

삼척오십천 상·하류에 분포하는 황어, *Tribolodon hakonensis* (잉어과) 집단의 유전적 분화^{1a}

이신애² · 이완옥³ · 석호영^{2*}

Genetic Differentiation between Up- and Downstream Populations of *Tribolodon hakonensis* (Pisces; Cyprinidae)^{1a}

Sihn-Ae Lee², Wan-Ok Lee³, Ho Young Suk^{2*}

요 약

잉어목(Cypriniformes) 황어아과(Leuciscinae)의 황어(*Tribolodon hakonensis*)는 회유성 어류로서 일생의 대부분을 바다에서 보내고 산란기인 3월 중순경부터 물이 맑은 하천으로 소상하여 자갈이나 모랫바닥에 집단으로 알을 낳는다. 본 연구의 목적은 5개의 microsatellite 유전자 분석을 통하여 단편화된 하천에서 황어 집단 간 유전자 흐름과 다양성을 측정하는 것이다. 강원도 삼척 오십천은 여러 대형 보에 의해 부분적으로 단편화되어 있는 중형 하천으로, 본 연구에서 하류지역과 대형 보를 여러 번 지나야 다다를 수 있는 상류지역에서 채집한 황어 개체들의 유전자형을 비교, 분석하였다. 유전자 분석 결과 상, 하류 집단들은 많은 대립인자를 공유하지만 그 빈도에 있어 다소 큰 차이를 보였다. 상류와 하류 간 유전적 분화(F_{ST})는 0.083 정도로 두 집단 간에는 제한된 유전적 흐름만이 존재한다고 볼 수 있다. 상류 집단이 유전적으로 고립이 되어 있지만 뚜렷한 유전적 다양성의 감소나 집단의 크기 감소가 관찰되지는 않았다. 이러한 양상을 개체 수준에서 증명하기 위해 Bayesian 통계를 이용, 집단의 유전적 구조를 파악하였다. 분석 결과 삼척 오십천 개체들은 2개의 유전적 cluster로 구분할 수 있으며, 상류 집단 개체들은 모두 cluster 1에 해당하는 등 단일하게 나타났으나 하류 집단 개체 중 65 % 정도가 cluster 2에 그리고 나머지 개체들은 cluster 1에 해당하는 다양한 양상이 나타났다. 이로 미루어 두 집단은 유전적으로 분화되어 있고, 상류의 집단이 하류에 흘러들어가는 경우는 있지만 하류로부터 유전적 공급은 거의 전무한 형태로 볼 수 있고, 인위적 구조물들이 이러한 집단 구조에 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 본 연구에서 제시된 자료들은 향후 황어 집단의 보전 정책 등을 수립하는데 필요한 정보를 제시할 수 있을 것이다.

주요어: 황어아과, microsatellites, 유전적 집단 구조, 소하성 어류

ABSTRACT

Tribolodon hakonensis(Cypriniformes; Leuciscinae) is anadromous; they are born in freshwater, migrate back to the ocean, then return to their home stream for spawning from mid-March to early-June. Here, five microsatellites were used to assess the level of gene flow among *T. hakonensis* populations from the Samcheok-Oship Stream, South Korea. The frequencies of dominant alleles across several loci differed between down-and upstream populations

1 접수 2012년 6월 11일, 수정(1차: 2012년 7월 17일), 게재확정 2012년 7월 18일

Received 11 June 2012; Revised(1st: 17 July 2012); Accepted 18 July 2012

2 영남대학교 생명과학과 Dept. of Life Sciences, Yeungnam Univ., Gyeongsbuk(712-749), Korea(Sihn-Ae Lee: sinskydream@hanmail.net; Ho Young Suk: hsuk@ynu.ac.kr)

3 국립수산물과학원 중앙내수면연구소 Inland Fisheries Research Institute, NFRDI, Gyeonggi-do(477-815), Korea (wolee@nfrdi.go.kr)

a 이 논문은 국립수산물과학원 중앙내수면연구소(과제번호 R2012006, 12-FE-21), 한국농어촌공사, 한국연구재단 지역대학우수 연구자 연구비(과제번호 211C000157)의 지원으로 수행된 연구임.

* 교신저자 Corresponding author(hsuk@ynu.ac.kr)

divided by several weirs, and pairwise multilocus F_{ST} estimate was significantly high(0.083). However, there were no signs of any loss of genetic variation in the upstream population. Assignment tests of individuals in admixture model($K = 2$) to a set of baseline samples showed fairly correct assignment to each cluster; all of upstream individuals were included in the first cluster, while the majority of downstream individuals(65%) comprise the second cluster. These results indicate reduced gene flow between up- and downstream populations but allowing passive downstream drift. It is likely that man-made structures might at least partially be a factor for creating and consolidating the current distribution patterns of genetic variation among *T. hakonensis* populations in the Samcheok-Oship Stream. This information will assist governing agencies in making informed decisions regarding conservation of anadromous fishes in Korean drainage systems.

KEY WORDS: LEUCISCINAE, MICROSATELLITES, POPULATION GENETIC STRUCTURE, ANADROMOUS FISHES

서론

황어(*Tribolodon hakonensis*)는 잉어과(Cyprinidae), 황어아과(Leuciscinae)에 속하는 회유성 어류로 번식 시기에 황갈색의 줄이 몸에 나타나는 것이 특징이며 대부분 일생을 바다에서 보내고 봄에 물이 맑고 물의 흐름이 잔잔한 하천으로 소상하여 자갈이나 모랫바닥에 집단으로 알을 낳는다(Kawanabe and Mizuno, 1989; Sakai *et al.*, 2002). 이러한 소하성(anadromous) 행동은 잉어과 어류에서는 드문 현상으로 황어의 이주 및 생식 생태에 대한 자세한 연구 자료는 아직 없는 실정이다(Nakamura, 1969). 황어는 한국 동해와 남해로 유입하는 하천에 주로 분포하며, 일본 전 지역과 사할린 등지의 여러 하천에도 서식하는 것으로 알려져 있다(Nishimura, 1974; Sakai *et al.*, 2002). *Tribolodon*속에도 여러 종이 존재하지만, 황어와 같이 동북아 전체에 걸쳐 광범위한 분포역을 가지면서 소하성 행동을 보이는 종은 없다(Sakai *et al.*, 2002). 또한 황어는 지역에 따라서 귀중한 수산자원으로 또는 game fish로서 그 가치를 인정받고 있기도 하다(Koizumi *et al.*, 2011).

황어의 소하성 행동과 집단의 생태적 안정성은 최근 하천의 인위적 변형과 단절 등으로 적지 않은 영향을 받고 있기 때문에, 보전 정책 개발 및 연구를 위해 본 어종은 특별히 주목해야 할 필요가 있다(Moriyama *et al.*, 2008). 국내 하천 중 자연형 하천의 모습 그대로를 간직한 곳은 거의 없으며, 대부분 댐이나 보와 같이 하천의 자연성을 전혀 고려하지 않은 구조물에 의해 심각한 단편화가 진행되고 있다. 이러한 인위적 하천 변형은 개체군의 서식지나 산란장의 크기를 줄일 수 있으며(Jungwirth *et al.*, 1998; Laroche and Durand, 2004), 아무리 유영 능력이 좋은 어종이라고 해도 댐이나 보를 거슬러 오르는 것 자체가 쉬운 일이 아니기 때문에(Wofford *et al.*, 2005) 많은 담수어종의 적응도는

줄어들 수밖에 없다. 또한 인위적 하천 변형과 단편화로 집단의 크기가 줄어들며 유전적 부동의 가능성이 커져 낮은 빈도의 대립인자들을 쉽게 상실하는 유전적 병목현상(genetic bottleneck)의 위험성을 가질 수도 있다(Hedrick and Miller, 1992; Allan and Flecker, 1993; Marchant and Hehir, 2002; Laroche and Durand, 2004).

더욱 심각한 문제는 이러한 변형된 하천에 빠른 속도로 적응하는 집단이 생겨나는 이른바 ‘당대적 진화(contemporary evolution; Kinnison *et al.*, 2007; Carroll, 2008; Carroll *et al.*, 2011)’의 가능성이다. 인간의 관찰이 가능한 범위 내에서(생태학적인 시간범주에서) 벌어지는 진화적 변화가 흔한 것은 아니지만 최근 다양한 분류군과 다양한 생태적 조건에서 그 증거가 나타나고 있으며(Kinnison *et al.*, 2007), 이는 대부분 인간의 활동과 깊은 연관성을 가지고 있다는 측면에서 보전생물학자들의 큰 주목을 받고 있다. 황어와 같은 회유성 어종인 연어(salmon)에서는 최근 만들어진 인위적 장벽 때문에, 다시 고향으로 돌아오는 과정에 추가의 에너지가 필요하며, 짝짓기와 성선택에 필요한 생리적 투자를 제대로 할 수 없기 때문에 새로운 종류의 대응생식 또는 대응생활사 전략이 짧은 세대 안에 진화한 예가 적지 않게 보고된 바 있다(Waples *et al.*, 2007).

현재까지 황어의 이동와 집단 구조 그리고 인위적 구조물 등에 의한 생태적, 진화적 영향을 과학적으로 조사한 예는 전무하다. 본 연구에서는 동해안의 주요 하천 중 하나인 삼척오십천(Figure 1)에서 채집된 황어를 대상으로 집단의 유전적 구조를 조사하여 상기에 제시된 문제와 의문에 대해 논의하고자 한다. 삼척오십천은 강원도 삼척시 도계읍 구사리 백병산(1,259m)에서 발원하여 동해안으로 흐르는 46.06km의 중형 하천으로 동해안의 다른 하천과 같이 자갈과 호박돌 저질에 유속이 평균적으로 다소 빠르고 보전이 비교적 잘 되어 있다. 본 하천에서 소상하는 다량의 황어

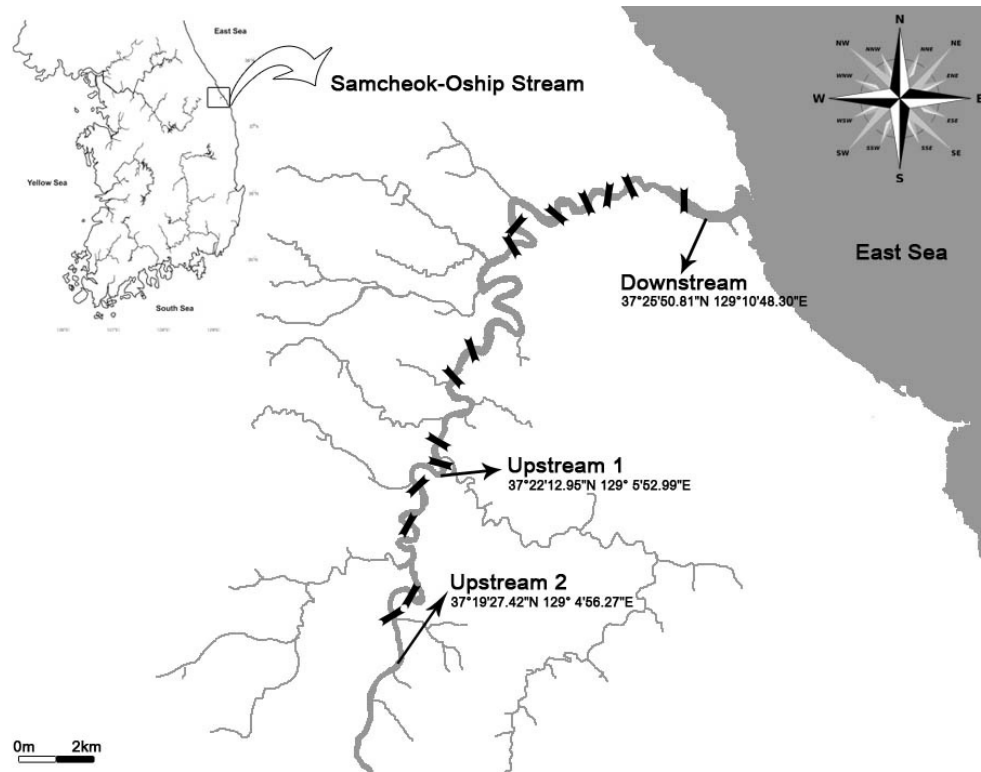


Figure 1. Sampling sites of *Tribolodon hakonensis* populations from Samcheok-Oship Stream for the analysis of within-drainage genetic subdivision. A single site (*i.e.*, downstream) was chosen to collect individuals from estuary region, where most of the migratory individuals are likely to stay for spawning. *T. hakonensis* individuals were also obtained from two sites in upstream region (*i.e.*, upstream 1 and 2), and migratory individuals are not likely to move across artificial barriers (weirs; black bars vertically crossing the stream) up to such areas.

개체를 관찰할 수 있는 곳은 주로 첫 번째 보를 전의 하류 지역으로 대다수의 개체들이 그 지역에 머물며 산란하는 것으로 알려져 있다(Wan-Ok Lee, personal observation). 하지만 여러 보를 거슬러 상당히 상류 지역에서도 황어 개체가 발견되며, 이들 개체들이 봄에 거슬러온 성체들의 자식으로 다시 바다로 내려갈 개체들인지 아니면 이 지역에 머무르는 육봉형 개체들인지는 아직 확실하지 않다.

본 연구의 목적은 삼척 오십천 상류와 하류 두 황어 집단의 개체들이 유전적으로 단일한 개체군인지 아니면 유전적 교류가 제한된 독립적인 개체군들인지를 판단하는 것이다.

이를 위하여 다형적인 microsatellites 5개 유전자를 이용, 유전적 변이와 집단 간 분화 그리고 집단의 역학적 안정도 등을 파악한 후 본 상류집단의 실체에 관한 가능성 있는 대답을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료 확보 및 DNA 추출

본 실험에 사용된 황어(*T. hakonensis*)들은 2011년 5월

Table 1. List of *Tribolodon hakonensis* populations collected from Samcheok-Oship Stream

Population	Sampling location	N	Date
Upstream	Cheon-gi-ri(UP1) and Daepyeong-ri(UP2), SC, GW	17	May 19th 2011
Downstream	Sajik-dong, Samcheok City(SC), Gangwon-do(GW)	31	May 20th 2011

Data comprise population, sampling location, collection date and total number of individuals analyzed(N).

Table 2. Summary information of the 5 microsatellite loci and the primers of the *Tribolodon hakonensis* used for the present study

Locus	Primer sequence(5'-3')	Repeat motif	Dye ¹	T _a (°C) ²	Size range(bp)
Thk09	F: ATCCGATCCGTGACTCAA R: GCAATCTGTTGGCCTCAT	(GT) ₁₀	NED	52	161-169
Thk01	F: GATGTTGGGTGGCCTTA R: GAGAAACGTTGAGGAGCTG	(CA) ₂₄	HEX	52	140-163
Thk02-1	F: GTTCTTGCTCTTCAATCTGC R: GATCTAAATCAAGTCAAGGCC	(GT) ₂₆	FAM	52	184-221
Thp05	F: GTCTGGACCCAGTCAATGTC R: CAGTAGAGGCGGTGAAACAT	(GA) ₁₈	NED	56	160-191
Thp03	F: GTGTGCTGGGTTTTGTCAG R: GCATGTAACTTCCCTCAG	(CA) ₁₄	HEX	57	191-199

¹ Dyes were used for poolplex genotyping; ² T_a: annealing temperature.

삼척오십천 수계의 2 지역(상류와 하류; Figure 1; Table 1)에서 채집된 개체들이다. 수계의 상류에서 17개체, 하류에서 31개체를 각각 확보하였고, 채집 후 개체들을 95% 에틸알코올에 담아 실험실로 운반하였으며 -20 °C 냉동 상태로 영남대학교 생명과학과 동물생태학연구실에 영구 보관 중이다. Genomic DNA는 미병부 상부의 근육조직이나 가슴 지느러미의 한 쪽(약 3mm×3mm)을 적출한 뒤, Wizard Genomic DNA purification kit(Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 추출하였다. 추출된 DNA는 절반씩(각 100μl) 나누어 사용되는 working solution은 냉장실(4 °C)에, 그리고 장기 보관용은 냉동실(-20 °C)에 보관하였다.

2. Microsatellites 유전자형 분석

Microsatellite 유전자분석을 위해 Koizumi *et al.*(2011)에 의해 개발된 유전자 목록 중 10개를 선정한 후, 이들의 증폭 효율을 조사하기 위하여 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 실시하였다. PCR은 94 °C에서 5분 후, 94 °C에서 30초, 각 유전자의 annealing 온도에서 (Table 2) 30 초, 72°C에서 45초를 순환 반응 총 30회 반복하고, 최종 extension으로 72 °C에서 10분간 실시하였다. 최종 PCR 산물은 냉장 보관 후, 1% agarose gel(0.5× TBE)에서 전기영동하여 확인하였다. 얻어진 10개 primer 쌍의 최종 산물 중 개체마다 일관된 증폭률을 보이고, 개체 변이가 육안으로 관찰되는 5개의 유전자를 선정하여 유전자 분석에 이용하였다(Table 2). 이들 5개 유전자 중 4개(Thk09, Thk01, Thp05, Thp03)는 기존 Koizumi *et al.*(2011)이 제시한 프라이머 서열을 그대로 이용하였으며, Thk02 유전자의 경우 PCR 증폭 산물 크기를 줄이고 보다 효과적인 증폭 효율을 유지하기 위해 새로운 primer 쌍(Thk02-1F, Thk02-1R)을 디자인하였다(Table 2).

이렇게 만들어진 총 5개의 primer 쌍의 forward primer에 적절한 색깔의 형광을 연결하였다(FAM과 HEX: Bioneer Co, Daejeon, South Korea; NED: Applied Biosystems Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). 유전자형 분석을 위한 PCR 조건은 앞서 제시된 것과 같은 방식을 유지하였다. 형광이 연결된 primer로 만들어진 증폭 산물은 ABI3100 Genetic Analyzer (Solgent Co, Daejeon, South Korea)에서 서열 크기가 측정되었으며, Peak Scanner Software v 1.0(Applied Biosystems Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)에서 peak로 만들어진 서열 크기 정보를 읽어 최종적으로 excel file로 저장하였다.

3. 유전적 다양성(Genetic diversity)

얻어진 모든 fragment size와 유전자형이 기록된 excel file을 CONVERT 형식의 text file(Glaubitz, 2004)로 전환하였고, 프로그램 option을 이용하여 각종 집단유전학 software들의 input file format에 맞게 전환하였다. 기초적인 유전적 다양성 정보, 즉 유전자 별 대립인자 수(the number of alleles per locus; A)와 빈도, 이형접합자 빈도 관찰치(observed heterozygosity; H_o)와 예측치(expected heterozygosity; H_e)등의 수치는 FSTAT v 2.9.3.2(Goudet, 2001)를 이용하여 산출하였다. 얻어진 유전자 별 그리고 집단 별 이형접합자 빈도와 대립인자 빈도가 Hardy-Weinberg 평형에서 벗어나는지는 Markov chain 방식에 기초한 exact test를 적용하였고(Guo and Thompson, 1992), 이는 GENEPOP package v 3.1d(Raymond and Rousset, 1995)를 이용하여 산출하였다. 각 유전자 쌍의 연관불평형(linkage disequilibrium)여부는 Weir(1979)의 방식에 따라 각 유전자들은 서로에 대해 독립적이라는 귀무가설 하에서 검증하였다(GENEPOP).

Table 3. Genetic summary of 5 microsatellite loci used to study genetic differentiation among populations of *T. hakonensis* from Samcheok-Oship Stream

Loci	<i>A</i>		<i>H_O</i>		<i>H_E</i>		<i>F_{IS}</i>	
	Up	Down	Up	Down	Up	Down	Up	Down
Thk09	2	2	0.125	0.200	0.121	0.186	-0.034	-0.077
Thk01	6	7	0.813	0.852	0.804	0.744	-0.010	-0.149
Thk02-1	11	13	0.938	0.885	0.901	0.875	-0.042	-0.011
Thp05	10	13	0.750	0.774	0.883	0.891	0.155*	0.133*
Thp03	4	6	0.706	0.357	0.683	0.722	-0.035	0.510*
Mean	6.6	8.2	0.666	0.614	0.678	0.684	0.007	0.081

Data include allele size range in base pairs, total number of alleles(*A*) across all populations, mean observed(*H_O*) and expected heterozygosity(*H_E*) and *F_{IS}*; * $P < 0.05$ for the deviation from the expectation of Hardy-Weinberg equilibrium.

4. 집단 간 유전적 분화(Population genetic structure)

집단 간 유전적 분화는 GENEPOP을 이용한 pairwise-*F_{ST}*로 조사하였다. 보다 자세한 개체 수준에서의 유전적 구조를 조사하기 위하여, Bayesian admixture model을 이용하여 가장 적절한(optimal) 유전적 cluster의 수(*K* 값)를 결정하고, 개체들을 집단 구분 없이 만들어진 각 cluster에 할당하였다. 이 작업은 프로그램 BAPS v 5.3(Corander *et al.*, 2008)를 이용하여 수행하였고, 프로그램 내에서 100,000번의 Monte Carlo Markov chain으로 검증하였다.

5. 집단유전학적 역학 구조(Population genetic demographics)

상류 집단의 고립과 집단 크기 감소 등의 가능성은 일차적으로 얻어진 유전적 다양성 자료의 상, 하류 간 비교에서 얻을 수 있었다(Table 3). 상, 하류 집단 모두에서 집단 크기의 감소로 인한 유의한 유전적 병목현상 가능성은 프로그램 BOTTLENECK v 1.2.02(Piry *et al.*, 1999)에서 이형접합자 빈도 예측치 과다(heterozygosity excess) 계산(1,000 iteration)을 통하여 측정하였다. 이러한 방식은 돌연변이-부동 평형(mutation-drift equilibrium) 하에서 대립인자의 수가 이형접합자 빈도보다 집단 크기 감소에 따른 감소 속도가 더 크다는 가정에 기초한다(Cornuet and Luikart, 1996). 또는 병목현상 여부의 계산에서 microsatellites의 진화는 두 가지 SMM(stepwise mutation model)과 TPM(two-phase mutation; Di Rienzo *et al.*, 1994) 양상으로 가정하였다. 각 집단 내 개체들 간 친족관계 여부(relatedness)는 ML-Relate (Kalinowski *et al.*, 2006)로 simulation하였는데, 이 프로그램은 maximum likelihood 측정법으로 가족관계 없음(unrelated), 친형제관계

(full-sibling), 배다른 형제관계(half-sibling) 그리고 부모자식 관계(parent-offspring) 중 가장 가능성 있는 관계를 찾는다. 마지막으로, 조사된 각 개체군의 유효집단크기(effective population size, *N_E*)는 연관불평형(linkage disequilibrium, LD) 정도에 의하여 추정하는 방식을 도입하였다(NeEstimator v 1.3; Peel *et al.*, 2004).

결과

1. 유전적 다양성(Genetic diversity)

삼척오십천 황어 집단에서 조사된 총 5개의 microsatellite 유전자에서 다양한 유전적 변이가 관찰되었다(Table 3). 조사된 모든 유전자는 다형성(polymorphism; 대립인자 수 > 2)을 보여주었으며, 하나의 소형 수계에서만 조사된 결과임에도 불구하고 몇몇 유전자에서 매우 많은 대립인자가 발견되었다(평균 = 9; *Thk02*: 16; *Thk05*: 14). 단 2개의 대립인자가 발견된 *Thk09*를 제외한 모든 유전자의 이형접합자빈도(관찰치; *H_O*)는 0.532 - 0.832(평균 = 0.759)로 적지 않은 수치였고, 집단 수준에서 Hardy-Weinberg 평형(equilibrium)에서 통계적으로 벗어나지 않았다($P > 0.05$). 상류와 하류를 분리해서 5개의 모든 조사 유전자를 별도로 고려, 각 유전자 별 Hardy-Weinberg 평형의 통계적 유의성을 조사한 결과(Bonferroni correction; $N = 10$; $\alpha = 0.005$), 3개의 예외를 제외하고(상류 집단의 *Thp05* 및 하류 집단의 *Thp05*와 *Thp03*) 모든 유전자에서 평형의 예측치를 벗어나지 않았다(Table 3). 유전자 간 연관불평형(linkage disequilibrium) 유전자 조합(Bonferroni correction; $N = 19$; $\alpha = 0.003$) 역시 전혀 발견되지 않아 유전자 간 물리적, 간접적 연관 증거가 없는 것으로 판단된다.

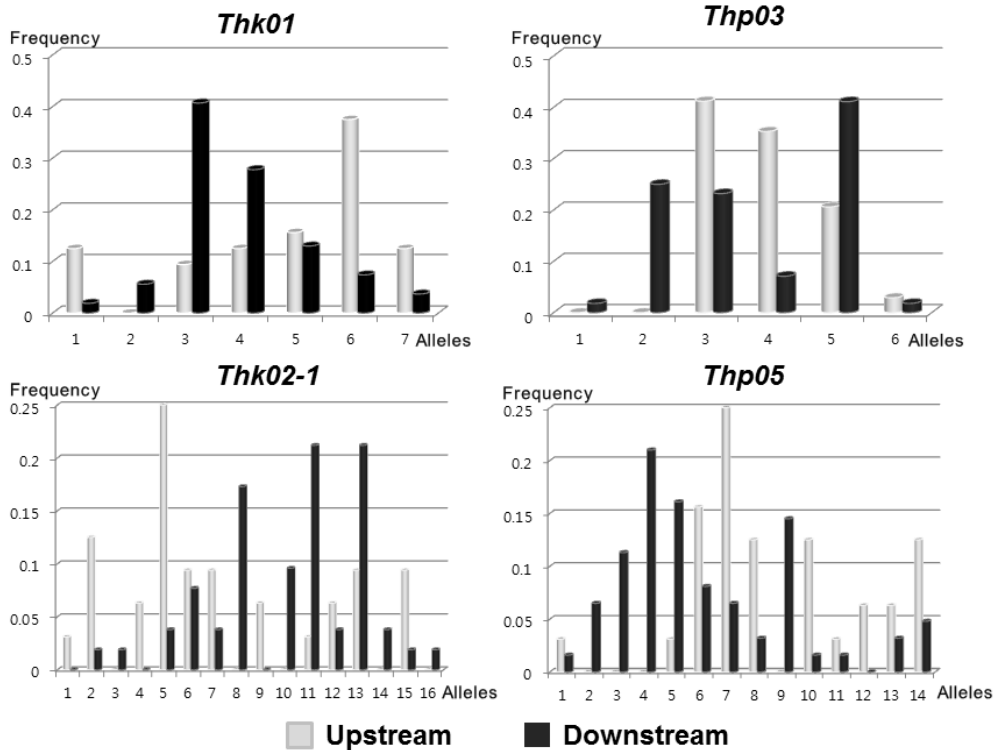


Figure 2. Allelic frequencies of 4 polymorphic loci between up- and downstream populations of *T. hakonensis* from Samcheok-Oship Stream

2. 집단 간 유전적 분화(Population genetic structure)

상류 집단과 하류 집단 간 대립인자 빈도의 비교를 통하여 유전적 분화의 증거를 찾을 수 있었다(Figure 2); 대부분의 대립인자를 두 집단의 개체들이 공유하는 경향성을 보이나, *Thk09*를 제외한 모든 유전자에서 주요(dominant frequency) 대립인자의 빈도는 상, 하류 간 큰 차이를 보였다. 또한 이 모든 유전에서 하류집단에서는 존재하지만 상류집단에서 존재하지 않는 대립인자들이 있으며 반대의 경우도 관찰되었다(Figure 2).

조사된 두 집단 간 유전적 분화를 조사하기 위해 pair-wise F_{ST} 값을 계산해 본 결과, $0.083(P < 0.001)$ 이라는 수치를 얻었는데, 사실 이러한 수치는 단일 독립 수계 내에서 얻어 지기는 상당히 어려운 수치로 사료되며 두 집단 간 유전자 흐름이 원활하지 않음을 예측할 수 있다. 이러한 수치를 집단의 유전적 구조적 측면에서 분석하기 위하여 Bayesian admixture model을 이용하여 가장 적정 수준의 유전적 cluster 수를 얻었고($K = 2$), 모든 개체들을 집단과 상관없이 각 cluster에 유전적 자료를 바탕으로 할당한 결과 Figure 3과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 검은색으로 표시된 영역은 cluster 1을 의미하며 흰 바탕으로 표시된 영역은 cluster

2를 의미한다. 상류 집단의 모든 개체들은 cluster 1에 할당되었으며, 하류 집단의 개체들은 cluster 2에 해당하는 개체

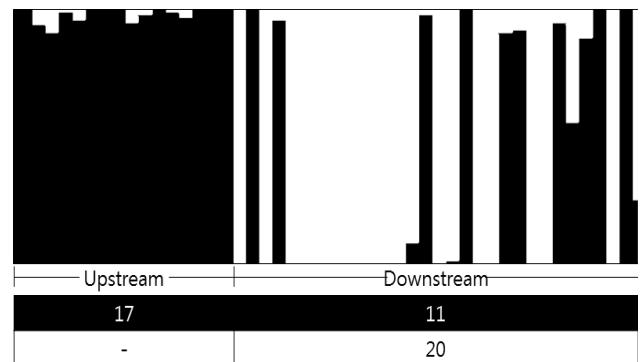


Figure 3. Bayesian analysis of admixture structure between up- and downstream populations of *T. hakonensis* from Samcheok-Oship Stream. Optimal cluster number(K) was determined to be two, and all 17 individuals from upstream population were assigned to the cluster 1(dark shaded). Conversely, 20 individuals(65%) from downstream population were assigned to the cluster 2(white area), while 11 were included in the cluster 1.

Table 4. Data for intra-population genetic demography of up- and downstream populations of *T. hakonensis* from Samcheok-Oship Stream

Population	Bottleneck(T, P)		N_E	% Unrelated bred
	SMM	TPM		
Upstream	-0.250, 0.401	0.742, 0.229	19.0(10.6-25.8)	83.1
Downstream	-0.543, 0.293	1.150, 0.125	15.4(11.2-22.2)	78.5

들이 주류를 이루나(20개체) 일부 cluster 1에 할당된 개체들(11개체)도 상당 부분 존재함을 할 수 있다. 이 결과로 미루어 하류 집단에는 두 가지 다른 유전적 cluster가 존재하며, 약 65%(20/31)의 개체들은 상류 집단과 유전적으로 같이 유집되지 않는다고 결론지을 수 있다.

3. 집단유전학적 역학 구조(Population genetic demographics)

상, 하류 집단 간 유전적 분화에서 유추될 수 있는 상류 집단의 고립과 집단 크기 감소 등의 가능성을 찾기 위해 유전적 다양성 비교 및 집단의 역학적 구조에 관한 유전학적 분석 등을 수행하였다. 기본적으로 상류와 하류의 유전적 다양성의 유의미한 차이는 관찰할 수 없었다(Table 3). 또한 상, 하류 집단 모두에서 집단 크기의 감소로 인한 유의한 유전적 병목현상 가능성은 전혀 발견되지 않았다(Table 4); 조사된 모든 5개 유전자의 결과가 돌연변이-부동 평형(mutation-drift equilibrium)에서 통계적으로 유의하게 벗어나지 않았다(SMM과 TPM model 모두). 그러므로 상류 집단에서 근친 교배의 가능성은 크지 않고, 대부분의 개체들은(약 83%) 가족 외 교배(outbreeding)에 의해 생산되었다고 판단할 수 있다(Table 4). 유효집단 크기(effective population size; N_E) 비교에서도 상, 하류 간 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었다(Table 4).

고찰

본 연구는 총 5개의 microsatellite 유전자를 이용한 삼척 오십천 황어의 집단유전학적 분석으로, 사용된 유전자 중 4개 유전자에서 적어도 6개 이상의 대립인자가 검출되는 등 상당한 변이를 가지고 있는 것으로 나타났다. 게다가 이들 4개 유전자들은 높은 평균 이형접합자 빈도를 가지며, 통계적으로 집단 수준에서 Hardy-Weinberg 평형에서 크게 벗어나지 않아 수계 내 집단 간 유전적 분화와 집단 내 유전적 다양성 등의 분석에 이용하는데 문제가 없는 것으로 판단되었다. 물론 각 조사 집단에서 유전자 별로 이형접합자 관찰치가 예측치에 미치지 못하는 경우가 있기는 하였지만, 아마도 실험 과정 중 가능한 null allele의 존재(크기가 큰

대립인자의 증폭 효율이 떨어지는 경우)나 표본 추출 오류 등의 가능성을 예상해 볼 수 있고, 일부 유전자에서만 일관적이지 않게 나타났기 때문에 집단 내 교배구조나 근친, 혹은 Wahlund 효과 등의 요인은 아닐 것으로 생각된다. 만약 보다 많은 수의 유전자를 고려하여 Hardy-Weinberg 평형 수준에서 완벽한 유전자들만을 선별하여 사용한다면 이러한 문제를 보다 쉽게 해결할 수 있을 것이다. 이미 알려진 이용 가능한 잉어과 어류의 microsatellite 유전자가 상당히 많으며(e.g., Baerwald and May, 2004; Vyskočilová *et al.*, 2007), 황어에서도 향후 시험할 수 있는 다수의 유전자가 존재한다는 점(Koizumi *et al.*, 2011) 등은 이에 대한 희망적인 가능성을 제시한다.

앞에서 언급한 바와 같이 황어는 담수역에서 산란하지만 인위적 장벽이나 계곡 등을 거스르는 도약력이 강하지 않기 때문에(Wan-Ok Lee, personal communication; 주로 건기가 시작되는 시기이기 때문에 보의 높이가 우기에 비해 상당히 높다), 다수의 보를 거슬러서 올라가야 하는 상류 지역에서 발견된 것은 상상하기 어려운 일이다. 따라서 상류 지역에서 서식하는 개체들은 바다와 하천을 이주하지 않고 상류 지역에 그대로 머무는 개체들로 예측해 볼 수 있으며, 만약 이곳에서 이동 없이 많은 세대 지속하며 생식하는 개체들이라면 하류에서 채집된 개체들과의 제한된 유전자 교환이 있을 것으로 생각해 볼 수 있다. 두 집단이 물리적으로 격리된 시기와 세대 수, 상류 집단의 크기 등 다양한 요인이 두 집단 간 유전적 분화에 영향을 미치겠지만, 두 집단 간 현재 유전적 분화를 측정하는 것이 이 집단이 현재에도 물리적으로 격리되어 있는지를 추정할 수 있는 근거를 제공한다는 점에는 이의의 여지가 없다. 또한 이러한 근거가 실험적으로 검증된 예가 없기 때문에, 본 연구에서 시도된 실험들은 그 자체로 상당한 가치를 가진다. 예측한 바와 같이, 많은 대립인자를 두 집단의 개체들이 공유하는 경향성을 보이나, 그 빈도는 상, 하류 간 큰 차이를 보였다.

국내 주요 수계에 비하여 비교적 작은 동해안 하천에서 상류와 하류 집단 간 0.083 정도의 F_{ST} 값이 나타나 주목되었는데, 이 수치는 많은 기존의 연구에서 다른 수계 집단 간 유전적 차이 정도나 그 이상에 해당하는 수치이다(e.g., Castric *et al.*, 2001; Crispo *et al.*, 2006; Suk and Neff, 2009). 개체 수준에서 집단 구조를 분석한 Bayesian admixture model에

서도 2개의 유전적 cluster가 가장 적절한 것으로 나타났고, 하류 집단 개체들 중 절반 미만만이 상류 개체들의 유전적 특성을 가지고 있었다. 이로 미루어 상류 집단의 고립으로 인한 기회적 변동으로 원 집단이 가지고 있는 적은 빈도의 대립인자들이 상류 집단에서 높은 빈도로 나타나게 되었고, 여러 유전자들에서 이러한 현상이 축적되어 상, 하류 집단 간 유전적 차이가 나타나게 된 것으로 추정할 수 있다.

만약 상류의 집단이 물리적으로 하류의 집단과 고립이 되어 있다면, 하류로부터의 개체 공급, 즉 새로운 대립인자의 공급은 이루어질 수 없을 것이고 상류의 집단의 유전적 다양성은 시간이 갈수록 낮아질 것이다. 이러한 면에서 상, 하류 집단 간 유전적 다양성과 유효집단의 크기 등을 조사하는 것은 큰 의미가 있다. 하지만 예측과는 달리 상류 집단의 유전적 다양성이 하류 집단에 비하여 그리 낮지 않았고, 유효집단 크기 역시 적지 않은 것으로 나타났다. 또한 높은 유전적 다양성에서도 예측할 수 있었지만, 상류 집단 내 근친교배의 가능성 역시 낮았다. 이는 아마도 상류 집단으로의 정착이 비교적 많은 개체들을 중심으로(혹은 오랜 기간 반복적으로) 벌어졌고, 이후 집단의 크기 감소도 크지 않아 안정적으로 유전적 다양성을 꾸준히 유지했던 결과로 예상해 볼 수 있다. 이러한 면에서 보에 의한 물리적 격리는 상, 하류 집단 모두에 좋지 못한 영향을 미칠 수 있다; 자연적으로는 가능했던 유전자 공급을(보의 존재로) 상류 집단이 더 이상 받을 수 없으므로 집단의 크기와 유전적 다양성은 시간이 흐를수록 감소할 것이고, 반면 하류 집단은(보의 존재로) 넓은 산란지나 서식처를 얻을 수 없다는 단점을 가질 것이고 이 역시 집단 감소와 상관이 있을 것이다.

동해안 삼척오십천 상류 집단은 하류 집단과는 유전자 흐름이 격리된 집단으로 보이나, 이들 상류 집단이 바다로의 이동 없이 담수에만 거주하는 육봉형인지를 밝히기 위해서는 보다 체계적인 생태적 연구가 필요하다. 그리고 이렇게 격리된 상류형의 존재나 유지에 삼척오십천에 건설된 보나 소형 댐이 정확히 어떤 영향을 미쳤는지는 아직 직접적인 실험으로 증명된 것이 아니다. 현실적으로 국내에서 보나 댐이 건설되지 않은 하천을 찾는 것은 쉬운 일이 아니지만, 만약 보나 댐이 상, 하류 집단을 완벽하게 나누지 않는 지역에서 이와 다른 결과가 제시된다면, 보나 댐의 부정적 영향을 고려해 볼 수 있다. 또한 삼척오십천 상, 하류 간 유전적 분화의 본질을 파악하기 위해서는 다른 동해안 하천 및 남해안 하천 서식 집단과의 비교 역시 필수적이다.

인용문헌

Allan, J.D. and A.S. Flecker(1993) Biodiversity conservation in running waters: identifying the major factors that threaten de-

- struction of riverine species and ecosystems. *BioSci* 43: 32–43.
- Baerwald, M.R. and B. May(2004) Characterization of microsatellite loci for five members of the minnow family Cyprinidae found in the Sacramento–San Joaquin Delta and its tributaries. *Mol. Ecol. Notes* 4: 385–390.
- Carroll, S.P.(2008) Facing change: forms and foundations of contemporary adaptation to biotic invasions. *Mol. Ecol.* 17: 361–372.
- Carroll, S.P., M. Kinnison and L. Bernatchez(2011) In the light of evolution: interdisciplinary challenges in food, health and the environment. *Evol. Appl.* 4: 155–158.
- Castric, V., F. Bonney and L. Bernatchez(2001) Landscape structure and hierarchical genetic diversity in the brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Evolution* 55: 1,016–1,028.
- Corander, J., P. Marttinen, J. Sirén and J. Tang(2008) Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic structures of populations. *BMC Bioinformatics* 9: 539.
- Cornuet, J.M. and G. Luikart(1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2,001–2,014.
- Crispo, E., P. Bentzen, D.N. Reznick, M.T. Kinnison and A.P. Hendry(2006) The relative influence of natural selection and geography on gene flow in guppies. *Mol. Ecol.* 15: 49–62.
- Di Rienzo, A., A.C. Peterson, J.C. Garza, A.M. Valdes, M. Slatkin and N.B. Freimer(1994) Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 3,166–3,170.
- Glaubitz, J.(2004) CONVERT: A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Mol. Ecol. Notes* 4: 309–310.
- Goudet, J.(2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Guo, W. and E.A. Thompson(1992) A Monte Carlo method for combined segregation and linkage analysis. *AM. J. Hum. Genet.* 51: 1,111–1,126.
- Hedrick, P.W. and P.S. Miller(1992) Conservation genetics: techniques and fundamentals. *Ecol. Appl.* 2: 30–46.
- Jungwirth, M., S. Schmutz and S. Weiss(1998) Fish migration and fish by passes. Blackwell Science, Oxford, UK, 440pp.
- Kalinowski, S.T., A.P. Wagner and M.L. Taper(2006) ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Mol. Ecol. Notes* 6: 576–579.
- Kawanabe, H. and N. Mizuno(1989) Freshwater Fishes of Japan. Yama-Kei, Tokyo, 720pp.
- Kinnison, M.T., A.P. Hendry and C.A. Stockwell(2007) Contemporary evolution meets conservation biology II: impediments to integration and application. *Ecol. Res.* 22: 947–

- 954.
- Koizumi, N., T.W. Quinn, M. Park, J. Fike, K. Nishida, T. Takemura, K. Watabe and A. Mori(2011) Isolation and characterization of 21 polymorphic microsatellite loci in the Japanese dace(*Tribolodon hakonensis*). *Cons. Genet. Resour.* 3: 565–567.
- Laroche, J. and J. Durand(2004) Genetic structure of fragmented populations of a threatened endemic percid of the Rhone river: *Zingel asper*. *Heredity* 92: 329–334.
- Marchant, R. and G. Hehir(2002) The use of AUSRIVAS predictive models to assess the response of lotic macroinvertebrates to dams in south east Australia. *Freshw. Biol.* 47: 1,033-1,050.
- Moriyama, T., M. Fujisaku, M. Mizutani and A. Goto(2008) Migration of Japanese dace(Ugui) in water zone network formed by streams, canal and river utilized for irrigation and drainage. *Trans. Jap. Soc. Irrigation Drainage Rural Engineering* 254: 1–10. (in Japanese with English abstract)
- Nakamura, M.(1969) Cyprinid fishes of Japan. Studies on the life history of cyprinid fishes of Japan. Research Institute for Natural Resources, Tokyo, 455pp. (in Japanese)
- Nishimura, S.(1974) Origin of the Sea of Japan. Tsukiji-shokan, Tokyo, 227pp. (in Japanese)
- Peel, D., J.R. Ovenden and S.L. Peel(2004) *N_EESTIMATOR*: software for estimating effective population size, Version 1.3. Queensland Government, Department of Primary Industries and Fisheries, Brisbane.
- Piry, S., G. Luikart and J.M. Cornuet(1999) Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *J. Hered.* 90: 502–503.
- Raymond, M. and F. Rousset(1995) GENEPOP(ver. 1.2): population genetics software for extract tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248-249.
- Sakai, H., A. Goto and S.R. Jeon(2002) Speciation and dispersal of *Tribolodon* species(Pisces, Cyprinidae) around the Sea of Japan. *Zool. Sci.* 19: 1,291–1,303.
- Suk, H.Y. and B.D. Neff(2009) Microsatellite genetic differentiation among populations of the Trinidadian guppy. *Heredity* 102: 425-434.
- Vyskočilová, M., A. Šimková and J-F. Martin(2007) Isolation and characterization of microsatellites in *Leuciscus cephalus*(Cypriniformes, Cyprinidae) and cross-species amplification within the family Cyprinidae. *Mol. Ecol. Notes* 7: 1,150–1,154.
- Waples, R.S., R.W. Zabel, M.D. Scheurell and B.L. Sanderson (2007) Evolutionary responses by native species to major anthropogenic changes to their ecosystems: Pacific salmon in the Columbia River hydropower system. *Mol. Ecol.* 17: 84–96.
- Weir, B.S.(1979) Inferences about linkage disequilibrium. *Biometrics* 35: 235-254.
- Wofford, J.E.B., R.E. Gresswell and M.A. Banks(2005) Influence of barriers to movement on within-watershed genetic variation of coastal cutthroat trout. *Ecol. Appl.* 15: 628–637.