

야생동물의 유전적 단절정도 분석을 통한 생태이동통로 설치 우선순위 선정

글 · 사공정희 충남발전연구원 책임연구원

유전적 단절정도 분석의 필요성

생태이동통로는 야생 동식물의 생태적 이동을 위해 설치하는 것으로서 합리적인 위치 선정이 매우 중요하며, 이를 위해 일반적으로 로드킬조사가 가장 많이 수행되고 있는 실정이다. 즉, 중요 야생동물의 로드킬 발생지점을 중심으로 생태이동통로 위치가 정해지고 있는데 이는 물리적으로 단절된 산림에 서식하는 야생동물이 유전적으로도 실제 단절되었음을 의미하는 것은 아니다. 따라서 생태이동통로의 합리적인 위치 선정을 위해서는 야생동물의 유전자 흐름의 영향을 파악하는 것도 중요하다고 할 수 있다.

이번 연구는 충남 광역산림생태축의 생태적 연결성을 확보한다는 측면에서, 중요 단절지점에 생태이동통로를 설치하기 위한 우선순위를 정하는데 목적이 있다. 따라서 중요 단절지점들의 양쪽 산림에 서식하는 야생동물의 유전적 단절정도를 분석·비교하여 유전적 차이가 크게 나타날수록 양쪽 산림 간의 단절정도 역시 심각한 것으로 정의하였다. 이를 위해 전통적인 FST를 이용한 대립유전자빈도기반의 유전학적 방법을 이용하여 상대적으로 개체수가 풍부한 설치류를 대상으로 유전적으로 개체군 분화(population differentiation)가 크게 나타나는 순서에 따라 생태이동통로 설치의 우선순위를 결정하였다.

대상종 포획

2010년 여름과 가을(8~11월 : 본샘플링), 2011년 봄(5월 : 추가샘플링) 동안 충남 산림생태축 단절지점 중 중요 지점으로 선정된 바 있는 14개 지점에 대해 모두 4회에 걸쳐 지속적인 설치류 포획 조사 수행하였으며, 설치류 포획 생체포획용 텃인 셔먼트랩을 이용하였다. 포획된 설치류 개체들은 에스테르를 이



용하여 마취하였고, 종, 성, 연령 등을 측정하였다. 샘플은 각 채집기간 동안 임시적으로 -10℃ 냉동고에 보관 후, 최종적으로 -20℃ 냉동고로 옮겨 DNA 추출 전까지 장기보관하였다. 포획된 설치류의 조사결과, 흰넓적다리붉은쥐(*Apodemus peninsulae*), 등줄쥐(*A. agrarius*), 대륙밭쥐(*Clethrionomys rufocanus*), 다람쥐(*Tamias sibiricus*) 등 총 199개체를 포획하였다.

〈표 1〉 14개 지점 설치류샘플링 정보(괄호 안은 단절된 양쪽지점에서의 설치류 샘플링 수)

종/조사지점	Site1	Site2	Site3	Site4	Site5	Site6	Site7	Site8	Site9	Site10	Site11	Site12	Site13	Site14	총계
흰넓적다리붉은쥐 (<i>A. peninsulae</i>)	7 (4/3)	7 (7/0)	10 (5/5)	14 (7/7)	4 (1/3)	15 (7/8)	11 (6/5)	4 (3/1)	8 (6/2)	5 (4/1)	8 (6/2)	11 (6/5)	3 (0/3)	7 (5/2)	114 (67/47)
등줄쥐 (<i>A. agrarius</i>)	4 (0/4)	6 (4/2)	23 (8/15)	12 (2/10)	4 (3/1)	1 (1/0)	0 (0/0)	8 (5/3)	0 (0/0)	0 (0/0)	3 (1/2)	0 (0/0)	11 (10/1)	1 (1/0)	73 (35/38)
대륙밭쥐 (<i>Clethrionomys rufocanus</i>)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	1 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	1 (1/0)	1 (0/1)	1 (1/0)	4 (0/4)	2 (0/2)	2 (1/1)	0 (0/0)	12 (3/9)
다람쥐 (<i>Tamias sibiricus</i>)	1 (0/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	2 (2/0)	0 (0/0)	3 (0/3)	0 (0/0)	2 (0/2)	0 (0/0)	0 (0/0)	2 (1/1)	10 (3/7)
총 계	12 (4/8)	13 (11/2)	33 (13/20)	27 (9/18)	8 (4/4)	16 (8/8)	13 (8/5)	13 (9/4)	12 (6/6)	6 (5/1)	17 (7/10)	13 (6/7)	16 (11/5)	10 (7/3)	199 (108/101)

유전적 단절정도 분석의 필요성

채집된 모든 설치류의 혀조직에 LaboPassTMTissuekit(CosmoGenetech)을 이용하여 total genomic DNA를 추출하였다. 이 genomic DNA를 이용하여 미토콘드리아 D-loop region에 대한 PCR를 수행하였으며, 정제된 PCR 생성물은 ABI PRISM3100 Genetic Analyzer(Applied Biosystems)를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

채집된 총 4종의 설치류 중 포획된 수가 상대적으로 많은 흰넓적다리붉은쥐와 등줄쥐의 염기서열은 AlignR version 2.0(Li-Cor)을 이용하여 정리하였으며, 이렇게 얻어진 염기서열은 DNAsp version 4.0(Rozas et al. 2003)을 이용하여 유전적 다양성(genetic diversity)을 계산하였다. 두 종의 상대적인 유전적 다양성을 판단하는데 샘플 크기(sample size, N), 반수체형 수(no. haplotype, A), 반수체 다양성(haplotype diversity, h), 염기서열 거리(sequence divergence, Ps), 뉴클레오타이드 다양성(nucleotide diversity, π) 등의 정보를 비교하였고, Ps는 Mega version 4.0(Kumar et al. 2004)을 이용하여 각 종에 대하여 계산하였다.

대상종 선정

대상종 선정에 앞서 우선적으로 이용할 유전자 마커로 미토콘드리아의 partial D-loop region을 선정하였다. 대상종 선정에 있어서는, 14개 지점에서 흰넓적다리붉은쥐(n=114)가 상대적으로 동줄쥐(n=73)보다 더 많이 더 고르게 포획되었으므로 샘플수를 고려해 볼 때 흰넓적다리붉은쥐가 더 합리적이라 할 수 있다. 또한, 개체군 분화와 유전자 흐름의 영향을 파악하는 분석에서 염기서열의 변이가 아닌 반수체형의 수만을 고려해 볼 때, 두 종의 반수체형 다양성은 거의 유사하여, 개체군의 유전적 분화에 대한 분석 결과의 차이는 미미할 것이므로 이 연구에서는 흰넓적다리붉은쥐를 대상종으로 선정하는 것이 합리적이라 판단된다.

단절구간의 유전적 단절정도 분석 및 복원우선순위 선정

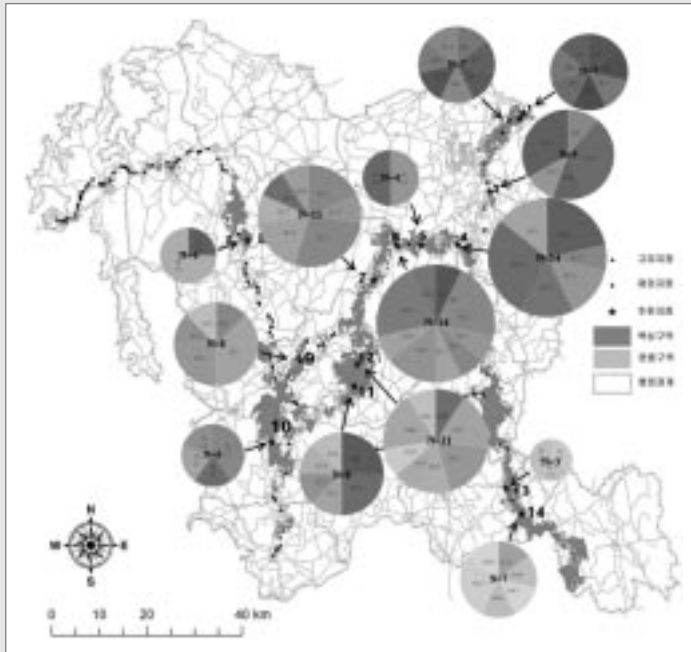
총 199개체의 샘플 중 흰넓적다리붉은쥐는 114개체(약 54%)로, 이중 PCR에 실패한 2개체를 제외하 나머지 112개체의 샘플에서 염기서열(48개의 반수체형)을 얻었다. 각 지점에서의 반수체형 빈도(haplotype frequency)의 분포는 Site 4와 6에서 가장 많은 반수체형의 수(n=4)를, 반대로 site 13은 가장 적은 반수체형의 수(n=3)를 보였다. 이렇게 얻어진 반수체형에 대한 결과를 이용하여, 각 지점별 채집된 흰넓적다리붉은쥐의 유전적 다양성을 파악하였다. 그 결과, 전체 반수체형 다양성과 뉴클레오타이드 다양성은 각각 0.972%와 0.920%로 나타났고, 전체 반수체형의 유전적 거리(Ps)는 0.995%로 나타났다.

〈표 2〉 14개 지점의 흰넓적다리붉은쥐에 대한 정보(괄호는 각 지점의 양쪽 지점에 대한 값)

Parameter	Site1	Site2	Site3	Site4	Site5	Site6	Site7	Site8	Site9	Site10	Site11	Site12	Site13	Site14	전체
N	7(4/3)	7(7/0)	9(4/5)	14(7/7)	4(1/3)	14(7/7)	11(6/5)	4(3/1)	8(6/2)	5(4/1)	8(6/2)	11(6/5)	3(0/3)	7(5/2)	112
A	7(4/3)	7(7/0)	5(3/3)	6(4/3)	2(1/2)	10(6/5)	7(4/4)	2(2/1)	5(5/1)	4(4/1)	6(5/2)	8(5/4)	3(0/3)	6(5/2)	48
h	1.000	1.000	0.833	0.868	0.667	0.934	0.909	0.500	0.857	0.900	0.929	0.945	1.000	0.952	0.972
π (%)	1.046	1.053	0.526	0.897	0.909	0.751	0.782	0.152	0.871	0.667	0.952	0.926	0.606	1.010	0.920
Ps(%)	1.058	1.065	0.687	1.062	1.379	0.907	0.903	0.304	0.917	0.763	1.062	0.989	0.610	1.002	0.995

주) N : 샘플크기(sample size), A : 반수체형 수(no. haplotype), h : 반수체 다양성(haplotype diversity), π : 뉴클레오타이드 다양성(nucleotide diversity), Ps : 염기서열 거리(sequence divergence)

〈그림 1〉 14개 지점에서의 반수체형 빈도의 분포



(48개의 서로 다른 색은 서로 다른 반수체형을 나타내고, 샘플수(N)에 따라 원의 크기 다름

치한 싱크 개체군(sink population; Site 1 and 14)을 개체군 분화(population differentiation)와 유효이주 개체수(migration rate) 분석에서 재차 제외하였다. 중심의 안정된 산림서식지의 경우에도 개체군들간의 높은 단절성과 낮은 이동성이 예상되므로 생태/유전적으로 중요한 내부의 소스 개체군의 안정화가 무엇보다도 시급할 것으로 생각된다.

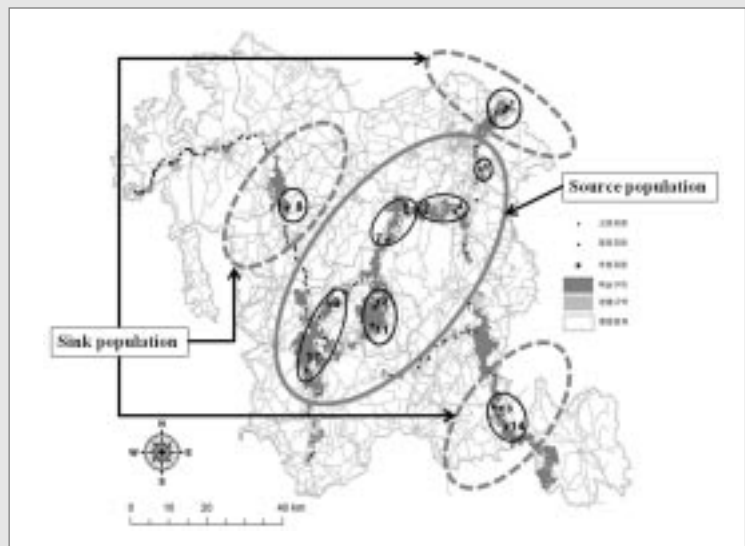
각 지점의 양쪽 지역의 개체군 분화 정도를 나타내는 FST의 경우, Site 7이 가장 높은 값(0.315)을 나타내었고, 그 뒤

이와는 대조적으로 각 지점의 유전적 다양성은 서로 차이를 보였다.

우선대상 이동통로 지점 선정을 위해 1차적으로, 14개 지점들 중 채집된 샘플수($n < 7$)가 너무 적은 곳(Site 5, 8, 10, 13)은 제외하였다. 또한, 각 지점의 양쪽 지역 중 한 지역이라도 샘플수($n < 2$)가 너무 적은 곳(Site 2) 역시 분석에서 제외하였다. 따라서 총 14개 지점 중 9개 지점(Site 1, 3, 4, 6, 7, 9, 11, 12, 14)을 1차 우선대상 생태이동통로 지점으로 선정하였다.

한편, 1차적으로 선정된 9개의 지점에서 충청남도 소스 개체군(source population: Site 3, 4, 6, 7, 9, 11, 12)과 멀리 떨어진 가장 바깥쪽에 위

〈그림 2〉 14개 지점 중 소스개체군



를 이어 Site 9, 3 그리고 4가 각각 0.311, 0.239, 0.190으로 나타났다. 그 외 Site 6(0.095), 11(0.047), 12(0.083)는 분화 정도가 매우 낮게 나타나 양쪽 지역의 개체군 간의 분화가 거의 없는 것으로 나타났다. 유효이주개체수 역시 Site 3, 4, 7보다 Site 6, 11, 12에서 상대적으로 높은 값을 보여주었으므로 유전적 단절정도는 Site 7, 9, 3, 4에서 가장 높게 나타났다.

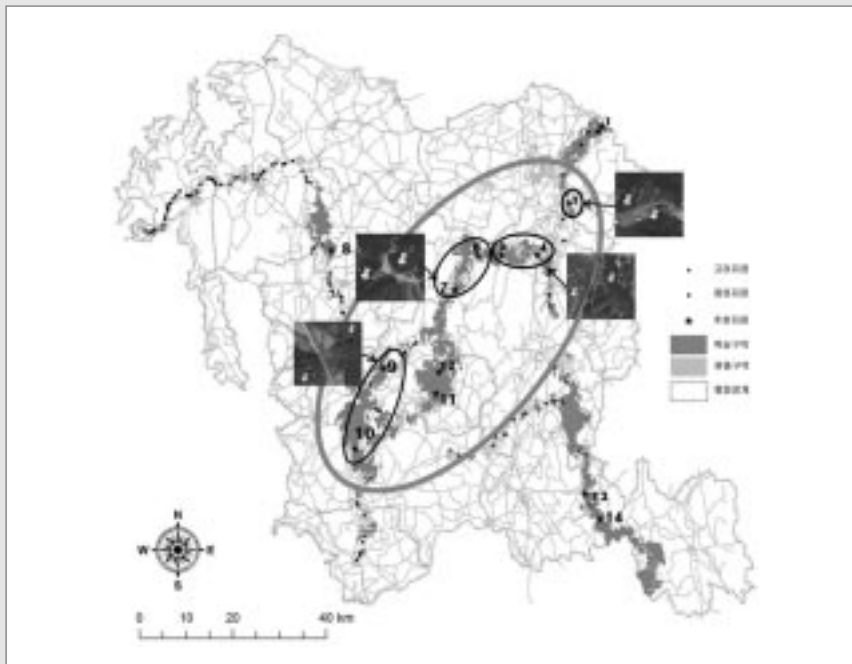
각 지점별로 채집된 샘플수가 약 10개체 전후이므로 분석을 위해서는 부족한 편이며, 이로 인해 결과의 명확성은 떨어질 수 있을 것이나 그럼에도 불구하고, 유전적 단절정도에 의한 연결필요성이 높은 곳으로 선별된 Site 3, 4, 7, 9는 FST에서 모두 가장 높은 개체군간의 분화를 보였고, 그 P 값 역시 유의한

〈표 3〉 14개 지점 중 최종 선정된 7개의 지역에서의 흰넓적다리붉은쥐에 대한 정보(괄호는 각 지점의 양쪽지점에 대한 값)

Parameter	Site3	Site4	Site6	Site7	Site9	Site11	Site12
N	94/5	147/7	147/7	116/5	86/2	86/2	116/5
A	53/3	64/3	106/5	74/4	55/1	65/2	85/4
Ps/w two areas	0.572	0.991	0.883	0.867	0.994	1.073	0.907
Allele frequency based FST	0.239	0.190	0.095	0.315	0.311	0.047	0.083
FST P value	<0.05*	<0.05*	0.135	<0.05*	0.081	0.559	0.216
Nm	0.251	0.210	0.482	0.295	0.702	0.424	0.405

주) N : 샘플크기(sample size), A : 반수체형 수(no. haplotype), h : 반수체 다양성(haplotype diversity), π : 뉴클레오타이드 다양성(nucleotide diversity), Ps : 염기서열 거리(sequence divergence)

〈그림 3〉 14개 지점 중 소스개체군 내에서 특히 유전적 단절이 심각한 4개 지점





양상을 보여주었다.

또한, 해당 지점들의 양쪽 지역에 서식하는 개체들 간의 유효이주개체수도 다른 지점들에 비해 일반적으로 낮은 값을 보여 각 지점의 도로에 의한 상대적으로 더 심한 서식지 단편화(habitat fragmentation)의 양상을 나타내었다.

맺음말

이번 연구는 생태적 연결성 확보를 위한 생태이동통로를 설치함에 있어서 실제 단절지점에 서식하는 야생동물의 유전적 단절정도를 기준으로 생태이동통로의 설치 우선순위를 결정하는 데 목적이 있었다. 즉, 도로에 의해 단절된 충남 산림생태축에 대한 막연한 연결방안 제시보다는 야생동물의 유전적 단절 정도와 같이 보다 구체적인 생태적 기준에 따라 단절지점들의 우선순위를 정할 수 있었다. 이를 통해 생태이동통로를 조성하기 위한 행정적 순차를 제시할 수 있었으며, 다양한 생태적 기준을 제시함으로써 국가사업과의 연계가능성도 높일 수 있다는 측면에서 매우 중요하다고 하겠다. 향후 연구에서는 이번에 선정된 최우선 순위의 4개 지점들에 대해 보다 정밀한 현장조사와 이를 통해 가장 적합한 생태이동통로의 형태 제시가 필요하다고 할 수 있다.

참고문헌

- Kumar, S., Tamura, K., Nei, N., 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X., Rozas, R., 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- 충청남도, 2012. 충청남도 광역생태네트워크 구축을 위한 자연환경조사연구(3차)

