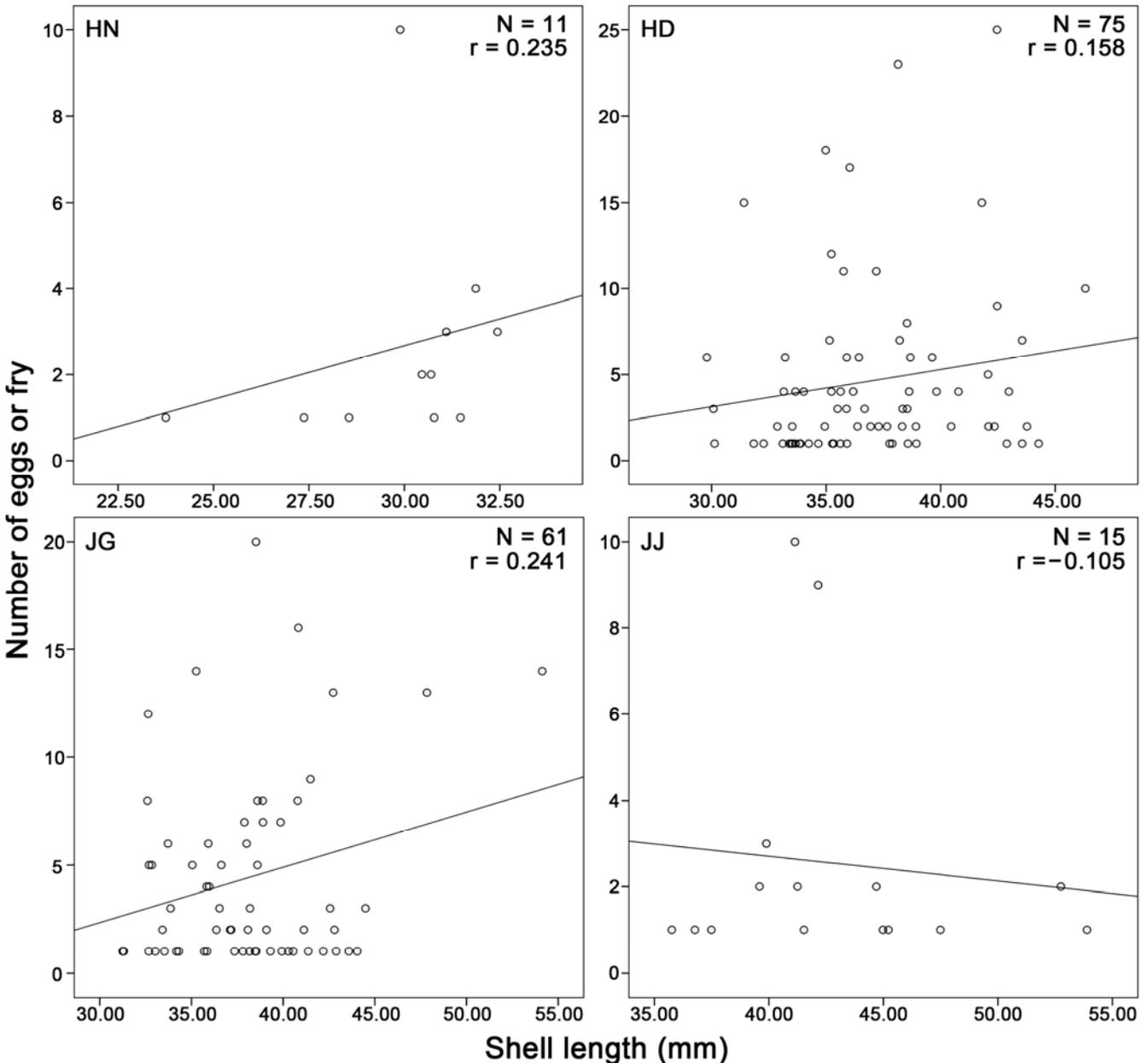


Figure 5. Relationship between shell length of the host mussels and number of eggs/fry at four study sites (Pearson correlation, HN: $r=0.235$, $P=0.488$; HD: $r=0.158$, $P=0.176$; JG: $r=0.241$, $P=0.061$; JJ: $r=-0.105$, $P=0.708$).

($P=0.095$, $P=0.121$). 숙주조개의 각고와 각폭의 크기 또한 각장크기와 동일하게 모든 종에서 PEF가 AEF에 비해 0.63~0.78mm(각고), 0.59~0.87mm(각폭) 더 큰 결과를 보였다(Figure 6).

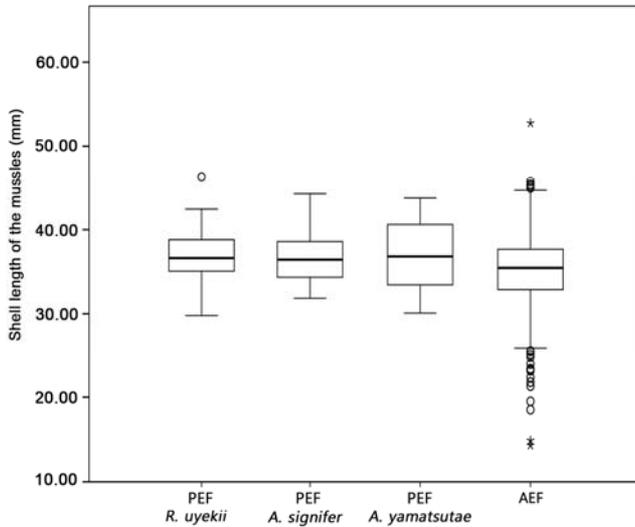


Figure 6. Box plot illustrating the differences in shell length of the mussels with (PEF) and without (AEF) eggs/fry in the three bitterling fishes at Deokchicheon (HD). The line within the box is the median; the box marks the 25th and 75th percentiles; the whiskers mark the 10th and 90th percentiles; and the circles and asterisks represent outliers (*R. uyeikii*-PEF: mean 37.12±4.15mm, $N=16$; *A. signifer*-PEF: 37.07±3.27, $N=43$; *A. yamatsutae*-PEF: 37.20±4.23, $N=16$; AEF: 35.03±4.87mm, $N=337$; Mann-Whitney U tests: $P=0.095$, $P=0.009$, $P=0.121$).

종 간 산란숙주조개로 선호하는 크기의 차이유무를 검증하기 위해 숙주조개의 아가미 속 난 및 치어가 확인된 조개(PEF)의 평균 각장크기를 종 간 비교 분석하였다. 그 결과 각시붕어의 난 및 치어가 확인된 작은말조개의 평균 각장크기는 각장 37.12±4.15mm, 묵납자루의 난 및 치어가 확인된 작은말조개의 평균 각장크기는 각장 37.07±3.27mm, 줄납자루의 난 및 치어가 확인된 작은말조개의 평균 각장크기는 각장 37.20±4.23mm로 확인되었으며, 3종간 선호하는 숙주조개 크기의 통계적 차이는 확인할 수 없었다(Kruskal-Wallis test, $P=0.998$) (Figure 7). 또한, 각고(각시붕어; 18.87mm±1.95mm, 묵납자루; 18.72mm±1.40mm, 줄납자루; 18.85mm±2.08mm)와 각폭(각시붕어; 13.69mm±1.48mm, 묵납자루; 13.73mm±1.31mm, 줄납자루; 13.45mm±1.53mm)에서도 통계적인 차이를 보이지 않았다(각고: $P=0.950$; 각

폭: $P=0.745$).

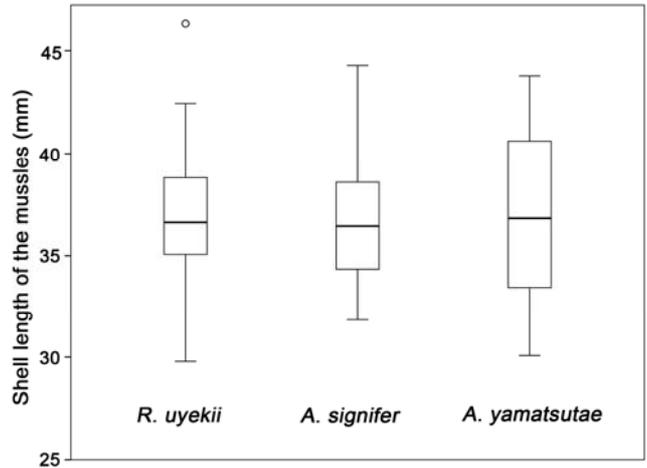


Figure 7. Box plot illustrating spawning preference on the shell length of the host mussels among the three bitterling fishes at Deokchicheon (HD). The line within the box is the median; the box marks the 25th and 75th percentiles; the whiskers mark the 10th and 90th percentiles; and the circle represents outlier (*R. uyeikii*: mean 37.12±4.15mm, $N=16$; *A. signifer*: 37.07±3.27mm, $N=43$; *A. yamatsutae*: 37.20±4.23mm, $N=16$; Kruskal-Wallis test: $P=0.998$).

종 별 숙주조개의 크기에 대한 납자루아과 어류의 산란량의 상관관계 비교분석 결과 각시붕어, 묵납자루의 경우 각장의 크기가 클수록 산란된 난 및 치어의 수가 많은 양의 상관관계($r=0.255$, $r=0.324$)를 나타냈으나, 줄납자루는 각장의 크기와 산란된 난 및 치어의 수의 양의 상관성이 확인되지 않았다($r=-0.105$). 통계분석을 통한 유의성을 검증한 결과 묵납자루의 경우 통계적으로 유의한 수준의 차이를 보였으나(Pearson correlation, $P=0.032$), 각시붕어와 줄납자루는 통계적으로 유의한 결과는 나타내지 않았다($P=0.341$, $P=0.931$) (Figure 8).

종 간 숙주조개 당 평균산란 난 및 치어의 수를 비교분석한 결과 각시붕어는 16개의 작은말조개에 총 149개로 숙주조개 당 평균 9.31±5.94개, 묵납자루는 43개의 작은말조개에 총 123개로 숙주조개 당 2.86±2.45개, 줄납자루는 16개의 작은말조개에 40개로 숙주조개 당 2.50±1.32개로 확인되었다. 묵납자루와 줄납자루는 하나의 숙주조개 당 유사한 산란량을 보였으나, 각시붕어는 묵납자루와 줄납자루보다 숙주조개 당 평균 6.45~6.81개 더 많이 산란하는 것을 확인할 수 있었고, 통계적으로 유의한 수준의 차이를 나타내었다(Kruskal-Wallis test, $P<0.001$) (Figure 9).

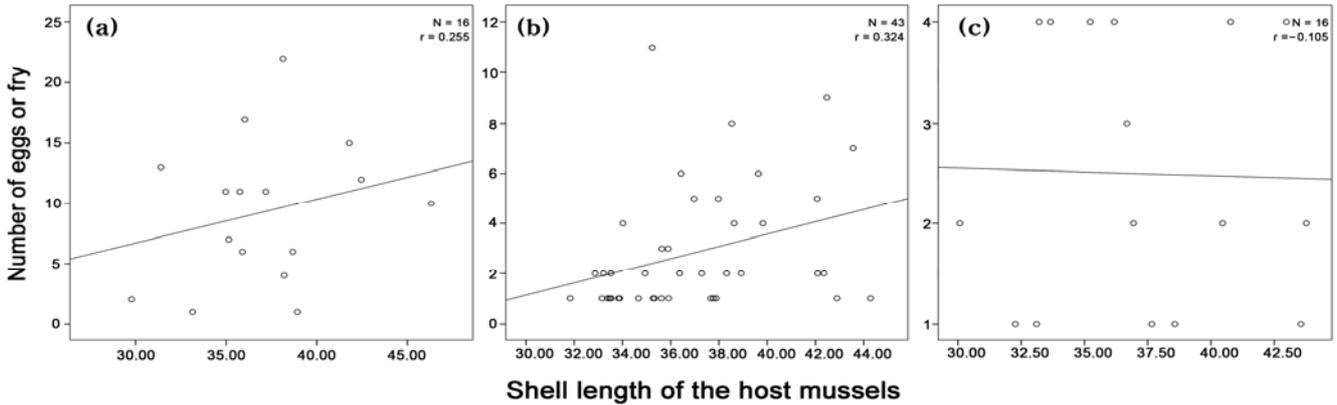


Figure 8. Relationship between shell length of the host mussels and number of eggs/fry in the three bitterling fishes (Pearson correlation, *R. uyeikii* [a]: $r=0.255$, $P=0.341$; *A. signifer* [b]; $r=0.324$, $P=0.032$; *A. yamatsutae* [c]; $r=-0.105$, $P=0.931$).

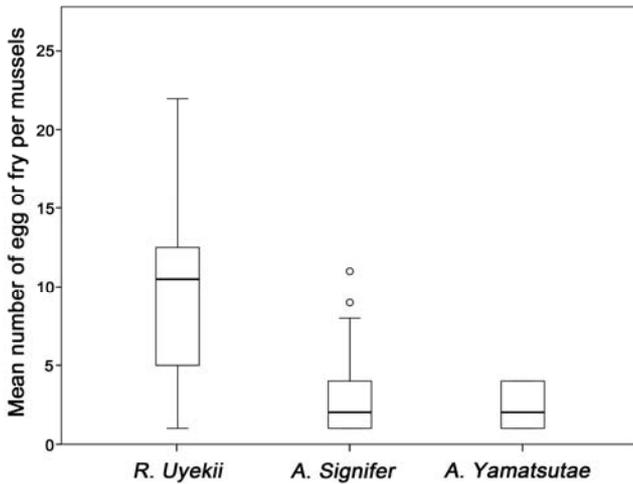


Figure 9. Box plot showing the difference in mean number of eggs/fry per mussel (*U. douglasiae sinuolatus*) among the three bitterling fishes in Deokchicheon (HD). The line within the box is the median; the box marks the 25th and 75th percentiles; the whiskers mark the 10th and 90th percentiles; and the circles represent outliers (*R. uyeikii*: mean 9.31 ± 5.94 , *A. signifer*: 2.86 ± 2.45 , *A. yamatsutae*: 2.50 ± 1.32 ; Kruskal-Wallis test, $P < 0.001$).

추가적으로, 납자루아과 어류 2종 이상이 동서하는 덕치천(HD)과 조양강(JJ) 2개의 집단에서 동일한 숙주조개에 2종의 납자루아과 어류가 산란한 결과를 확인하였다. 덕치천(HD) 집단에서 2개, 조양강(JJ) 집단에서 2개로 총 4개의 숙주조개에서 2종의 난 및 치어가 확인되었고, 2종은 모두 묵납자루와 줄납자루로 나타났다(Table 2).

고찰

본 연구는 납자루아과 어류 네 개의 집단 내촌천(HN), 덕치천(HD), 골지천(JG) 및 조양강(JJ)을 대상으로 숙주조개를 이용하는 납자루아과 어류에 대한 산란양상을 조사하였다. 집단 간 숙주조개의 크기에 따른 산란선호도가 유사하게 나타났으며, 즉 네 집단 모두 각장의 크기가 큰 작은말조개를 산란을 위한 숙주조개로 선호하는 양상을 보였다. 납자루아과 어류 3종의 산란숙주조개 크기 선호도에 대한 이전 연구에서는 묵납자루는 주로 30.0~45.0mm 크기의 작은말조개(*Unio douglasiae sinuolatus*), 줄납자루는 주로 39.8~42.0mm 크기의 말조개(*Unio douglasiae*)를 숙주로 선호한다고 보고된바 있으며, 각시붕어는 선호하는 조개 크

Table 2. Two different Acheilognathinae fish species spawning on the same mussel individuals (*U. douglasiae sinuolatus*) at two of four study sites where more than one bitterling fish species co-occurred.

Sampling site	Host mussel ID	Number of eggs/fry	Species (N)	
Deokchicheon (HD)	Mussel 1	2	<i>A. signifer</i> (1)	<i>A. yamatsutae</i> (1)
	Mussel 2	6	<i>A. signifer</i> (2)	<i>A. yamatsutae</i> (4)
Joyanggang (JJ)	Mussel 3	2	<i>A. signifer</i> (1)	<i>A. yamatsutae</i> (1)
	Mussel 4	2	<i>A. signifer</i> (1)	<i>A. yamatsutae</i> (1)

기에 대한 이전 연구 결과는 없으나, 크기가 작은 *Unio*속보다 상대적으로 크기가 큰 조개인 *Anodonta*속을 산란숙주조개로 선호한다고 보고된바 있다(Song and Kwon, 1994, Baek and Song, 2005). 이러한 이전 연구결과를 고려 했을 때, 납자루아과 어류는 숙주조개의 선택에 따라 자손의 생존율을 높일 수 있기 때문에(Mills and Reynolds, 2002), 크기가 작은 조개 보다 크기가 큰 조개를 산란숙주조개로 선호하는 방향으로 생활사 전략으로 진화하였을 것으로 추정되나, 향후 추가적인 연구를 통하여 이 가설을 검증하는 것이 필요하다.

납자루아과 어류 3종이 동서하는 덕치천(HD)에서 난 및 치어를 가지고 있는 조개(PEF)와 가지고 있지 않는 조개(AEF)의 두 그룹 간 각장크기의 차이가 나머지 세 집단보다 통계적으로 유의하게 크게 나타나는 것을 확인하였고, 납자루아과 어류 2종 이상이 동서하는 집단(HD, JJ)의 경우 동일한 조개에 묵납자루와 줄납자루 2종이 산란한 결과를 알 수 있었다. 이러한 결과는 납자루아과 어류가 2종 이상 동서할 때, 동일한 자원인 작은말조개를 자신의 산란숙주로 이용하기 위한 종간경쟁(interspecific competition)의 가능성을 나타낸다. 이전 연구에 따르면 Kitamura (2007)는 납자루아과 어류가 2종 이상 동서할 경우 숙주조개의 크기에 대한 경쟁뿐만 아니라 산란시기, 산란수, 산란관의 길이 등을 달리하여 경쟁을 피하는 방향으로 산란전략을 선택한다는 연구결과도 보고된 바 있으나, 본 연구에서는 숙주조개의 크기만을 변수로 분석을 수행하여 향후 납자루아과 어류의 산란에 관여하는 다른 요인들을 추가적으로 분석하여 본 연구결과를 보완할 필요가 있을 것으로 사료된다.

3종이 동서하는 덕치천(HD)에서 각 종별 하나의 숙주조개 당 평균 산란량의 양상을 파악한 결과 각시붕어는 묵납자루와 줄납자루 보다 숙주조개 당 6.45~6.81개 더 많은 양의 난을 산란하는 것을 확인하였다. 본 연구에서 확인된 작은말조개와 동일한 *Unio*속을 산란숙주조개로 이용할 경우 평균 산란량은 각시붕어 10.2개, 묵납자루 2.5개, 줄납자루 3.6개로 보고된 바 있다(Song, 1994; Baek and Song, 2005; Kim et al., 2015). 본 연구에서도 기존 연구 결과와 유사하게 각시붕어는 숙주조개 당 9.31±5.94개, 묵납자루는 숙주조개 당 2.86±2.45개, 줄납자루는 숙주조개 당 2.50±1.32개로 확인되었다. 납자루아과 어류는 자손의 생존율을 높이기 위해 적은 수의 난을 여러 숙주조개에 나누어 산란하는 특징을 가지고 있다고 보고된 바 있으나(Aldridge, 1999), 말조개(*U. douglasiae*), 작은말조개(*U. douglasiae sinuolatus*), 곶채두드럭조개(*Lamprotula gottschei*), 작은대칭이(*Anodonta arcaeiformis flavotincta*), 펄조개(*Anodonta woodiana*) 등 여러 종의 숙주조개와 동서할 때, 납줄개속(genus *Rhodeus*)은 납자루속(genus *Acheilognathus*)이 선호하는 *Unio*속 보

다 상대적으로 크기가 큰 조개인 *Anodonta*속에 많은 양의 난을 산란하는 특성이 있다고 보고된 바 있다(Song and Kwon, 1994). 이러한 산란특성으로 납줄개속인 각시붕어와 동서하는 숙주조개가 *Unio*속 밖에 존재하지 않을 경우 경쟁의 결과 묵납자루와 줄납자루보다 하나의 숙주조개 당 많은 양의 난을 산란하는 경향성을 보인 것으로 판단된다.

본 연구 대상지의 경우 납자루아과 어류가 서식처로 선호하는 하천의 수변부를 대상으로 조개를 조사한 결과 작은말조개와 함께 재첩과(Corbiculidae)의 패류가 확인되었으며, 납자루아과의 어류가 재첩을 숙주조개로 이용하지 않는다고 알려져 있어(Song and Kwon, 1994), 납자루아과 어류가 산란숙주조개로 이용한다고 알려진 작은말조개만을 산란양상 파악에 이용하였다. 하지만 하천의 수심이 깊은 곳에 작은말조개 이외에 다른 숙주조개 종이 서식할 가능성을 완전히 배제할 수는 없을 것으로 판단되기 때문에 추가 연구를 통하여 연구 서식지의 다른 숙주조개 종의 분포 유무를 확인할 필요가 있다.

같은 서식처에 동서하는 각시붕어, 묵납자루 그리고 줄납자루 3종을 대상으로 각 종 간 숙주조개 크기에 따른 산란선호도를 비교한 결과 3종간 산란숙주조개로 선호하는 크기의 차이는 없는 것으로 나타났으며, 숙주조개의 아가미 속 난 및 치어가 확인된 조개(PEF)와 확인되지 않은 조개(AEF)의 평균 크기를 종별로 비교했을 때, 묵납자루만 통계적으로 유의한 수준의 차이로 크기가 큰 조개를 선호하였다. 이는 묵납자루가 각시붕어와 줄납자루보다 상대적으로 더 큰 숙주조개를 산란숙주조개로서 선호하는 경향을 알 수 있었으나, 이전 연구결과 줄납자루는 말조개, 각시붕어는 *Anodonta*속으로 작은말조개 보다 상대적으로 크기가 큰 조개를 산란숙주조개로 선호한다고 보고된 바 있어(Song and Kwon, 1994), 이전 연구와는 다른 결과를 보였다. 이러한 결과는 본 연구대상지에 동서하는 숙주조개가 작은말조개 1종으로 한정되고, 종별로 산란된 숙주조개의 분석시료 수 차이(묵납자루; N=43, 각시붕어; N=16, 줄납자루; N=16)가 묵납자루로 편향되어 향후 추가적인 시료 확보를 통한 면밀한 분석이 필요할 것으로 판단된다.

최근 연구에 따르면 숙주조개가 납자루아과 어류의 난을 배출하려하는 난출현상이 보고된 바 있으나(Reichard et al., 2011), 본 연구의 경우 현장조사만을 수행하여 난출현상에 대한 요인은 고려하지 못하였고, 이는 향후 납자루아과 어류의 실내실험을 통한 분석을 추가적으로 수행하여 현장조사의 결과를 보완할 필요가 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 납자루아과 어류 네 개 집단 내촌천(HN), 덕치천(HD), 골지천(JG) 및 조양강(JG)을 대상으로 기존 개발된 RFLP 분자마커를 이용하여 숙주조개 속 난 및 치어에 대한 정확한 종 동정을 수행하였고, 그 결과를 기반으로

각 집단 간, 종 간 숙주조개 크기에 대한 산란양상을 보다 정확히 규명하였으며, 숙주조개를 이용하는 납자루아과 어류의 생태적 적응양상을 명확히 파악하고 더 나아가 숙주조개와 납자루아과 어류의 공생(mutualism) 혹은 숙주-기생의 상호관계(host-parasite relationship)를 규명하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 기대한다.

사사

본 연구는 한국연구재단(과제번호: NRF-2014R1A1A2059401, 과제명: 분자생태학적 연구를 통한 멸종위기 담수어종 보전·복원 기술 개발; 과제번호: NRF-2016R1D1A1B03934959, 과제명: 집단유전체학 및 전사체학 분석 기반 한반도 자생 담수어류 두 근연종(독중개, 한독중개) 생태적응 및 종분화 기작 이해)의 지원을 받아 수행되었습니다. 본 연구 수행을 위하여 현장 시료 채집에 도움을 준 상지대학교 생명과학과 분자생태및진화학실험실 대학원 및 학부 학생들께 감사의 말씀을 포함합니다.

REFERENCES

Aldridge, D.C.(1999) Development of European bitterling in the gills of freshwater mussels. *Journal of Fish Biology* 54(1): 138-151.

Baek, H.M. and H.B. Song(2005) Spawning in mussel and adaptation strategy of *Acheilognathus signifer* (Cyprinidae: Acheilognathinae). *Korean Journal of Ichthyology* 17(2): 105-111.

Baek, H.M.(2005) Ecological studies on the Korean bitterling, *Acheilognathus signifer* (Cyprinidae) in Korea. Ph. D. Dissertation, Univ. of Kangwon, Chuncheon, Korea.

Balon, E.K.(1985) The theory of saltatory ontogeny and life history models revisited. early life histories of fishes: new developmental. *Ecological and Evolutionary Perspectives* 3: 597.

Bogutskaya, N.G. and A.M. Komlev(2001) Some new data to morphology of *Rhodeus sericeus* (Cyprinidae: Acheilognathinae) and a description of a new species, *Rhodeus colchicus*, from west Transcaucasia. *Proceedings of the Zoological Institute* 287: 81-97.

Chang, C.H., F. Li, K.T. Shao, Y.S. Lin, T. Morosawa, S. Kim, H. Koo, W. Kim, J.S. Lee, S. He, C. Smith, M. Reichard, M. Miya, T. Sado, K. Uehara, S. Lavoué, W.J. Chen and R.L. Mayden(2014) Phylogenetic relationships of

Acheilognathidae (Cypriniformes: Cyprinoidea) as revealed from evidence of both nuclear and mitochondrial gene sequence variation: evidence for necessary taxonomic revision in the family and the identification of cryptic species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 81: 182-194.

Choi, H.K. and H.J. Lee(2018) Development of a species identification method for the egg and fry of the three Korean bitterling fishes (Pisces: Acheilognathinae) using RFLP (restriction fragment length polymorphism) markers. *Korean Journal of Environmental and Ecology* 36(3): 352-358.

Cummins, K.W.(1962) An evaluation of some techniques for the collection and analysis of benthic samples with special emphasis on lotic waters. *The American Midland Naturalist* 67(2): 477-504.

Damme, D.V., N. Bogutskaya, R.C. Hoffmann and C. Smith(2007) The introduction of the European bitterling (*Rhodeus amarus*) to west and central Europe. *Fish and Fisheries* 8(2): 79-106.

De Wit, J.D.(1955) Some observations on the European bitterling (*Rhodeus amarus*). *South African Journal of Science* 51(8): 249.

Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek(1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-299.

Ivanova, N.V., T.S. Zemplak, R.H. Hanner and P.D. Hebert(2007) Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7(4): 544-548.

John, D., V.J. Valerie and D. C. Aldridge(1997) Host specialisation in an unusual symbiosis: European bitterlings spawning in freshwater mussels. *Oikos* 78: 539-545.

Kim, H.S., H. Yang and J.Y. Park(2013) Host species preference of *Acheilognathus signifer* (Pisces: Acheilognathinae) for spawning in freshwater mussels. *Korean Journal of Ichthyology* 25(4): 208-215.

Kim, H.S., H. Yang, J.G. Ko and J.Y. Park(2014). Spawning pattern in the freshwater mussel *Lamprotula leai* and *Unio douglasiae sinuolatus* of *Acheilognathus signifer* (Pisces: Acheilognathina). *Korean Journal of Ichthyology* 26(2): 83-88.

Kim, H.S., J.G. Go, W.S. Choi and J.Y. Park(2015). Population ecology of Korean rose bitterling, *Rhodeus uyekii* (Pisces: Acheilognathinae) in the Bongseocheon, Mankyonggang (River). *Korean Journal of Ichthyology* 27: 78-85.

Kim, I.S. and J.Y. Park(2002) Freshwater fishes of Korea. KyoHakSa.

Kim, I.S.(1997) Illustrated encyclopedia of fauna & flora of Korea. Vol. 37, freshwater fishes. Ministry Education, Seoul, Korea, 629pp.

Kitamura, J.(2006) Seasonal change in the spatial utilization of host mussels in relation to ovipositor length by female rosy

- bitterling *Rhodeus ocellatus kurumeus*. *Journal of Fish Biology* 68(2): 594-607.
- Kitamura, J.(2007) Reproductive ecology and host utilization of four sympatric bitterling (Acheilognathinae, Cyprinidae) in a lowland reach of the Harai River in Mie, Japan. *Environmental Biology of Fishes* 78(1): 37-55.
- Kitamura, J., N. Nagata, J. Nakajima and T. Sota(2012) Divergence of ovipositor length and egg shape in a brood parasitic bitterling fish through the use of different mussel hosts. *Journal of Evolutionary Biology* 25(3): 566-573.
- Mills, S.C. and J.D. Reynolds(2002) Host species preferences by bitterling, *Rhodeus sericeus*, spawning in freshwater mussels and consequences for offspring survival. *Animal Behaviour* 63(6): 1029-1036.
- Park, J.M., H.B. Jong, H.I. Jo, S.J. Cho, H.Y. Suk and K.H. Han(2018) Early life history of *Tanakia latimarginata*. *Korean Journal of Ichthyology* 30: 75-83.
- Reichard, M., J. Bryja, M. Polačik and C. Smith(2011) No evidence for host specialization or host-race formation in the European bitterling (*Rhodeus amarus*), a fish that parasitizes freshwater mussels. *Molecular Ecology* 20(17): 3631-3643.
- Reichard, M., M. Polačik, A.S. Tarkan, R. Spence, Ö. Gaygusuz, E. Ercan, M. Ondračková and C. Smith(2010) The bitterling-mussel coevolutionary relationship in areas of recent and ancient sympatry. *Evolution: International Journal of Organic Evolution* 64(10): 3047-3056.
- Smith, C., M. Reichard, P. Jurajda and M. Przybylski(2004) The reproductive ecology of the European bitterling (*Rhodeus sericeus*). *Journal of Zoology* 262(2): 107-124.
- Song, H.B. and O.K. Kwon(1994) Spawning of bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* (Cyprinidae) into the Mussel. *Korean Journal of Ichthyology* 6(1): 39-50.
- Song, H.B.(1994) Ecological studies on the Korean bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* (Cyprinidae) in Korea. Ph. D. Dissertation, Univ. of Kangwon, Chuncheon, Korea.
- Zale, A.V. and R.J. Neves(1982) Fish hosts of four species of lampsiline mussels (Mollusca: Unionidae) in Big Moccasin Creek, Virginia. *Canadian Journal of Zoology* 60(11): 2535-2542.