

NIE-B-2025-47

멸종위기 담수어류·양서파충류
훼손 평가 및 복원 연구('25)

Study on Assessment of Habitat Degradation and Restoration for
Endangered Freshwater Fishes, Amphibians, and Reptiles ('25)

NATIONAL
INSTITUTE OF ECOLOGY

연구진

연구책임자	윤주덕	어류·양서파충류복원팀	책임연구원
연구참여자(내부)	김근식	어류·양서파충류복원팀	선임연구원
	강동원	어류·양서파충류복원팀	선임연구원
	권관익	어류·양서파충류복원팀	전임연구원
	박창득	어류·양서파충류복원팀	전임연구원
	유나경	어류·양서파충류복원팀	전임연구원
	유정우	어류·양서파충류복원팀	전임연구원

본 연구진은 연구윤리를 준수하였음을 서약합니다.

요 약 문

어류와 양서·파충류 분류군은 전세계적으로 멸종위기 비율이 높은 것으로 평가되며, 개체수 감소와 서식지 훼손은 생태계 기능과 생물다양성 유지에 중대한 위협요인으로 작용했다. 본 연구는 환경DNA(eDNA) 등 분자생태 기반 기법과 서식지 적합성 분석을 결합하여 멸종위기 담수어류 및 양서·파충류의 분포·서식 특성을 정량화하고, 복원 및 보전 전략을 데이터 기반으로 제시하는 데 목적을 두었다. 또한 훼손요인 진단, 인공증식 및 개체군 보강, 먹이원·먹이망 분석, 잠재서식지 탐색, 유해조수-어류 상호작용 평가, 서식지 관리 카드 및 디지털 야장 기반 현장관리 체계 구축을 통합적으로 수행했다.

(모래주사) 모래주사는 18S rRNA 메타바코딩을 이용해 먹이자원 구성을 규명했으며, 주요 먹이원으로 돌말류(Bacillariophyta)와 녹조류(Chlorophyta)의 기여가 두드러졌다. 이는 모래주사의 서식처가 유지되기 위해 수리·물리적 조건뿐 아니라 부착조류 기반의 먹이자원 생산성과 저서생물군집의 안정성이 함께 뒷받침되어야 함을 시사한다. 따라서 향후 복원 및 관리에서는 하상 구조, 유속·수심 조건, 수질과 더불어 먹이 기반(부착조류 및 저서성 먹이원)의 유지·회복을 통합적으로 고려해야 한다.

(꼬치동자개) 꼬치동자개는 훼손 평가를 통해 개체군 감소 및 서식지 질 저하를 유발하는 원인을 진단했다. 하천 정비 및 준설에 따른 서식처 단순화, 횡적 구조물로 인한 연결성 저하, 수질 악화 및 교란원의 복합 작용이 압력으로 작동하는 양상이 확인되었다. 이러한 결과는 복원 전략 수립 시 물리적 연결성 회복, 하상 및 은신처 구조의 다양성 확보, 오염원 저감과 같은 관리요소를 단일 처방이 아닌 통합 패키지로 설계·적용해야 함을 뒷받침한다.

(비바리뱀) 비바리뱀은 GIS 기반 공간분석을 통해 경사도, 수계와의 거리 등 핵심 서식지 요인을 도출했으며, 상대적으로 습윤한 환경 조건과 연계되는 지형·수문 특성에 영향을 받는 경향이 나타났다. 또한 주요 먹이로 고려되는 대륙유혈목이의 서식 환경 특성과 먹이자원(먹이망) 구성을 함께 분석하여 포식자-피식자 연계 관점의 기초자료를 축적했다. 이는 비바리뱀 보전이 단일 종의 출현 환경만으로 충분히 설명되기보다, 먹이생물의 분포와 서식조건을 포함하는 생태계 단위 관리로 확장되어야 함을 시사한다.

(수원청개구리) 수원청개구리는 기후변수와 토지피복, 인위교란 지표를 포함한 생태적 지위(종분포) 모델링을 수행했고, 기존 핵심 서식권역인 경기도 및 충청남도

일대에서 서식 적합성이 상대적으로 높거나 유지되는 공간적 경향이 확인되었다. 또한 기후변화 시나리오 적용을 전제로, 미래 서식지 적합성 변화 가능성을 비교·평가할 수 있는 예측 기반을 구축했다. 이 결과는 보전·복원 전략이 잠재서식지 탐색뿐 아니라 기존 핵심 서식지의 질적 유지, 경관 단절 완화, 교란요인(토지이용 변화·인프라 확장 등) 관리에 초점을 두어야 함을 시사한다.

(남생이) 남생이는 출현 - 비출현 자료를 기반으로 서식지 적합성 분석을 수행하여, 서식지 결정요인에 대한 데이터 기반 근거를 도출했다. 분석 결과 서식지 적합성은 경사도와 고도 등 지형 요인이 주요 설명변수로 작동할 가능성이 높게 나타났으며, 이는 남생이의 공간분포가 지형 조건에 의해 구조적으로 제약될 수 있음을 의미한다. 본 연구는 현 시점의 적합성 패턴을 정량화함으로써 향후 기후변화 시나리오를 적용한 미래 예측 분석을 수행할 수 있는 과학적 기준선을 마련하고자 했으며, 결과적으로 잠재 관리지역 설정, 대체서식지 후보지 검토, 현장 조사·모니터링 우선순위 도출 등 보전 전략을 데이터 기반으로 제시했다.

(금개구리) 금개구리는 개체군 강화를 목적으로 방사 이후 모니터링을 지속적으로 수행했으며, 모니터링 과정에서 동면 중인 개체를 확인하고 방사 개체로부터 유래한 것으로 판단되는 F₁ 개체의 출현을 확인했다. 이는 단순 생존 확인을 넘어 현지에서 번식과 세대 전이가 관찰된 사례로서 복원 성과를 평가하는 핵심 근거가 된다. 또한 월 단위 모니터링 체계를 유지함으로써 방사 이후 개체군 동태와 서식지 이용 양상을 장기적으로 추적할 수 있는 기반을 구축했다.

(유해조수-멸종위기 담수어류) 유해조수(왜가리)와 담수어류의 관계는 환경DNA 기반 분석을 통해 먹이 이용 경향을 평가했으며, 왜가리가 특정 멸종위기종을 표적으로 삼기보다는 하천 내 먹이 가용성이 높은 흔한 어종을 주로 이용하는 경향이 강하게 나타났다. 이는 유해조수의 잠재 영향이 '특정 보호종 집중 포식'만으로 단정되기보다 하천의 먹이자원 풍부도와 어류 군집 구조에 의해 달라질 수 있음을 보여준다. 따라서 관리 전략은 유해조수 대응과 함께 하천 서식처의 구조적 복잡도(피난처 제공), 먹이자원 구조, 어류 군집 안정성 확보를 포함하는 생태계 기반 접근으로 설계될 필요가 있다.

(서식지 관리 카드) 서식지 관리 카드는 종별 핵심 서식요건을 현장 적용 항목으로 정리한 표준 관리 도구로서, 조사·평가·개선·모니터링 단계에서 일관된 판단 기준을 제공하도록 구성되었다. 카드는 미소서식처 요소, 주요 위협요인, 점검 지표 및 관리 권고사항을 포함하여 현장 기록의 표준화와 관리 우선순위 설정, 복원 설계 및 방류·방사 적지 판단으로의 연계를 지원했다. 또한 디지털 야장과 연계하여 자료를 누적·관리하고 반복조사 기반의 비교·환류가 가능하도록 운영 기반을

마련했다.

본 연구는 (1) 훼손 평가를 통한 감소원인 진단과 관리요인 도출(꼬치동자개), (2) 메타바코딩 기반 먹이원·먹이망 분석을 통한 서식처 질 평가 및 복원 설계의 생물학적 근거 강화(모래주사, 비바리뱀 - 대륙유혈목이 연계), (3) 종분포모델 및 출현 - 비출현 자료 기반 서식지 적합성 분석을 통한 서식지 결정요인 정량화와 예측 기반 구축(수원청개구리, 남생이), (4) 방사 이후 성과평가를 위한 장기 모니터링 수행 및 번식·세대전이 확인을 통한 복원 성과의 실증적 제시(금개구리), (5) eDNA 기반 유해조수의 먹이 이용 경향 분석을 통한 '종 표적성'보다 '먹이가용성' 중심의 영향 구조 제시와 관리 방향 도출을 통합적으로 수행했다. 더불어 서식지 관리 카드와 디지털 야장을 통해 종별 관리항목을 표준화하고 현장 데이터의 축적·비교·환류 체계를 구축함으로써, 복원사업이 단발성 조치에 머무르지 않고 증거 기반 의사결정과 적응적 관리로 고도화될 수 있는 기반을 제공한 것으로 판단된다.

주요어: 환경DNA, 서식지 복원, 기후변화 예측, 유해조수 관리, 증식 기술

<목 차>

요 약 문	i
목 차	v
표 목 차	vi
그림목차	vii
Abstract	ix
1. 연구배경 및 목적	1
가. 연구배경	1
나. 연구목적	1
다. 당해연도 목표	1
2. 연구 수행	2
가. 연구방법 및 수행경과	2
나. 연구내용	20
3. 연구 결과	23
가. 연구 결과 및 고찰	23
나. 연구목표 달성	78
다. 성과목표 달성	79
라. 결과의 우수성	80
4. 연구 활용	82
가,나,다. 정책적·생태환경적·기술적 기여	82
라,마,바,사. 사회·경제적·과학학문적·교육적 기여	83
5. 참고문헌	84

〈표 목차〉

〈표 1〉 꼬치동자개 서식지 내 환경 특성	7
〈표 2〉 청개구리류 유전형 분석을 위한 실시간 PCR 반응액 조성	8
〈표 3〉 청개구리류 유전형 분석을 위한 실시간 PCR 조건	8
〈표 4〉 수원청개구리 환경유전자 분석을 위한 채수 지점	16
〈표 5〉 수원청개구리 DNA 증폭을 위한 qPCR 조건	17
〈표 6〉 조사 지점별 비바리뱀, 대륙유혈목이 출현 지점의 평균 환경변수 값	29
〈표 7〉 조사 지점별 비바리뱀, 대륙유혈목이 출현 및 환경 변수	31
〈표 8〉 샘플별 시퀀싱 성능 및 다양성 지표 요약	32
〈표 9〉 꼬치동자개 출현지점과 미출현지점의 서식지 환경요인 비교	36
〈표 10〉 Random Forest 및 MaxEnt 모델 기반 수원청개구리 서식지 적합성 예측 성능 평가 ...	41
〈표 11〉 남생이 출현 지점의 환경 변수와 주성분 분석(PCA) 서열화 축 간의 적합성(Environmental fit) 분석 결과	44
〈표 12〉 왜가리 분변 메타바코딩에서 검출된 출현빈도(FOO) 기준 상위 20종의 FOO 및 상대 read 풍부도(RRA)	55
〈표 13〉 수원청개구리 서식 확인을 위한 채수 날짜, 지역, Ct값	61

〈그림 목차〉

〈그림 1〉 모래주사 분변 시료 확보 과정	2
〈그림 2〉 라이브러리 제작(위) 및 생물정보학적 분석(아래) 과정	2
〈그림 3〉 나무판자 트랩 및 직접 포획을 위한 안전장비	3
〈그림 4〉 두개골 landmark 지점(Paluh et al. 2020)	9
〈그림 5〉 우리나라 전국 남생이 분포 지도	12
〈그림 6〉 왜가리 번식지 분변 샘플링 방법(좌) 및 인근 하천수 채수 방법(우)	14
〈그림 7〉 금개구리 PIT telemetry를 통한 모니터링	18
〈그림 8〉 서식지 관리카드 작성 순서	20
〈그림 9〉 모래주사 먹이생물 전체 비율(n=9)	23
〈그림 10〉 모래주사 개체별 먹이생물 구성 비율(n=9)	24
〈그림 11〉 조사중 발견된 비바리뱀(좌), 대륙유혈목이(우)	25
〈그림 12〉 트랩에서 발견된 파충류 종과 개체수	25
〈그림 13〉 조사에 사용된 방수나무판자(좌) 및 조사 모습	26
〈그림 14〉 월별 출현 개체수 및 제주도 기상자료	27
〈그림 15〉 비바리뱀 서식 환경 유형 파악을 위해 구축된 공간정보자료	28
〈그림 16〉 비바리뱀 트랩 설치 지점	29
〈그림 17〉 진핵생물 18S rRNA NGS 분석을 기반으로 한 대륙유혈목이의 분변 샘플에 대한 총 판독값과 ASV 풍부도 간의 관계를 보여주는 희귀화 곡선	33
〈그림 18〉 metric-MDS 분석 결과	34
〈그림 19〉 문, 강, 종 순서에 따라 분류된 대륙유혈목이의 분변에서 먹이원 상대적 읽기 풍부도(RRA)와 발생 빈도(FOO) 구성	35
〈그림 20〉 꼬치동자개 개념적 훼손진단 모델	37
〈그림 21〉 꼬치동자개 종 복원사업 보전 상황모형	37
〈그림 22〉 모래주사 인공증식 매뉴얼 발간	38
〈그림 23〉 청개구리류 6개 집단의 유전자형 분석 기반 Principal Coordinates Analysis (PCoA) ...	39
〈그림 24〉 청개구리류 두개골 사진	40
〈그림 25〉 수원청개구리의 서식지 환경 특성 분석	40
〈그림 26〉 생태적 지위 모델에서 수원청개구리 출현에 영향을 미치는 환경 변수를 나타내는 부분 의존도 그림(partial dependence plot)	41
〈그림 27〉 각 생태학적 지위 모델에서 수원청개구리 출현에 대한 변수 중요도 ...	42

<그림 28> 수원청개구리 잠재서식지	42
<그림 29> 랜덤 포레스트모델 기반의 남생이의 서식지 내 환경 변수 중요도 평가 ...	43
<그림 30> 남생이가 출현한 서식지 환경 특성을 시각화한 주성분 분석(PCA) 바이플롯 ..	45
<그림 31> 환경 변수에 대한 남생이 서식 확률 반응 곡선	47
<그림 32> 메타바코딩 분석 시료별 희소화 곡선 분석 결과	49
<그림 33> 분변 시료 메타바코딩 분석에서 확인된 분류학적 조성(문·강·목)별 상대 read 풍부도(RRA)와 출현빈도(FOO) 비교	51
<그림 34> 분변 메타바코딩 분석 결과를 강(Class) 수준에서 요약한 출현빈도(FOO) 기반 상대조성(%)의 시료별 비교	52
<그림 35> 분변 시료의 어류 종 조성에 대해 Bray-Curtis 거리 기반 nMDS 결과	53
<그림 36> 종 수준(species-level)에서 분변 RRA(Relative read abundance)와 하천수 RRA 간의 상관을 나타낸 산점도	56
<그림 37> 종 수준(species-level)에서 분변 FOO(Frequency of occurrence)와 하천수 FOO 간의 상관을 나타낸 산점도	57
<그림 38> 수원청개구리 서식 확인을 위한 환경유전자 실시간 PCR 증폭 결과	60
<그림 39> 2차년도 금개구리 모니터링 변화 양상 및 Tag 크기별 재포획율 비교 ...	63
<그림 40> 담수어류 서식지 관리카드 측정 항목	64
<그림 41> 멸종위기 담수어류 서식지 관리 카드 작성용 야장	65
<그림 42> 수원청개구리 및 금개구리 서식지 관리 카드 작성용 야장 ...	66
<그림 43> 디지털 야장을 통해 작성된 서식지 현장조사 결과 DB	74
<그림 44> 모래주사 서식지 관리 카드(영강, 문경시 호계면)	75
<그림 45> 모래주사 서식지 관리 카드(낙동강, 봉화군 법전면)	75
<그림 46> 모래주사 서식지 관리 카드(임천, 함양군 휴천면)	76
<그림 47> 수원청개구리, 금개구리 서식지 드론 전경사진	76

Abstract

Freshwater fishes and amphibian-reptile taxa are widely regarded as highly threatened groups worldwide, and ongoing population declines and habitat degradation have posed substantial risks to ecosystem functioning and biodiversity conservation. This study aimed to quantify distributional and habitat characteristics of endangered freshwater fishes and amphibian-reptile taxa by integrating molecular ecological approaches, including environmental DNA (eDNA), with habitat suitability analyses, and to propose restoration and conservation strategies on a data-driven basis. An integrated research framework was implemented encompassing diagnosis of degradation drivers, artificial propagation and population reinforcement, diet and food-web analyses, exploration of potential habitats, assessment of interactions between nuisance wildlife and fishes, and development of field-operational management tools (habitat management cards and a digital field logbook system).

(*Microphysogobio rapidus*) Diet composition was characterized using 18S rRNA metabarcoding, revealing prominent contributions of diatoms (Bacillariophyta) and green algae (Chlorophyta). These results indicate that persistence of this species' habitat depends not only on hydrological and physical conditions but also on the productivity of periphyton-based food resources and the stability of benthic communities. Accordingly, restoration and management should jointly consider substrate structure, flow and depth regimes, water quality, and the maintenance and recovery of food-resource bases (periphyton and benthic prey resources).

(*Pseudobagrus brevicorpus*) A habitat degradation assessment was conducted to diagnose major drivers of population decline and deterioration in habitat quality. Multiple pressures were identified, including habitat simplification caused by river engineering and dredging, reduced longitudinal connectivity due to transverse instream structures, and compounded effects of water-quality degradation and other disturbance sources. These findings support the need to design and apply restoration measures as integrated intervention packages—combining connectivity restoration, enhancement of substrate and refuge heterogeneity, and pollutant-load reduction—rather than as single, isolated prescriptions.

(*Sibynophis chinensis*) GIS-based spatial analyses identified key habitat determinants

such as slope and distance to hydrological networks, and indicated a tendency for habitat associations with geomorphic and hydrological conditions linked to relatively humid environments. In addition, ecological analyses were expanded to the trophic context by examining habitat environments and prey-resource (food-web) composition of a principal prey species (*Hebius vibakari*). This predator - prey linkage provides baseline evidence that effective conservation of *S. chinensis* should extend beyond the focal species' occurrence environment to an ecosystem-based management perspective that incorporates prey distribution and habitat requirements.

(*Dryophytes suweonensis*) Ecological niche/species distribution modeling incorporating climatic variables, land-cover characteristics, and anthropogenic disturbance indicators revealed spatial patterns of relatively high or sustained habitat suitability within the core distribution region in Gyeonggi-do and Chungcheongnam-do. A predictive foundation was further established to evaluate potential future changes in habitat suitability under climate-change scenarios. These results suggest that conservation and restoration strategies should prioritize not only the identification of new suitable sites but also the maintenance of habitat quality within core areas, mitigation of landscape fragmentation, and management of disturbance drivers such as land-use change and infrastructure expansion.

(*Mauremys reevesii*) Habitat suitability was analyzed using presence - absence data to derive empirical, data-driven evidence for habitat determinants. The results indicate that topographic factors—particularly slope and elevation—are likely to function as major explanatory variables, implying that spatial distribution may be structurally constrained by geomorphic conditions. By quantifying current suitability patterns, this study established a scientific baseline to support future predictive analyses under climate-change scenarios, and presented data-driven conservation strategies including identification of priority management areas, screening of candidate alternative habitats, and prioritization of field surveys and monitoring efforts.

(*Pelophylax chosenicus*) Post-release monitoring was conducted continuously to reinforce populations, during which overwintering individuals were confirmed and the occurrence of F1 individuals likely originating from released stock was documented. This constitutes key evidence of restoration success, extending beyond survival to reproduction and generational turnover in situ. The maintenance of a monthly monitoring scheme also provided an operational basis for long-term tracking of

population dynamics and habitat use following release.

(Nuisance wildlife - endangered freshwater fish) The relationship between a nuisance waterbird (*Ardea cinerea*) and freshwater fishes was evaluated using eDNA-based analyses of feeding tendencies. Results indicated that *A. cinerea* was more likely to utilize common fish species in river sections with high prey availability rather than selectively targeting specific endangered taxa. This finding demonstrates that potential impacts of nuisance wildlife cannot be reduced to “targeted predation on protected species” alone, but may vary with prey availability and community structure. Therefore, management should adopt an ecosystem-based approach that complements nuisance wildlife responses with measures enhancing habitat structural complexity (refugia provision), stabilizing prey-resource structure, and maintaining fish community resilience.

(Habitat management cards) Habitat management cards were developed as standardized, field-applicable tools that translate species-specific habitat requirements into operational assessment items and provide consistent decision criteria across survey, evaluation, intervention, and monitoring stages. The cards include microhabitat elements, major threat factors, inspection indicators, and management recommendations, thereby supporting standardized field recording, prioritization of management actions, and linkage to restoration design and site selection for releases. Integration with a digital field logbook enabled systematic accumulation of field data and facilitated repeated-survey comparisons and feedback-based adaptive management.

This study integratively conducted (1) diagnosis of decline drivers and management factors through degradation assessments (*Pseudobagrus brevicorpus*), (2) enhancement of biological evidence for habitat-quality evaluation and restoration design via metabarcoding-based diet and food-web analyses (*Microphysogobio rapidus*, *Sibynophis chinensis*-*Hebius vibakari* linkage), (3) quantification of habitat determinants and establishment of predictive foundations through species distribution modeling and presence - absence habitat suitability analyses (*Dryophytes suweonensis*, *Mauremys reevesii*), (4) empirical demonstration of restoration outcomes through long-term post-release monitoring and confirmation of reproduction and generational turnover (*Pelophylax chosenicus*), and (5) identification of an impact structure driven more by prey availability than species targeting through eDNA-based evaluation of nuisance wildlife feeding tendencies (*Ardea cinerea*). In addition, by standardizing species-specific

management items through habitat management cards and establishing a digital field data workflow for accumulation, comparison, and feedback, the study provides a foundation for moving restoration programs beyond one-time interventions toward evidence-based decision-making and adaptive management.

Keywords: environmental DNA; habitat restoration; climate-change projection; nuisance wildlife management; propagation technology

1. 연구배경 및 목적

가. 연구배경

- (1) 담수어류 및 양서·파충류는 서식처 의존성이 높아 서식지 훼손·단절, 수질오염, 유량 변동, 기후변화의 영향에 취약함. 전 세계적으로 절멸 위협이 가장 높은 분류군으로 평가되며(IUCN 2025), 분포역 축소와 개체군 감소는 생태계 기능과 먹이망 안정성에 부정적 영향을 미침. 따라서 과학적 근거에 기반한 관리 방안 연구와 현실성 있는 복원 전략 제시가 필요함
- (2) “야생생물 보호 및 관리에 관한 법률” 에 따라 멸종위기종을 관리중이나 지정종수는 지속적으로 증가함
 - ※ 멸종위기종 지정수: 92종('89) → 198종('98) → 246종('12) → 267종('17) → 282('22)
 - (가) 담수어류: 29종(I급: 11종, II급: 18종)으로 확대되어 복원·관리 수요 증가
 - ※ 신규지정: 새미, 어름치, 독중개(II급), 지정해제: 백조어(III급)
 - (나) 양서파충류: 8종 유지(I급: 2종, II급: 6종)되나 핵심 서식지 보전 필요성 지속
- (3) 성공적 복원은 분포·생태, 서식처 적합성 및 훼손요인 진단, 증식·방류(방사)와 사후 모니터링, 유전다양성 등을 통합적으로 고려해야 함. eDNA·메타바코딩 및 종분포모델/출현-비출현 분석은 출현 정보 보강, 서식지 결정요인 정량화, 기후변화 시나리오 적용을 위한 기준선 마련에 유용함. 현장 적용성 제고를 위해 서식지 관리 카드와 디지털 야장 기반의 표준화·환류 체계 구축이 필요함

나. 연구목적

- 1) 멸종위기 담수어류 훼손 평가를 통한 개선 방안 제시
- 2) 인공 증식 기술 개발 및 개체 생산을 통한 개체군 보강·복원
- 3) 종·교잡종 확인을 통한 증식·복원·보전의 효율적 관리
- 4) 종별 최적 서식 환경 조건 파악 및 최적 방류·방사 지역 선정을 통한 서식지 관리
- 5) 종별 복원 계획 수립 및 서식지 관리 가이드라인 작성을 통한 분류군별 복원 및 보전 전략 수립

다. 당해연도 목표

- (1) 멸종위기 담수어류 및 양서파충류 훼손 평가를 통한 개선 방안 제시
- (2) 인공 증식 기술 개발 및 개체 관리를 통한 개체군 보강·복원
- (3) 종 분포 모델 개발을 통한 서식 환경 특성 파악 및 기후변화 대비 기초자료 마련
- (4) 첨단기술(환경DNA, GIS, Telemetry 등)을 통한 데이터 양질 및 분포정밀도 향상
- (5) 종별 서식지 관리 카드 개발 및 서식지 관리 가이드라인 작성을 통한 분류군별 복원 및 보전 전략 수립

2. 연구 수행

가. 연구방법 및 수행경과

(1) 멸종위기 담수어류 및 양서파충류 훼손 평가

(가) 종별 기초 생태 연구

1) 모래주사 먹이원 파악

- 영양군 반변천 서식 모래주사 포획 후 분변 확보(9개체)
- 확보된 분변에서 DNA 추출
- 18S rRNA 활용 DNA 분석(메타바코딩 분석)
- Filterling(read 수 10 미만 ASV 제거, 균류/기생충 제거) 후 최종 먹이원 규명



그림 1. 모래주사 분변 시료 확보 과정



그림 2. 라이브러리 제작(위) 및 생물정보학적 분석(아래) 과정

2) 비바리뱀 서식 실태 및 생태적 특성 연구

- 기존 지점에 설치된 트랩을 포함하여 추가로 148개 트랩을 설치하여 비바리뱀 분포 조사를 수행함
- 현장 조사는 월 1회 트랩 및 직접 조사 방식을 이용하여 최소 2인 1조 형태로 조사를 수행함



그림 3. 나무판자 트랩 및 직접 포획을 위한 안전장비

- 조사방식은 직접 포획과 트랩 방식으로 조사를 수행하였고, 트랩은 기존의 일반적인 뱀류 포획 방법인 그물망이 아닌 관리가 쉽고, 개체 피해를 줄일 수 있는 방식인 나무판자를 이용함
- 조사 시 포획된 개체 경우 계측(길이, 무게, 성별 등) 후, 복부압박법을 이용하여 개체의 복부를 쓸어내려 분변 시료를 확보함. 분변이 나오면 에탄올 99%가 담긴 25ml 코니칼튜브에 보존하여 보관함. 이후 포획한 개체는 현장에 즉시 방사함
- 비바리뱀과 먹이원인 대륙유혈목이의 서식 환경 특성을 규명하기 위해 과거 출현 기록과 본 연구의 현장 조사를 통해 출현 지점 데이터를 확보함
- 현장조사에서 비바리뱀이 확인된 지점은 GPS를 이용하여 오차 범위 5m 이내의 정밀 좌표(WGS84)를 확보하여 기초자료로 활용함
- 비바리뱀의 서식지에 영향을 미치는 요인을 파악하기 위해 토지피복, 지형, 수계, 도로 등 다양한 공간정보 데이터를 수집하여 지리정보시스템 데이터베이스를 구축함
- 지형 요인의 경우 국토지리정보원에서 제공하는 1:5,000 축척의 수치지형도(Digital

Topographic Map)을 기반으로 공간해상도 10m급의 수치표고모델(DEM, Digital Elevation Model)을 생성하였고, 이를 통해 2차 지형 변수인 경사도(Slope), 향(Aspect) 등을 추출하여 미세 지형 특성을 반영할 수 있도록 하였음

- 토지피복지도의 경우 국립생태원에서 제공하는 세분류 토지피복지도(Land use Land cover)를 활용하여 시가지지역, 농업지역, 산림, 초지, 나지, 수역 등 대분류로 재분류하여 토지 이용 유형 데이터를 구축하였음
- 거리 변수의 경우 생물종의 생존이 필수적인 수계(Stream)와의 거리 및 인위적 간섭 요인인 도로(Road)와 해안(Coast)과의 이격 거리를 유클리드 거리(Euclidean Distance) 분석 기법을 통해 래스터(Raster) 데이터로 변환하여 구축함
- 구축된 환경 변수 레이어 위에 비바리뱀과 대륙유혈목이의 출현 지점 좌표를 중첩하여 공간 분석을 수행하고, 출현 지점(point)이 갖는 환경 속성값을 추출(Extract Multi Value to Point)하여 Excel 파일로 정리함
- 추출된 데이터는 비바리뱀이 선호하는 환경 범위를 정량적으로 도출함. 출현 지점의 평균 고도, 경사도, 주요 토지피복 유형 등 빈도 분석하여 결과를 확보하였고, 이를 통해 비바리뱀과 대륙유혈목이가 구체적으로 어떤 환경의 서식지를 선호하는지 파악하였음
- 비바리뱀과 먹이원인 대륙유혈목이의 먹이원 분석은 18S rRNA 메타바코딩 방법을 이용하여 분석을 수행하였고, DNA 추출을 위해 1차 PCR 증폭반응은 교정기능이 우수한 AccuPower® Pfu PCR Master Mix (Bioneer, South Korea)를 이용했으며, 진행생물 핵 18S rRNA 프라이머 즉, RYf2-EUK18S-0001f (5' -AAC CTG GTT GAT CCT GCC AGT3') and YRr2-EUK-18S-1774r (5' -GAT CCT TCY GCA GGT TCA CCT AC-3') 이용하여 시료당 3회 반복 증폭함
- PCR 조건은 ProFlex PCR System (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 94° C 3분 이후 94° C 30초, 57° C 1분, 72° C 1분 30초 사이클로 35회 반복한 후 72° C 10분간 최종 신장반응을 수행하였고, 1차 PCR 산물 3개를 합쳐 AccuPrep® Gel Purification Kit (Bioneer, South Korea)를 이용해 제조사의 권장 매뉴얼에 의거하여 정제함
- 2차 PCR 증폭반응 NGS 라이브러리 제작은 Herculase II Fusion DNA Polymerase와 Nextera XT Index Kit V2 (Illumina, San Diego, CA, USA)를 사용하여 Index를 부착함
- 라이브러리 농도는 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit를 이용한 형광 Microplate Reader (Synergy™ HL, BioTek® Instruments, Winooski, VT, USA), 크기 분포는 자동전기영동장치(Qsep100 Bio-Fragment Analyzer, BiOptic Inc., New Taipei City,

Taiwan)를 사용하여 QC 테스트를 수행함

- iSeq Platform (Illumina)을 통해 생산된 원본 데이터는 paired-end sequencing을 수행하였고, fastp v0.23.1 (Chen et al., 2018)을 사용하여 MID, PCR 프라이머 및 어댑터 서열을 제거하였고, 이후 Usearch (Edgar, 2010)를 이용하여 군집화(clustering)를 수행하여 앰플리콘 서열 변이(Amplicon Sequence Variants, ASVs)를 생성함
- 생성된 reads 중 100 bp 이하 또는 300 bp 이상인 reads, 저품질 reads, chimeras, 그리고 singleton ASV는 모두 제거함
- NCBI GenBank 데이터베이스(2025.9.17, Genbank)를 활용하여 BLAST 검색하여 데이터를 확보 후 분류학적 위치를 상계(Superkingdom)부터 최하위인 종(Species)까지 결정하고, query coverage 50% 이하 또는 유사도 80% 이하인 ASV와 세균 상계 외 분류군(고세균상계, 진핵생물상계, 세포소기관, 'no hit' 등)으로 동정되는 ASV는 모두 제거함
- ASV에서 유사도를 기준으로 97% 이상만의 데이터를 이용하였고, 작성된 ASV 테이블을 바탕으로 PAST 4.14 (Hammer et al. 2001)를 사용하여 시료별 시퀀싱 깊이(Sequencing depth)의 적절성을 평가하기 위해 rarefaction curve를 작성함
- 이후 먹이원 분석에 활용된 표와 그래프는 해석의 명료성을 높이기 위해 전체 메타바코딩 결과 중 실제 먹이원으로 이용될 가능성이 있는 분류군(Annelida, Arthropoda, Chordata, Mollusca 등)을 선별하여 정리하고, 기생충·균류·조류 등과 같이 직접적인 먹이원으로 보기 어려운 분류군은 제외하여 Candidate taxonomy로 표기함
- 동일 프로그램을 활용하여 군집 내 종 풍부도와 균등도를 나타내는 알파 다양도(Alpha-diversity) 지수를 산출하였고, 이후 통합된 데이터의 Candidate taxonomy 데이터는 Hellinger 변환을 거쳐 표준화하여 베타 다양성(Beta-diversity) 분석을 수행함
- 리드 풍부도 데이터를 바탕으로 산출된 Bray-Curtis 유사도 행렬(Similarity matrix)은 시료 집단 간 먹이 군집 구조의 변화 및 차이를 규명하기 위한 비계량적 다차원 척도법(nMDS) 분석 등 후속 다변량 분석에 활용됨
- 베타 다양성 분석은 PRIMER 7.0.21 (Clarke and Gorley, 2015) 소프트웨어를 이용하여 수행하였다. Candidate taxonomy에 할당된 리드(read) 수는 Deagle et al. (2019)의 방법에 따라 상대 리드 풍부도(Relative Read Abundance, RRA, %)와 출현 빈도(Frequency of Occurrence, FOO, %)로 변환하였고, 문(Phylum), 강(Class),

목(Order) 수준에서 먹이원 구성을 비교하기 위해, RRA와 FOO 데이터를 바탕으로 각 분변 시료 내 주요 먹이원에 대한 누적 원 그래프(Pie chart)를 작성함

(나) 위협 정도에 따라 등급화하여 분류군-종별 훼손 원인 파악

1) 꼬치동자개의 훼손 원인 파악

- 꼬치동자개의 감소에 영향을 미치는 훼손 요인 파악
 - 현재서식처와 절멸서식처환경 비교
- 서식처 환경 자료 확보
 - 국립환경과학원 생물측정망자료 활용
 - GLM, random forest 등 모델을 활용한 요인 선정
- 과거 꼬치동자개 출현지 36개 지점 대상 수질 및 환경변수, 토지이용 현황 추출
- 직접적 위협요인은 심각성, 범위, 지속성 및 비가역성 항목으로 평가
- 간접적 위협요인은 직접적인 위협의 근본적인 원인으로 복원 전략을 수립하는데 근간을 제공
- 위협요인평가는 내부전문가 및 외부전문가 자문을 통해 우선순위를 선정
- 훼손압력과 반응의 관계를 나타내는 개념 모델을 이용하여 분류군 및 종에 따라 위협 정도 등급을 매김

표 1. 꼬치동자개 서식지 내 환경 특성

환경변수		환경변수	
S.DT	시가화/건조지역 비율	P_Dip	파리목(비율)
S.Ag	농업지역 비율	P_Tri	날도래목(비율)
S.Fr	산림지역 비율	P_Col	딱정벌레목(비율)
S.Gr	초지 비율	P_TP	내성종개체수비율
S.Wt	습지 비율	P_OP	잡식성종 개체수비율
S.BL	나지 비율	P_IP	총식성종개체수비율
S.Wb	수역 비율	C_Riffle	여울성저서종수
DO	DO(mg/l)	C_Sens	민감종수
pH	pH	RD_AD	운동성돌말류상대밀도
Cond.	전기전도도	RD_ED	부영양성돌말류상대밀도
Turb.	탁도	RD_SE	민감성 돌말류상대밀도
BOD	BOD	P_EPT	EPT종 비율 (%)
TN	총질소	PC_GC	주어먹는무리개체수비율 (%)
PO ₄ -P	PO ₄ -P	PC_F_S	걸러먹는 무리 및 굵어먹는 무리의 개체수 비율 (%)
TP	총인	PC_NonC hi	깔따구류제외한 개체수비율 (%)
Chl. a	Chl. a	P_Sens	민감종비율 (%)
SO	하상구조	P_Tore	내성종비율 (%)
P_Exo	외래종비율 (%)	PL_Divers	다양도지수
P_Eph	하루살이목(비율)		

(2) 멸종위기 담수어류 및 양서파충류 복원 연구

(가) 증식 기술 개발 및 개체 관리

1) 모래주사 인공증식 매뉴얼 작성

- 친어 사육 환경 조성 방법 → 사육 수조 및 환경 조성, 먹이 공급 및 관리
- 종별 인공성숙 일정 → 종별 최적 인공성숙 조건(수온, 광주기) 조성 방법
- 치어 사육환경 조성 방법 → 종별 수정란 관리, 부화 방법, 치어 단계별 관리 방법

2) 우리나라 청개구리류 원종 동정 기술 개발

- Genotyping-by-sequencing(GBS)을 통해 확보한 청개구리류 3종(수원청개구리, 노랑배청개구리, 청개구리)의 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)의 목록에서 최소 2종의 종 식별이 가능한 SNPs를 포함한 후보 유전좌(loci) 선정

- 선정된 후보 유전좌들을 대상으로 SNPs 위치와 인접하는 상류와 하류 염기서열을 각각 200bp 이상 포함하는 sequence alignment matrix 작성
- 유전형 분석을 위한 실시간 PCR (real-time PCR) 프라이머 조합 설계 및 제작 후, 실시간 PCR 증폭장치, Applied Biosystems™ QuantStudio™ 5 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 이용하여 표1 및 2와 같은 조건으로 실시간 PCR 증폭반응 수행
- 청개구리류 시료 43개를 대상으로 Principal Coordinates Analysis (PCoA) 및 STRUCTURE 유전형 분석 수행

표 2. 청개구리류 유전형 분석을 위한 실시간 PCR 반응액 조성

Reagent	Amount
GoTaq® Probe qPCR Master Mix (Promega, Madison, WI, USA)	5 μ l
Genomic DNA	1 μ l
Forward primer	1 μ l
Reverse primer	1 μ l
Hydrolysis probe-FAM	0.5 μ l
Hydrolysis probe-HEX	0.5 μ l
CXR Reference Dye, 30 μ M	0.1 μ l
PCR-grade water	0.9 μ l
Total	10 μl

표 3. 청개구리류 유전형 분석을 위한 실시간 PCR 조건

Step	Temperature	Time	No. cycles
Hot-start activation	95°C	2 min	1
Denaturation	95°C	15 s	40
Annealing	60°C	1 min	

3) 우리나라 청개구리류 종별 골격 비교를 위한 시범 분석

- 시료

- 모든 종들은 수컷으로, 수원청개구리 원종 3개체, 청개구리 원종 3개체,

수원청개구리 및 청개구리 교잡종 3개체 대상으로 분석

- 유전자 분석을 통해 기존에 종 동정이 완료된 개체들을 사용(Yoo et al. 2024)

- micro-CT 촬영 방법

- QuantumGX microCT imaging system을 통해 전신을 스캔하기 위해서 voxel size와 field of view (FOV)는 각각 $90 \mu\text{m}$, $45 \text{ mm} \times 45 \text{ mm}$ 로 설정했으며, 고해상도 스캔에서 4분동안 108 mm 거리로 측정
- 두개골 측정은 50 μm voxel size, $25 \text{ mm} \times 25 \text{ mm}$ 의 FOV, standard scan mode를 이용하여 2분동안 55 mm의 거리에서 측정

- Landmark 분석

- Paluh et al. (2020) 논문을 참고하여 tpsDig2 ver. 2.31 소프트웨어를 이용하여 landmark 지점들 지정

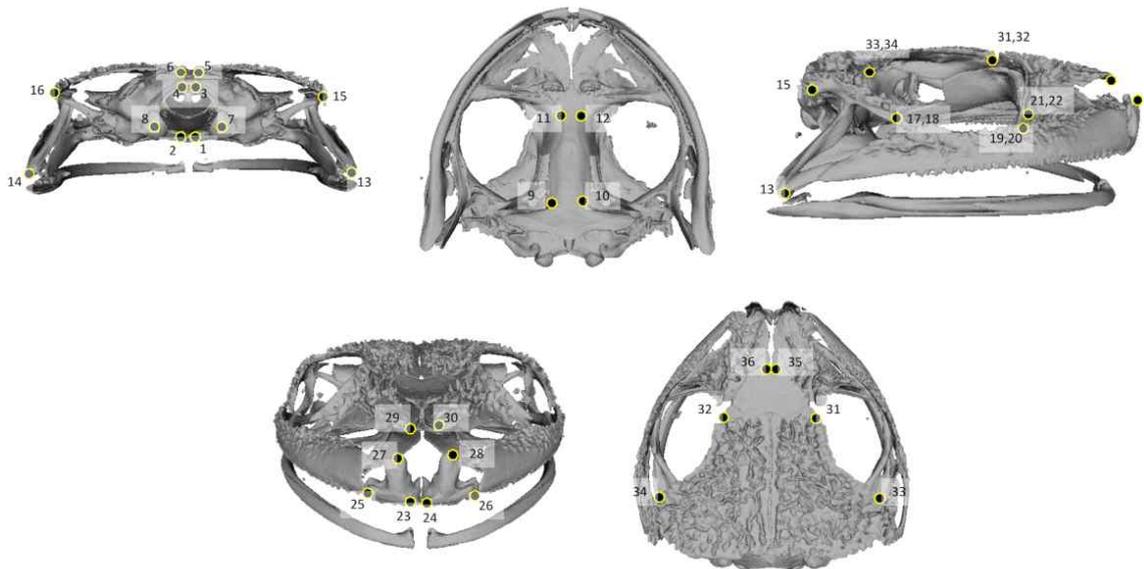


그림 4. 두개골 landmark 지점(Paluh et al. 2020)

- Principal component analysis (PCA) 분석

- 형태 데이터의 차원을 축소시키고 주요 변수 축을 확인하기 위해 MorphoJ 소프트웨어를 이용하여 분석

(나) 서식지 환경 특성 파악 및 기후변화 예측 연구

1) 수원청개구리 생태적 지위 모델 개발을 통한 서식지 관리 방안 모색

- 수원청개구리 출현 데이터 수집

- Global Biodiversity Information Facility (GBIF) : 223개 출현지점
- 문헌 : “*Dryophytes suweonensis*” 와 “*Hyla suweonensis*” 키워드를 사용하여 Google scholar에서 검색된 논문에서 확보한 315개의 출현지점
- 현장 조사(‘20~’23) : 55개의 출현 지점

- 환경 변수 선정

- 수원청개구리의 생태 및 생리학적 특성을 참고하여 기후변수 7개(연평균 기온, 연 최대/최소 기온, 연 강수량, 상대습도 등), 극한기후변수 4개(건기, 냉기, 폭염 등), 지형 변수(고도, 경사도), 토지 피복 7개(도시, 농지, 숲, 초원, 습지 등)로 총 20개 변수 선정
- VIF 및 r 을 이용해 변수 선택을 수행해, 다중공선성이 없는 변수 사용
- 최종적으로 15개의 환경변수를 생태적 지위 모델에 사용

- 데이터 전처리

- 수원청개구리는 주로 논에서 서식하므로, 농지 비율이 0%를 초과하는 지점을 출현지점으로 포함
- 공간상관성을 줄이기 위해 최소 2km 떨어진 지점을 출현지점으로 선정하여 총 144개의 출현지점 생성
- 모든 출현지점과 5km 이상의 거리를 두고, 다른 비출현 지점과는 1km 이상 거리를 두어 총 1,000개의 임의 비출현 지점을 생성

- 생태적 지위 모델 개발

- MaxEnt 및 RandomForest(RF) 모델과 이 두 모델을 결합한 앙상블 모델을 이용하여 30m 그리드의 해상도로 분석
- 학습(training) 및 검증(test) 자료에 대한 모델의 성능을 확인하기 위해 10회 반복한 값의 평균±표준오차의 AUC 값을 확인한 결과, 모델 평균은 0.90 이상 및 표준오차는 0.001이상으로 확인
- Youden’s Index를 사용하여 최적 임계값을 설정하고, 이 값으로 예측

정확도 평가

- 환경 변수 해석

- Generalized Additive Model (GAM)을 이용한 부분 의존도 플롯(Partial dependence plot)을 사용하여 각 환경 변수가 수원청개구리의 출현에 미치는 영향 시각화

2) 남생이 서식 환경 분석 및 기후변화로 인한 미래의 서식지 변화 예측

- 멸종위기 야생생물 II급 남생이(*Mauremys reevesii*)는 과거 한반도 전역의 하천과 저수지에 광범위하게 분포하였으나, 서식지 파편화와 로드킬, 외래종(붉은귀거북 등) 유입 및 남획 등으로 인해 개체군이 지속적으로 감소하고 있음(Park et al., 2023). 특히 최근 기후변화로 인한 수문 환경 변화와 서식지 질적 저하는 반수생 거북류의 생존을 위협하는 주요 요인으로 대두되고 있음
- 남생이의 효과적인 복원과 보전을 위해서는 단순히 종이 '존재하는 곳'뿐만 아니라, 종이 '선택하지 않거나 생존할 수 없는 곳'과의 환경적 차이를 규명하는 것이 필수적임. 특히 출현(Presence) 정보만으로는 서식지 선호도를 과대평가할 위험이 있으므로, 실제 비출현(Absence) 정보를 포함한 이항(Binary) 데이터를 분석함으로써 미세 서식지(Micro-habitat) 요구 조건을 정량적으로 파악해야 함(Guisan and Thuiller, 2005).
- 이에 본 연구에서는 우리나라 전국 대상으로 정밀 현장 조사에서 확보된 출현 및 비출현 데이터를 기반으로 다각적 통계 모델링을 수행하여 핵심 서식지 결정 인자를 도출하고, 이를 토대로 기후변화 시나리오를 적용한 미래 서식지 변화 예측의 과학적 근거를 마련하고자 함
- 분석 자료 구축
 - 생물상 자료 (Presence/Absence): 2020년~2025년 수행된 우리나라 전국 정밀 현장 조사(NIE, 2020, 2021, 2022; Park et al., 2023; Cheon, 2025)를 통해 남생이의 실체가 확인된 출현 지점(n=42)과, 동일 조사 권역 내에서 정밀 탐색을 수행하였으나 남생이가 확인되지 않은 비출현 지점(n=47)을 활용함
 - 환경 변수 (Environmental Variables): 남생이의 일일 행동권 및 이동

특성을 고려하여(Park, 2025), 각 지점 중심 반경 500m 버퍼(Buffer) 내의 환경 특성을 추출함

* 지형 변수: 고도(DEM), 경사도(Slope), 향(Aspect)

* 피복 변수: 환경부 중분류 토지피복도를 재가공하여 도시화지역(Urban), 농경지(Agri), 산림(Forest), 초지(Grass), 습지(Wetland), 나지(Bare), 수역(Water)의 면적 비율(%)을 산출함

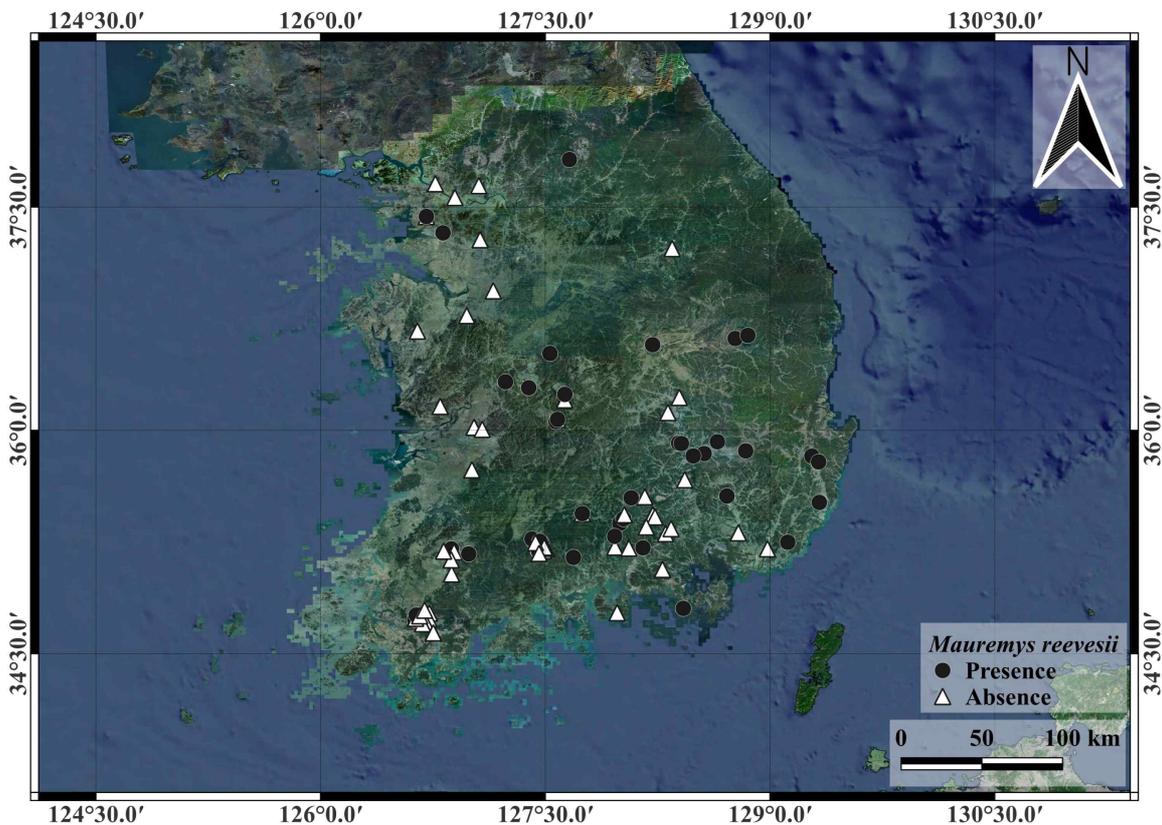


그림 5. 우리나라 전국 남생이 분포 지도

- 분석 방법

- 일반화 선형 모형 (GLM; Generalized Linear Model): 출현(1)과 비출현(0)을 종속변수로 하는 로지스틱 회귀분석을 수행하여, 각 환경 변수가 남생이의 서식 확률에 미치는 영향의 방향성(Positive/Negative)과 통계적 유의성을 검증함(McCullagh and Nelder, 1989)
- 랜덤 포레스트 (Random Forest): 변수 간의 복잡한 상호작용과 비선형성을 설명하기 위해 기계학습 모델을 적용하였다(Breiman, 2001).

이를 통해 서식지 결정에 대한 변수 중요도(Variable Importance)를 산출하고, 환경 요인의 변화에 따른 서식 확률 반응 곡선(Response Curve)을 도출함

- 주성분 분석 (PCA; Principal Component Analysis): 서식지 내부의 환경 구조를 명확히 규명하기 위해 출현지만들 대상으로 독립적인 PCA를 수행하였다. 출현지 내 환경 변수들의 설명력을 검증하기 위해 순열 검정(Permutation Test), 환경 변수별 적합성 분석(Environmental fit)을 실시하고, 도출된 PC1(제1주성분)과 PC2(제2주성분) 적재값>Loading)을 기반으로 남생이 서식지의 핵심 환경 구배를 해석함

(다) 첨단기술을 활용한 멸종위기종 모니터링

1) 환경DNA를 이용한 유해조수와 멸종위기 담수어류의 연관성 파악

- 2025년 4월부터 6월까지 월별로 낙동강 남강과 덕천강 일대 3지점을 대상으로 왜가리(*Ardea cinerea*) 번식지에서 분변 샘플링 및 인근 하천의 하천수 샘플링함
 - 함양군 유림면 국제리 40-8 (이하 HY), 산청군 생비량면 도리 산 296 (이하 SC), 하동군 옥종면 종화리 산 20 (이하 HD)
 - 분변 샘플링은 왜가리 번식지 아래쪽에 지점별 4~6개의 검은색 비닐을 깔고, 24시간 동안 샘플링 후 멸균도구를 이용해 에탄올로 모았으며, 모인 에탄올은 50 mL 튜브에 담아 냉장 운반함
 - 인근 하천수는 소형 모터를 이용해 지속적으로 샘플링하는 방식을 이용하였으며, 멸균 2 L 채수병에 담아 냉장 운반함



그림 6. 왜가리 번식지 분변 샘플링 방법(좌) 및 인근 하천수 채수 방법(우)

- 분변의 DNA 추출은 QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하였으며, 하천수는 AP Soil DNA MM (APbio, Namyangju, Republic of Korea)를 이용하여 각 키트에 제조사가 권장하는 매뉴얼에 의거하여 추출함
- 1차 PCR 증폭반응은 Platinum SuperFi II DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용했으며, *AquaAmp*[®] Fish META Universal PCR Kit I (Aquagentech, Busan, Republic of Korea)를 이용하여 시료당 3회 반복 증폭함. PCR 조건은 ProFlex PCR System (Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 98° C 30초 이후 98° C 10초, 58° C 20초의 사이클로 30회 반복함
- 2차 PCR 증폭반응 NGS 라이브러리 제작은 Herculase II Fusion DNA Polymerase와 Nextera XT Index Kit V2 (Illumina, SanDiego, CA, USA)를 사용하여 Index를 부착하였으며, 최종 산물은 AMPure XP magnetic beads(Beckman, Brea, CA, USA)를 이용하여 0.8× 비드-시료 비율로 사이즈 셀렉션을 수행하였으며, 정제된 DNA는 30 μ L로 용출함
- 라이브러리 농도는 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Eugene, OR, USA)를 이용한 형광 Microplate Reader

- (Synergy™ H1, BioTek® Instruments, Winooski, VT, USA), 크기 분포는 자동전기영동장치(Qsep100 Bio-Fragment Analyzer, BiOptic Inc., New Taipei City, Taiwan)를 사용하여 QC 테스트를 수행함
- MiSeq il100 Series 25M Reagent Kit (300 cycles)(Illumina)를 이용하여 차세대염기서열분석(NGS)을 수행함
 - 원시 염기서열 데이터는 fastp v0.23.1 (Chen et al., 2018)을 이용하여 MID, PCR 프라이머 및 어댑터 서열을 절단·제거한 뒤 품질을 정제한 후 USEARCH (Edgar, 2010) 기반의 군집화 절차를 적용하여 앰플리콘 서열 변이(Amplicon Sequence Variants, ASVs)를 도출함
 - 시료별 시퀀싱 깊이(Sequencing depth)가 분석에 충분한지 확인하기 위해 PAST 4.14(Hammer et al., 2001)에서 rarefaction curve를 작성함
 - ASV의 분류학적 동정은 NCBI GenBank 데이터베이스(2025년 9월 17일 기준)를 참조하여 BLAST 검색을 수행한 결과를 바탕으로, 상계(Superkingdom)부터 종(Species) 수준까지 계통 분류를 부여함
 - 이 중 query coverage가 90% 이하이거나 유사도가 95% 이하인 ASV는 제거하고, 동일 종으로 검출되는 ASV를 하나로 정제함
 - 먹이원 구성의 해석을 명확히 하기 위해 문(Phylum), 강(Class), 목(Order) 수준의 먹이원 구성을 비교하기 위해, Deagle et al.(2019)이 제안한 상대 리드 풍부도(Relative Read Abundance, RRA, %)와 출현 빈도(Frequency of Occurrence, FOO, %) 값을 이용하여 주요 먹이 항목의 누적 원 그래프(pie chart)를 작성함
 - 이 중 주요 먹이원으로 이용되는 조기어강(Class Actinopterygii)를 종 수준으로 본 연구에 이용함
 - 정제된 종 테이블을 기반으로 PAST 4.14를 이용하여 군집의 종 풍부도 및 균등도를 반영하는 알파 다양도(Alpha-diversity) 지수를 산출함
 - 각 시료별 종 데이터는 Hellinger 변환을 통해 표준화한 후 베타 다양도(Beta-diversity) 분석에 사용하였으며, 리드 풍부도 자료로부터 Bray-Curtis 유사도 행렬을 계산하였고, 시료 집단 간 먹이 군집 구조의 차이를 평가하기 위해 비계량적 다차원 척도법(nMDS) 등 다변량 분석을 PRIMER 7.0.21(Clarke and Gorley, 2015)에서 수행함
 - 종 수준에서 분변 FOO와 하천수 FOO 간 연관성을 평가하기 위해

Pearson 상관계수(r) 및 Spearman 순위상관계수(ρ)를 계산함

- 멸종위기 4종(흰수마자, 얼룩새코미꾸리, 꼬치동자개, 여울마자)에 대해 분변과 하천수에서의 FOO를 산출한 후, 선택성을 Ivlev' s electivity index 및 Strauss' linear index로 평가함(Strauss, 1979)

2) 환경DNA를 이용한 수원청개구리 잠재서식지 발굴

- 시료 확보

- 2023년~2025년 5월에 수원청개구리 서식지 및 서식이 확인되지 않은 지역에서 주간에 2L씩 채수 수행
- 총 13개 지점에서 채수 시료 확보

표 4. 수원청개구리 환경유전자 분석을 위한 채수 지점

번호	채수 날짜	지역	수원청개구리 서식 유무
1	2023.05.17.	전북 황등면 신기리	유
2	2023.05.19.	충북 충주시 제내리	유
3	2023.05.18.	충남 아산시 영인면 구성리	유
4	2023.05.18.	충남 아산시 영인면 대정리(1)	유
5	2023.05.18.	충남 아산시 영인면 대정리(2)	유
6	2025.05.21.	충남 서천군	무
7	2025.05.22.	충남 청양군	무
8	2025.05.16.	경북 안동시 임하면 금소리	무
9	2024.05.22.	충남 천안시 풍세면	무
10	2024.05.22	충남 당진시	무
11	2024.05.22	충남 아산시 수장리	무
12	2024.05.23.	경기 김포시 하성면	유
13	2024.05.22.	충남 아산시 석정리	유

- 논답 물이 모이는 배수로에서 채수를 수행함. 논물의 오염(contamination)을 방지하기 위해 치아염소산나트륨 10%로 용기를 세척하였으며, 잔여 치아염소산나트륨 제거를 위해 현장의 배수된 논물로 세척. 논물은 멸균채수병에 2 L를 확보하여 냉장상태로 실험실로 운반

- 채수 시료 여과 및 환경유전자 추출

- 운반한 눈물은 GF/F 필터에 각각 400mL를 여과하였으며, 추출은 DNeasy Soil Kit (QIAGEN, 독일)에 포함되어 있는 SDI 1,050 μ l를 넣고, 2.4 mm 직경의 스테인레스 구슬(OMNI International, Kennesaw GA, 미국) 3개를 넣고 bead ruptor elite(OMNI International, 미국)를 이용해 필터 파쇄 이후 과정들은 제조사의 매뉴얼에 의거해 추출
- 추출한 eDNA는 - 20°C에서 보관
- 실시간 PCR 수행
 - QuantStudio6(Thermofisher, 독일) 장비를 이용하여 수원청개구리 환경유전자 시료를 대상으로 실시간 PCR 수행
 - 수원청개구리의 *cytochrome b* DNA를 증폭하기 위한 PCR 반응액 조성은 GoTaq® Probe qPCR 키트(Promega, 미국)를 이용하여 주형 DNA 2 μ l, 정방향 프라이머, 역방향 프라이머 각각 1 μ M, 프로브 500nM, CXR reference dye 0.2 μ g과 멸균증류수 5.3 μ L를 혼합
 - 실시간 PCR 증폭반응은 최초 95°C에서 3분간 초기 열변성 반응 이후, 변성과정은 95°C에서 30초 및 신장과정은 59°C에서 1분간 총 55회 반복했으며, 3반복 수행. 실시간 PCR 증폭산물은 melt curve로 확인

표 5. 수원청개구리 DNA 증폭을 위한 qPCR 조건

Steps	Temp. (°C)	Time	Cycles
Pre-denature	95	3 min	55 cycles
Denature	95	30 sec	
Annealing	59	1 min	

3) 금개구리 PIT tag 삽입, 방사 후 모니터링 강화

- '24년 방사지인 옥구공원 내 증식 중인 300개체 추가방사를 통한 개체군 강화
- 무선추적장치 차별화를 통한 효과적인 행동생태 분석
 - '24년 방사개체(12.0 mm x 2.12 mm, 0.1g, 인식거리 약 29cm), '25년 추가 방사개체 일부(8.0 mm x 1.25 mm, 0.1g 미만, 인식거리 약 20cm) 각각 다른 무선추적장치 삽입하여 장치 크기별 행동권 차이 파악, 탈락률 확인

무선개체식별장치(PIT tag)
길이 12mm, 직경 2.12mm, 무게 0.1g



그림 7. 금개구리 PIT telemetry를 통한 모니터링

(3) 분류군별 복원 및 보전 전략 수립

(가) 멸종위기종 서식지 관리 전략 수립

1) 분류군별·종별 서식지 관리를 위한 관리카드 개발

- 분류군별·종별 특성을 고려한 야장 개발

- 담수어류 조사구간(하천폭×10m)내 수변, 수생 서식처 항목 측정
- 양서류 조사지점은 논 및 농수로(수원청개구리, 금개구리), 저수지(금개구리)의 수변, 수생 서식처 항목 측정

- 서식지 관리카드 측정 및 작성 항목 선정

- 종별 특성에 적합한 인문사회학적 특성(토지이용, 오염원 등), 환경변수(수질, 하천물리, 식생 등), 생물변수(먹이원, 외래종 등) 선정
- 양서류(수원청개구리, 금개구리)의 주 서식지가 논이므로 농업용수의 수온 및 수질(Borzée et al., 2018), 농경지 비율, 논둑 위 식생 피복, 논 크기, 서식지 주변의 식생 선정
- 양서류의 풍부도에 주로 영향을 미치는 환경변수인 기온, 강수량 선정(Li et al., 2013)
- 서식지 연결성을 확인하기 위한 인접 습지 또는 하천까지의 거리 및 도로 밀도 파악

- 동서종, 외래종 (Koo et al., 2021), 경쟁종 파악
- 담수어류 서식지 관리카드 작성 지점 선정 및 자료 확보
 - 멸종위기종전국분포조사, GBIF, 생물측정망조사 결과를 토대로 대상종인 멸종위기종의 최근 3년 (21~24년)간 출현 지점 정보 획득
 - 과거 출현지점과 최근 3년간 출현한 지점을 확인하여, 최근 출현지점과 과거 출현 지점으로 구분
 - 수질은 국립환경과학원에서 운영하고 있는 수질측정망 자료를 활용하며, 활용하는 자료는 멸종위기종이 출현한 지점과 가장 인접한 수질측정망 자료를 확보
 - 동서종에 대한 자료와 부착조류, 저서성대형무척추동물의 자료는 조사지점과 인접하고 있는 생물측정망 (국립환경과학원)자료를 활용하며, 가장 최신 자료를 활용하는 것을 원칙으로 함.
 - 경쟁종과 먹이원 자료는 대상으로 하는 종에 따라 수정하여 작성
- 양서류 서식지 관리카드 작성 지점 선정 및 자료 확보
 - 멸종위기종전국분포조사, 조사자의 조사경험 결과를 토대로 대상종의 최근 4년 (20~24년)간 출현 지점 정보 획득
 - 수원청개구리 서식지 총 6지점(충북 충주, 강원도 원주, 경기도 김포, 충남 아산, 충남 부여, 전북 완주군) 선정
 - 금개구리 서식지 총 6지점(경남 합천, 충남 부여, 충남 아산, 충남 당진, 경기 시흥, 경기 김포) 선정

나) Google AppSheet를 연계한 디지털 야장 개발

- AppSheet 프로그램을 활용하여 현장입력을 위한 어플리케이션 개발
- 측정자료의 현장입력을 통한 자료 즉각 DB화*

* 종이야장과 디지털야장 동시 활용을 통한 자료 손실 방지

다) 서식지 관리를 위한 관리카드 작성

- 담수어류 서식처 관리 카드 작성
 - 현장조사, 연구실 자료 확보를 병행하여 서식지 현황 기록
 - 드론(DJI mavic pro)을 활용한 현장 매핑 병행
 - 조사지역에 대한 공사 및 개발 정보 정리



그림 8 서식지 관리카드 작성 순서

나. 연구내용

(1) 멸종위기 담수어류 및 양서파충류 훼손 평가

(가) 종별 기초 생태 연구

1) 모래주사 먹이원 파악

- Metabarcoding 활용 분변분석을 통한 모래주사 먹이원 규명

2) 비바리뱀 서식 실태 및 생태적 특성 연구

- 개체군 분포 현황 및 기초 생태 조사

- 과거 출현 지점 대상으로 트랩 설치 및 조사 수행
- 월 1회 트랩 점검 및 현장 조사 실시

- 비바리뱀 포함하여 동서종(대륙유혈목이) 개체 정보 측정 및 데이터 축적

- 출현 지점 서식지 환경 및 유형 파악

- 비바리뱀 출현 자료 수집
- 조사지점에 대한 환경 요인 자료 수집
- GIS 분석을 통한 비바리뱀 출현지점 환경 특성 파악

- 비바리뱀 및 대륙유혈목이 먹이원 확인

- 비바리뱀 및 대륙유혈목이 분변 시료 확보
- 대륙유혈목이 분변 18S rRNA 메타바코딩 분석을 통한 먹이원 파악

(나) 위협 정도에 따라 등급화하여 분류군-종별 훼손 원인 파악

1) 꼬치동자개의 훼손 원인 파악

- 개념적 훼손 진단 모델을 활용하여 위협 요인들 간 관련성 파악 및 개선 방안 제시
- 훼손 요인들에 대한 저감 방안 모색

(2) 멸종위기 담수어류 및 양서파충류 복원 연구

(가) 증식 기술 개발 및 개체 관리

1) 모래주사 인공증식 매뉴얼 작성

- 멸종위기 야생생물 I급 모래주사 인공증식 매뉴얼 발간 및 배포 완료

2) 우리나라 청개구리류 원종 동정 기술 개발

- GBS 데이터를 기반으로 분자마커 22개를 개발
- 교잡종 동정을 위한 분자마커의 해상도 고도화 필요

3) 우리나라 청개구리류 종별 골격 비교를 위한 시범 분석

- 각 종당 3개체로 분석 시료 수가 적어 PCA 분산 값이 매우 낮게 나타남
- 추후 시료 수를 늘려 재분석 필요

(나) 서식지 환경 특성 파악 및 기후변화 예측 연구

1) 수원청개구리 생태적 지위 모델 개발을 통한 서식지 관리 방안 모색

- 두 가지 모델(MaxEnt 및 RandomForest)을 이용하여 수원청개구리의 적합 서식지 확인
- 수원청개구리가 선호하는 환경조건 파악

2) 남생이 서식 환경 분석 및 기후변화로 인한 미래의 서식지 변화 예측

- 우리나라 전국 남생이의 분포 확인 및 출현-비출현 지점 인근 환경변수 데이터 수집
- 통계 분석(GLM, Random forest, PCA 등)을 통해 서식지 환경 특성 파악
- 향후 기후변화 시나리오 적용, 서식지 이동 예측 등 종분포모델 고도화를 위한 중요 서식지 환경변수를 확인

(다) 첨단기술을 활용한 멸종위기종 모니터링

1) 환경DNA를 이용한 유해조수와 멸종위기 담수어류의 연관성 파악

- 하천에서 어류를 주요 먹이원으로 이용하는 왜가리를 대상으로 멸종위기

담수어류의 포식 여부를 확인하고, eDNA 기반 지표(FOO, RRA)를 통해 포식 신호의 상대적 규모를 평가

- 분변 및 하천수의 16S rRNA 메타바코딩 분석을 수행하여, 분변(섭식/접촉 신호)과 하천수(환경 가용성 신호) 간 연관성을 검증하고, 분변에서 멸종위기 담수어류 eDNA의 검출 여부 및 출현 패턴을 확인

2) 환경DNA를 이용한 수원청개구리 잠재서식지 발굴

- 수원청개구리 서식지 7지점, 비서식지 6지점 환경유전자 시료 확보 및 서식 여부 확인
- 실제 채수 시료에 대한 재분석 필요

3) 금개구리 PIT tag 삽입, 방사 후 모니터링 강화

- 방사지점에서 확산 범위 확인 및 동면지 파악
- 금개구리 밀집지역의 세부 환경변수 분석을 통한 선호 서식환경 파악
- 금개구리 개체별 인식번호 부여를 통하여 회차별 신체계측 누적 데이터를 분석한 개체별 성장률 파악
- 추가 방사를 통한 개체군 강화

(3) 분류군별 복원 및 보전 전략 수립

(가) 멸종위기종 서식지 관리 전략 수립

1) 분류군별·종별 서식지 관리를 위한 관리 카드 개발

- 꼬치동자개, 여울마자 서식지 현장 조사 수행 및 결과 확보
 - 꼬치동자개 4지점, 여울마자 3지점, 모래주사 5지점에 대한 서식지 현장 조사 완료
 - 드론을 활용한 서식지 3D모델 구축 완료
 - GIS를 활용한 인문사회학적 자료 추가
- 수원청개구리 및 금개구리 서식지 관리를 위한 관리 카드 작성
 - 종별 서식 특성에 맞는 환경변수 선정
 - 드론을 활용한 서식지 영상 확보

3. 연구 결과

가. 연구 결과 및 고찰

(1) 멸종위기 담수어류 및 양서파충류 훼손 평가

(가) 종별 기초 생태 연구

1) 모래주사 먹이원 파악

- 분변분석 결과 모래주사의 주 먹이원은 조류(algae)로 확인됨
- 전체 생물군 중 돌말류(Bacillariophyta)가 74.8%를 차지하였고, 녹조류(Chlorophyta)는 18.3%로 확인되어 약 93.1%가 부착성 조류로 나타남
- 기타 윤형동물(Rotifer), 절지동물(Arthropoda), 환형동물(Annelida) 등이 1.1~1.5% 차지
- 주요 종으로는 *Melosira varians* (돌말류, 35.7%), *Cymbella excise* (돌말류, 7.5%), *Sellaphora* sp. 1 (돌말류, 7.0%), *Hafniomonas montana* (녹조류, 4.0%), *Sellaphora* sp. 2 (돌말류, 3.8%) 순으로 나타남
- 먹이원 분석과 함께 해당 서식지의 수생태계 건강성 평가도 병행 가능(부착돌말류 지수 이용)

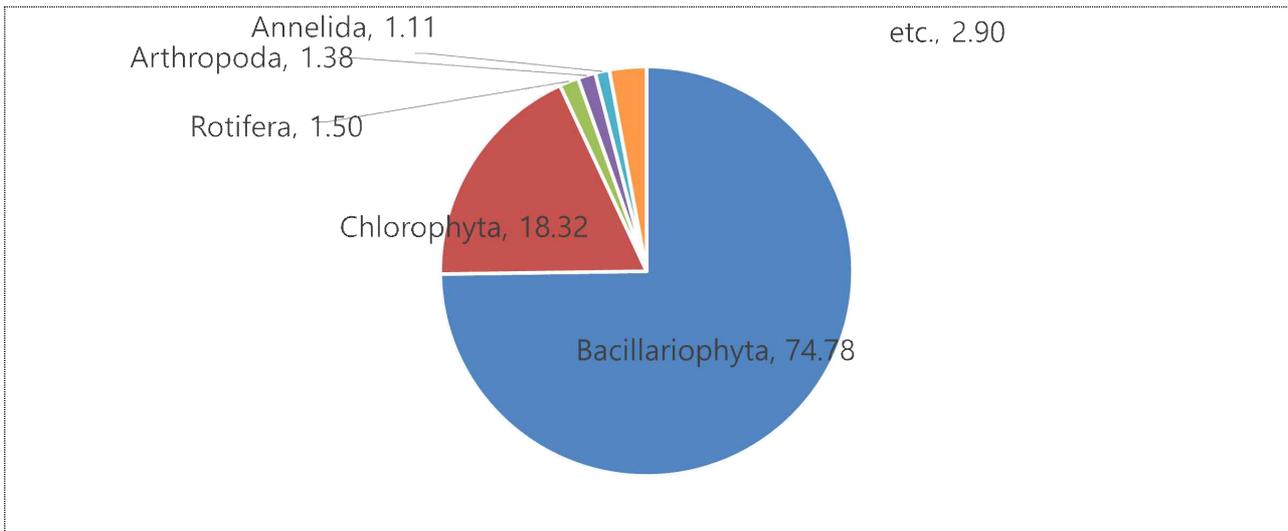


그림 9. 모래주사 먹이생물 전체 비율(n=9)

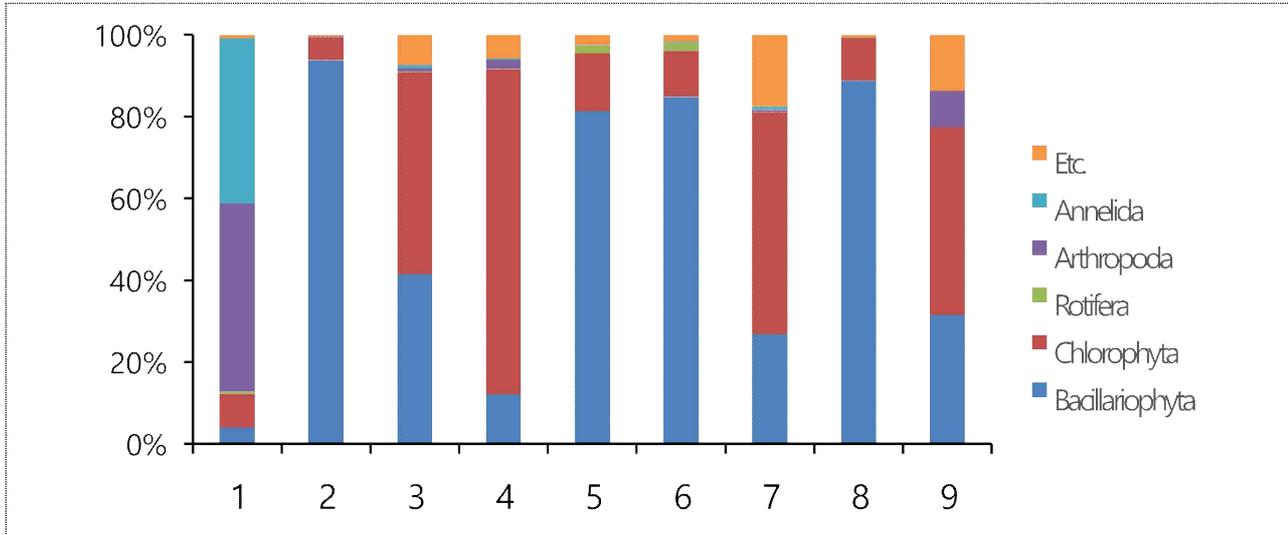


그림 10. 모래주사 개체별 먹이생물 구성 비율(n=9)

2) 비바리뱀 서식지 및 기초 연구

- 개체군 분포 현황 및 기초 생태 조사

- 트랩은 기존 비바리뱀 출현 지점을 중심으로 선정하였고, 선호 서식지 유형 파악을 위해 해발고도, 토지피복 등에 따라 구분하여 선정함. 선정된 지점은 총 33지점이며, 나무판자 트랩 271개에 대한 6회 조사 완료(5, 6, 7, 9, 10, 11월)
- 나무판자를 이용한 조사에서 멸종위기 파충류 I급 비바리뱀 포함 총 5종 43개체의 파충류가 발견됨. 트랩에서 가장 많이 발견된 종으로는 대륙유혈목이가 24개체 발견되었고, 그 다음으로 쇠살모사 4개체, 누룩뱀 1개체, 줄장지뱀 1개체 순으로 확인함. 멸종위기 야생생물 I급 비바리뱀의 경우 트랩을 통해 4개체 발견함



그림 11. 조사중 발견된 비바리뱀(좌), 대륙유혈목이(우)

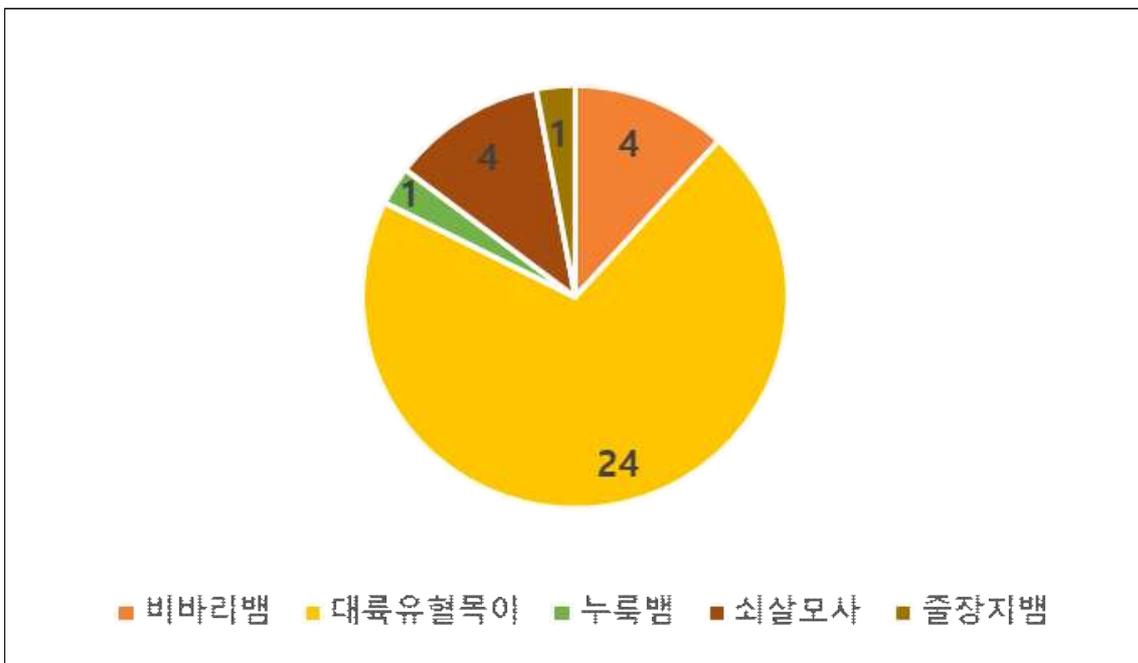


그림 12. 트랩에서 발견된 파충류 종과 개체수

- 포획을 위한 판자는 총 1회에 걸쳐 설치하였고, 기존 판자에 148개 추가로 설치하였음. 판자 종류는 24년도 결과에 효율성이 입증된 방수 나무 판자를 이용함
- 비바리뱀 연구의 효율성 증대를 위해 소형 뱀류 포획을 위한 특허 출원을 완료함(출원번호: 10-2025-0161139)



그림 13. 조사에 사용된 방수나무판자(좌) 및 조사 모습

- 월별 판자 트랩에서 출현한 개체 수를 살펴보면, 생물 활동이 활발한 5월에 출현 개체 수가 13개체로 가장 많았으며, 그 다음으로 6월에 6개체가 출현함. 봄철 기온 상승과 동면에서 깨어난 개체들의 번식과 먹이 활동이 집중적으로 이루어지는 시기에 따른 결과로 나타남
- 여름이 되면서 출현 개체수가 감소하는 모습이 보였고(7월 4개체), 동면에 들어가는 11월 개체수가 가장 적은 3개체로 확인됨
- 여름철 경우 지온과 기온이 급상승하면서 출현 개체수가 감소하는 경향을 보임. 높은 기온에서 활동을 줄이고, 판자가 아닌 기온이 더 낮은 곳을 찾아 은신하여 개체수가 낮게 나타난 것으로 판단됨
- 9-10월 출현 개체수가 다시 증가하는 모습은 동면을 준비하기 위한 먹이활동, 동면지 이동 등 활동에 따라 증가할 것으로 예상했지만, 7월과 같은 4개체 확인함
- 강수량의 경우 6월에 급격히 증가하면서, 출현 개체수는 감소하는 모습이 보임. 상대습도와 일조율 월별 변화는 판자에 출현하는 뱀류와 영향이 적은 것으로 판단됨

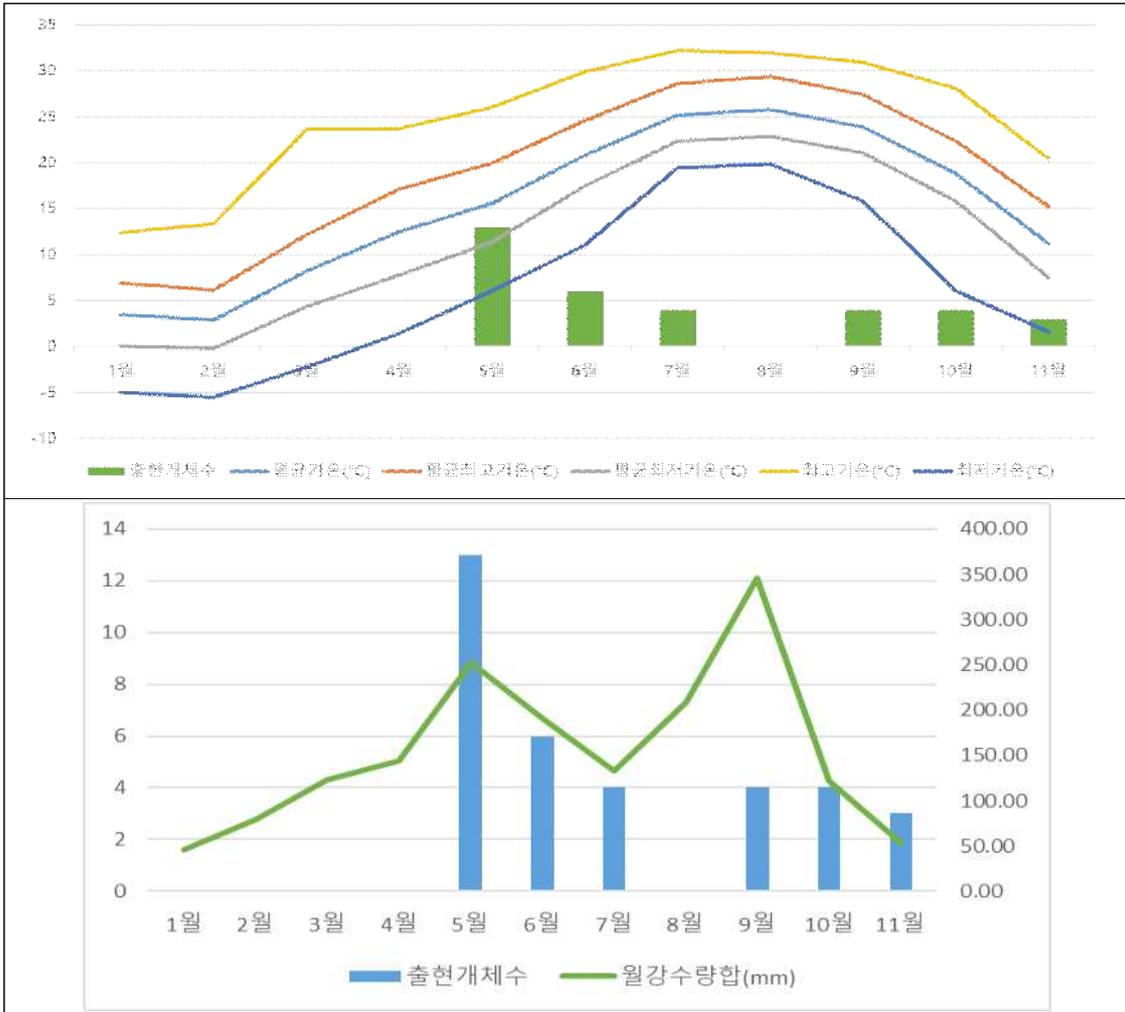


그림 14. 월별 출현 개체수 및 제주도 기상자료

- 출현 지점 서식지 환경 및 유형 파악

- 비바리뱀 조사 지점의 서식지 환경 특성을 파악하기 위해 토지이용, 산림, 지형, 토양 등 다양한 공간 데이터를 확보하였고, 이를 래스터 및 벡터 형태로 구축함
- 구축된 공간 정보는 표고, 경사도, 사면 방향, 토지피복, 수계 및 시가화 지역과의 거리 등 서식지 환경 변수와 연계하여, 주변 환경 특성 분석에 활용함

구분	NO	데이터명	확보 방법
지형	1	수치표고모델(DEM)	USGS 자료 가공
	2	경사도	
	3	사면방향	
	4	토지피복도	토지피복지도 세분류 자료 확보 후 중분류 가공
	5	토양도	농촌진흥청 자료 가공
	6	식생도	현존식생도 자료 활용
공간 거리	7	도로로부터 거리	수치지형도 자료 가공
	8	수계로부터 거리	
	9	산림으로부터 거리	
	10	바다에서의 거리	
	11	시가화지역에서 거리	

*추가적으로 자료 확보 예정

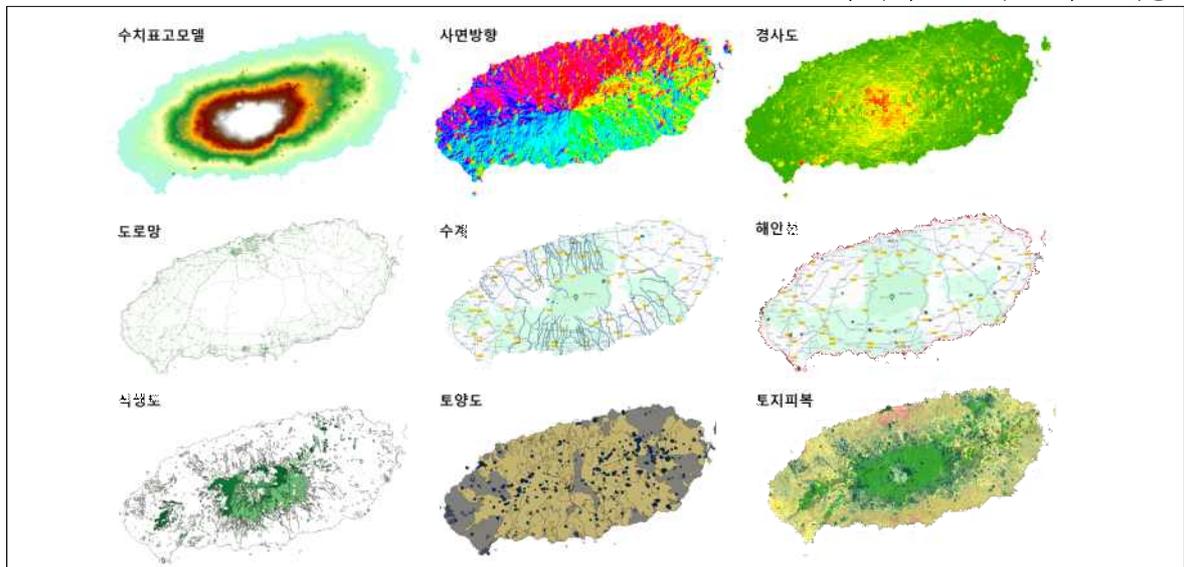


그림 15. 비바리뱀 서식 환경 유형 파악을 위해 구축된 공간정보자료

- 24년부터 33개 조사 지점 중 판자 소실, 미포획 등 13지점을 제외한 모든 지점에서 뱀류 서식을 확인하였고, 그 중 4지점에서 비바리뱀이 출현함
- 출현지점의 주요 토지피복 유형은 산림과 초지로 나타났으며, 식생은 곰솔 군락이 대부분을 차지함. 또한, 제주도의 지역적 특성에 따라 출현지점의 토양은 화산회토 및 퇴적토로 구성된 것으로 분석됨

표 6. 조사 지점별 비바리뱀, 대륙유혈목이 출현 지점의 평균 환경변수 값

Species		Land use Land cover(%)						shannon	richness
		urban	cropland	forest	grassland	barrenland	water		
Sibynophis	m	0.68	48.02	22.7	7.42	2.62	18.55	0.77	5
chinensis	sd	±0.44	±36.33	±34.97	±6.38	±2.51	±29.83		
Hebius	m	2.95	47.58	27.67	13.58	2.53	5.68	0.74	4.53
vibakari	sd	±5.62	±32.30	±29.73	±14.91	±3.38	±17.30		

Species		Distance(m)			elevation	slope	aspect
		road	stream	coast			
Sibynophis	m	649.71	4882.1	3105.01	97.13	2.3	152.72
chinensis	sd	±645.65	±4,182.15	±3,900.94	±137.13	±2.06	±107.76
Hebius	m	533.45	3577.22	4617.29	176.44	3.07	181.99
vibakari	sd	±656.19	±4254.93	±3398.65	±180.95	±2.99	±78.85



그림 16. 비바리뱀 트랩 설치 지점

- 조사 결과, 토지피복 중 농경지 비율은 비바리뱀의 경우 48.02%와 대륙유혈목이 경우 47.58%로 가장 높은 유형이며, 유사한 수치로 나타남. 이는 비바리뱀이 먹이원인 대륙유혈목이와 농경지 환경을 공유하고 있고, 비바리뱀이 포식 효율을 높이기 위해 먹이원이 밀도가 높은 곳을 선택한 것이라고 판단됨
- 출현지점 내 수역 비율은 비바리뱀이 18.55%로 나타났고 대륙유혈목이 경우 5.68%로 나타남. 비바리뱀은 대륙유혈목이보다 습한 환경이나 습지에 인접한 환경에 서식하는 것으로 판단되며, 비바리뱀의 미세 서식지 환경이 물과 연관되어 있으므로 보임
- 먹이원인 대륙유혈목이 경우 고지대나 경사가 가파른 곳까지 넓게 분포하는 것과 달리, 비바리뱀의 경우 상대적으로 평탄한 저지대에서 출현하는 경향이 보여 두 종간 지형적 차이가 보임
- 비바리뱀이 출현한 지점은 도로와의 거리가 평균 649.71m로 대륙유혈목이(533.45m)보다 멀었고, 시가화지역 비율도 0.68%로 대륙유혈목이의 2.95%보다 낮았음. 비바리뱀은 대륙유혈목이에 비해 도로 소음이나 인간 활동과 같은 인위적인 교란 요인에 상대적으로 더 민감하게 반응하는 것으로 보이며, 인간의 간섭이 적은 지역을 선호하는 것으로 판단됨
- 비바리뱀의 해안과의 거리(3,105.01m)는 대륙유혈목이(4,617.29m)보다 가까웠으나, 하천과의 거리(4,882.1m)는 대륙유혈목이(3,577.22m)보다 멀게 나타남. 비바리뱀은 해안가의 저지대 평야를 선호하는 것으로 보임
- 출현 서식지의 다양성을 보기 위한 샤넨 다양도와 풍부도를 살펴보면, 두 종(비바리뱀 0.77, 5.0, 대륙유혈목이 0.74, 4.53)모두 단조로운 환경보다 다양한 토지피복이 섞여 있는 곳에서 출현함
- 대륙유혈목이 경우 다양한 환경에서도 생존할 수 있는 일반종의 특성을 가져 특성 선호 서식환경 도출이 어려울 수 있으나, 비바리뱀의 경우 출현 데이터를 확보하기 어려운 한계와 다년간의 조사 데이터 축적을 하여 통계적으로 유의미한 결과를 찾는 추가적인 분석이 필요함.
- 3차년도 경우 24, 25년 현장 조사 결과 및 과거 출현 자료 및 조사 지점을 확대하여 비바리뱀의 서식에 영향을 미치는 주요 환경인자를 규명하고 잠재 서식지 및 위협요인을 도출할 예정

표 7. 조사 지점별 비바리뱀, 대륙유혈목이 출현 및 환경 변수

site	<i>Hebius</i>	<i>Sibynophis</i>	Land use Land Cover(%)								distance			dem	slope	aspect
	<i>vibakari</i>	<i>chinensis</i>	urban	cropland	forest	grassland	barrenland	water	shannon	richness	road	stream	coast			
1	0	0	1.3	67.3	1.5	10.0	3.0	16.8	1.02	6	392.86	751.34	412.88	3.64	1.17	288.67
2	1	1	1.3	67.3	1.5	10.0	3.0	16.8	1.02	6	145.35	1,006.66	156.00	7.59	1.96	324.18
3	0	0	1.5	91.1	2.9	2.1	0.9	1.5	0.44	6	37.98	403.48	677.93	9.31	0.80	276.11
4	1	0	30.7	0.8	37.9	30.0	0.6	0.0	1.16	5	115.71	6,522.03	6,112.62	85.40	1.33	242.19
5	1	1	0.3	89.0	1.0	0.6	7.5	1.6	0.46	6	304.38	3,114.80	514.32	9.41	0.48	208.50
6	0	0	0.0	19.6	76.4	4.0	0.0	0.0	0.65	3	88.62	61.62	5,468.33	401.54	4.70	159.91
7	0	0	0.0	2.8	87.2	10.0	0.0	0.0	0.45	3	1,093.89	18.83	7,483.81	407.49	5.03	146.85
8	1	0	5.6	41.6	27.7	25.1	0.0	0.0	1.23	4	68.62	157.16	5,171.31	282.22	2.84	164.05
9	1	0	0.7	54.8	15.7	27.5	1.4	0.0	1.07	5	33.10	1,041.80	8,140.57	232.53	9.75	70.89
10	0	0	1.3	63.2	20.1	11.5	3.9	0.0	0.21	5	2.25	649.81	5,392.25	116.42	0.58	137.02
11	1	0	1.0	77.5	7.8	9.0	4.7	0.0	0.43	5	112.03	8,526.74	3,264.75	71.89	0.74	180.61
12	1	0	4.7	58.6	30.8	5.9	0.0	0.0	0.99	4	688.88	8,646.41	4,810.24	72.84	0.83	244.97
13	0	0	2.4	72.1	6.4	4.5	14.6	0.0	0.76	5	267.71	0.00	1,847.03	24.38	0.75	268.58
14	0	1	0.7	41.1	38.9	19.3	0.0	0.0	0.90	4	1,987.60	5,105.05	8,106.69	182.70	5.40	89.78
15	0	0	0.0	26.3	47.2	26.6	0.0	0.0	0.70	3	345.74	1,144.43	12,029.56	265.86	3.01	184.43
16	1	1	1.1	3.4	0.0	8.8	2.8	83.9	0.85	5	74.03	13,850.79	110.73	4.49	0.63	3.83
17	0	0	7.1	87.6	0.0	5.3	0.0	0.0	1.10	3	43.16	231.81	2,375.10	131.30	4.26	182.36
18	1	0	1.0	17.1	24.4	57.2	0.3	0.0	1.03	5	290.55	544.44	5,830.14	464.58	7.53	175.74
19	1	1	0.0	87.2	0.4	1.0	2.4	9.0	0.74	5	658.82	3,019.97	647.74	10.08	0.50	218.87
20	0	0	0.0	21.7	77.6	0.7	0.0	0.0	0.77	3	1,595.53	1,359.32	11,065.07	603.35	6.70	93.92
21	1	0	2.4	79.5	14.9	3.2	0.0	0.0	0.67	4	387.38	3,870.28	1,059.66	79.38	12.34	275.21
22	0	0	4.1	5.0	52.3	28.2	10.4	0.0	0.81	5	1,931.62	195.55	7,447.78	554.67	4.86	217.50
23	0	0	4.9	86.1	0.0	2.0	4.9	2.1	0.88	5	0.00	9,648.52	234.50	5.04	1.94	208.92
24	1	0	8.2	26.4	3.5	58.9	2.9	0.0	0.66	5	77.68	1,189.32	9,472.30	482.47	5.02	307.12
25	1	1	0.7	0.1	94.4	4.8	0.0	0.0	0.65	4	728.08	3,195.35	9,094.59	368.49	4.84	71.15
26	0	0	1.0	77.5	7.8	9.0	4.7	0.0	0.66	5	877.88	8,649.85	3,636.69	75.39	0.35	204.09
27	0	0	5.3	10.6	13.1	17.9	3.0	50.1	0.92	6	1,698.08	14,625.20	677.93	11.02	1.08	30.61
10_1	1	0	1.3	63.2	20.1	11.5	3.9	0.0	0.38	5	7.56	617.93	5,426.46	116.61	0.74	191.45
10_2	0	0	1.3	63.2	20.1	11.5	3.9	0.0	0.32	5	35.75	657.86	5,300.90	115.31	0.57	106.69
12_1	1	0	0.0	5.4	93.9	0.7	0.0	0.0	0.46	3	2,070.60	9,209.06	5,109.42	77.07	1.80	205.65
13_1	1	0	0.0	87.7	6.1	0.7	0.0	5.5	0.72	4	234.89	52.57	1,854.33	24.38	0.75	268.58
9_1	0	0	0.7	54.8	15.7	27.5	1.4	0.0	1.07	5	23.30	1,012.86	8,133.09	211.72	4.86	89.47
9_2	0	0	0.7	54.8	15.7	27.5	1.4	0.0	1.05	5	26.75	614.38	8,117.88	239.77	5.58	267.25

- 비바리뱀 및 대륙유혈목이 먹이원 확인

- 비바리뱀 및 대륙유혈목이 먹이원 분석을 위해 본 조사에서 포획된 개체의 생존에 지장을 주지 않고 스트레스를 최소화하기 위해 복부압박을 통한 자연스러운 분변 배설을 유도하였고, 그 결과 비바리뱀의 경우 시료 3점(4개체), 대륙유혈목이 경우 시료 13점(13개체)을 확보하였음. 확보된 시료는 에탄올 99%가 담긴 25ml 코니칼튜브에 보존하여 보관하였음
- 비바리뱀의 경우 4개의 분변시료를 확보하였으나, 이 중 1개체를 중복으로 확보하여 총 3개체에 대한 분변시료만 확보한 상황임. 이 시료를 통한 먹이원 분석의 경우 개체별 특이성이 결과에 과도하게 반영될 우려가 있고, 종 전체의 먹이원을 대표하기에 통계적 유의성이 낮다고 판단되어 연구의 객관성을 확보하기 위해 추가 시료를 확보 후 수행할 예정임
- 따라서, 본 연구에서는 비바리뱀의 먹이원으로 알려진 대륙유혈목이를 선행으로 먹이원 분석을 수행하여 해당 종의 먹이원 구성을 파악함 분석방법은 18S rRNA 메타바코딩 분석을 수행함
- 확보된 분변 시료의 NGS 분석 결과, 이전 18S 메타바코딩 연구들이 보고한 수만에서 수십만 리드 수준을 상회하는 평균 469,000개의 리드를 확보하였으며, 일반적으로 고품질로 간주되는 기준인 80~90% 이상을 훨씬 뛰어넘는 평균 93.7%의 Q3 비율을 기록함. 이는 본 연구 데이터가 생물정보학적 분석에 적합한 충분한 데이터 양과 높은 품질을 갖추었음이 객관적으로 입증됨

표 8 샘플별 시퀀싱 성능 및 다양성 지표 요약

Sample name	Total bases (bp)	Q20 %	Q30 %	ASV		Candidate Taxonomy			
				No	No. of reads	No	No. of reads	Shannon H	Simpson_1 -D
AV2401	68,063,683	97.4	94.2	28	219,602	7	54,116	1.03	0.62
AV2402	50,935,751	97.7	94.3	60	81,235	4	40	1.39	0.75
AV2403	47,983,822	97.3	93.6	102	151,438	6	741	0.84	0.53
AV2404	65,771,989	97.5	94.1	142	102,454	7	866	1.22	0.67
AV2405	84,535,489	97.1	93.3	151	249,150	6	60,831	0.86	0.54
AV2406	77,157,328	97.0	93.1	45	212,660	3	104,664	0.72	0.50
AV2407	56,869,006	97.6	94.1	154	163,369	9	48,186	0.65	0.34
AV2408	74,360,325	97.5	93.8	137	126,956	6	4,085	1.19	0.68
AV2409	67,513,077	97.3	93.6	128	201,267	6	16,351	1.34	0.69
AV2410	85,661,222	97.2	93.6	145	111,881	7	55,945	1.10	0.63
AV2411	85,194,142	97.0	93.1	151	209,087	10	88,559	1.01	0.57
AV2501	72,451,743	97.3	93.9	18	232,060	2	91,373	0.69	0.49
AV2502	78,809,881	97.1	93.2	136	177,522	7	90,249	0.72	0.50

- 샘플 간 알파다양성 비교에서 AV2402가 가장 높은 지수(Shannon 1.39, Simpson 0.75)를 보이며 종 풍부도와 균일성이 가장 높게 나타남. 반대로 AV2407은 가장 낮은 지수(Shannon 0.65, Simpson 0.34)를 나타내 특정 소수 종의 우점 가능성을 보여주었고, 전체 13개 중 10개 샘플은 중간 수준의 다양성 범위(Shannon 0.70 - 1.30, Simpson 0.50 - 0.70)에 집중되어, 전반적으로 유사한 군집 구조가 형성되어 있음을 확인함
- 13개 시료의 ASV(amplicon sequence variant) 기반 희소화 곡선에서 대부분의 곡선이 약 100,000 - 200,000 reads 부근에서 점근선에 도달하는 양상을 보였다(Fig. 2). 이는 시퀀싱 깊이가 충분하며, 본 자료가 식이 다양성의 대부분을 포착하여 유의한 저평가가 발생하지 않았음을 의미

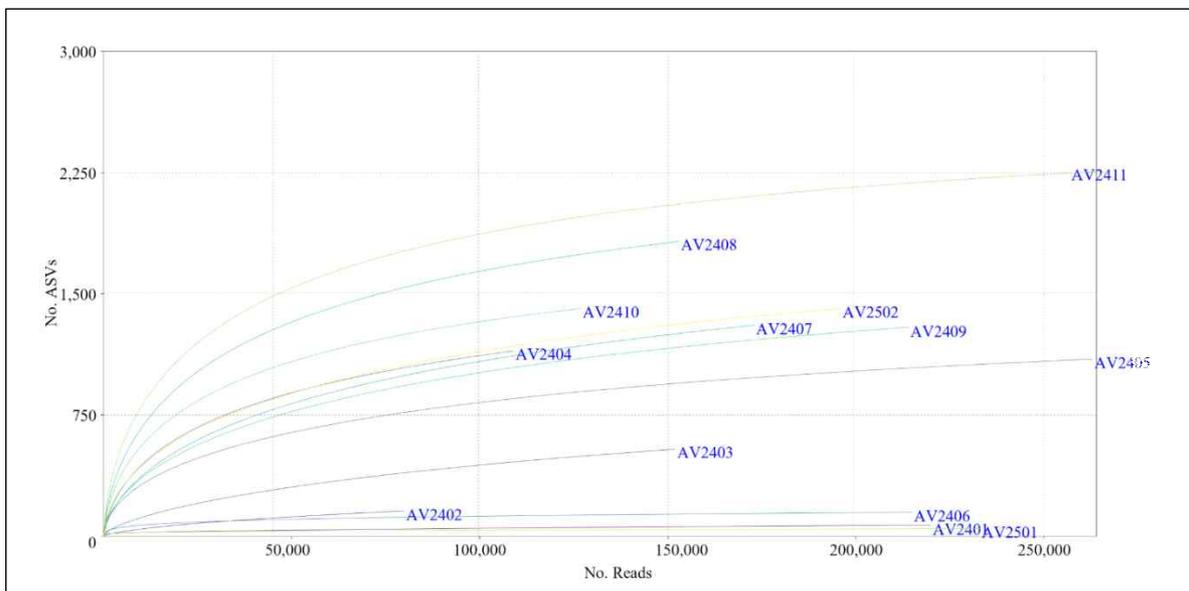


그림 17 진핵생물 18S rRNA NGS 분석을 기반으로 한 대륙유혈목이의 분변 샘플에 대한 총 판독값과 ASV 풍부도 간의 관계를 보여주는 희귀화 곡선

- 전체 13개 시료에 대한 metric MDS 분석 결과, 대다수인 11개 시료는 유사도 84% 범위 내에서 하나의 그룹(Group a)을 형성하였으나, 2개 시료(AV2407, AV2409)는 다른 그룹(Group b, c)으로 뚜렷하게 분리됨

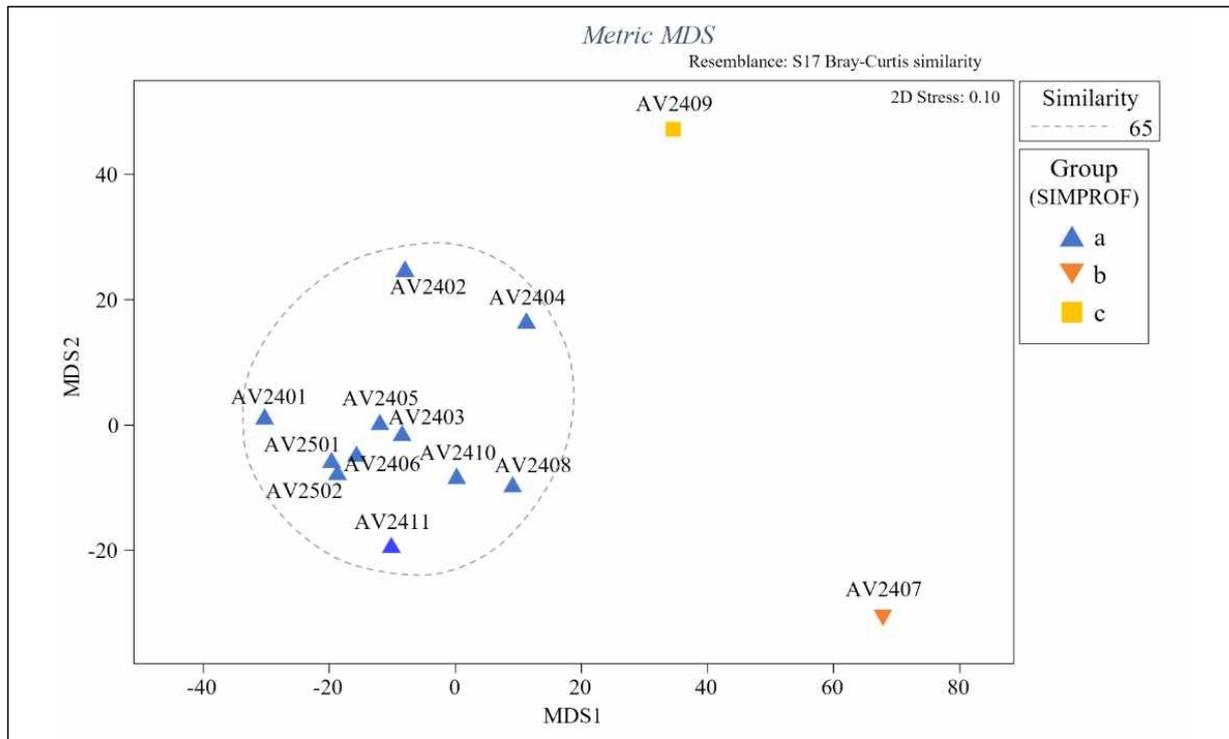


그림 18 metric-MDS 분석 결과

- 시료 전체에 대한 상대적 리드 풍부도(RRA)을 기준으로 분석한 결과, 숙주와 유전적으로 인접한 척삭동물문(Phylum Chordata)이 전체의 85.0%를 차지하며 압도적으로 우점하는 양상을 보임
- 이는 RRA가 숙주 DNA나 우점 먹이원에 편향되는 특성을 반영하며, 특히 종 수준에서 상위에서 랭크된 *Eublepharis macularius*와 *Crotalus tigris* 같은 국내 미서식종이 검출된 것은 18S rRNA 마커가 갖는 파충류 내 낮은 해상력의 기술적 한계로 인해 숙주 DNA 또는 유전적 거리가 가까운 다른 파충류 종으로 오동정되었을 것으로 판단됨
- FOO 분석 결과, 인룡강(32.5%)에 이어 거미강(28.8%), 환대강(지렁이류, 21.2%), 곤충강(15.0%) 등 다양한 무척추동물 먹이원이 유의미한 비중으로 확인되었고, 목(order) 수준의 FOO 구성비(뱀목 32.5%, 지렁이류 20.0%, 거미목 15.0% 등)는 주로 나타났으며, 환형동물의 지렁이류와 거미강의 높은 출현 빈도는 대륙유혈목이가 단순히 지표면의 곤충만을 포식하는 것이 아니라, 습한 환경을 선호하는 생태적 습성에 따라 습한 토양이나 낙엽층(leaf litter) 아래를 적극적으로 탐색하며 먹이를 섭식하고 있음을 시사함
- 향후 연구에서는 host DNA를 억제하는 프라이머를 적용하거나

해상력이 높은 마커(예: COI 또는 16S rRNA)를 병행한 분석이 필요함

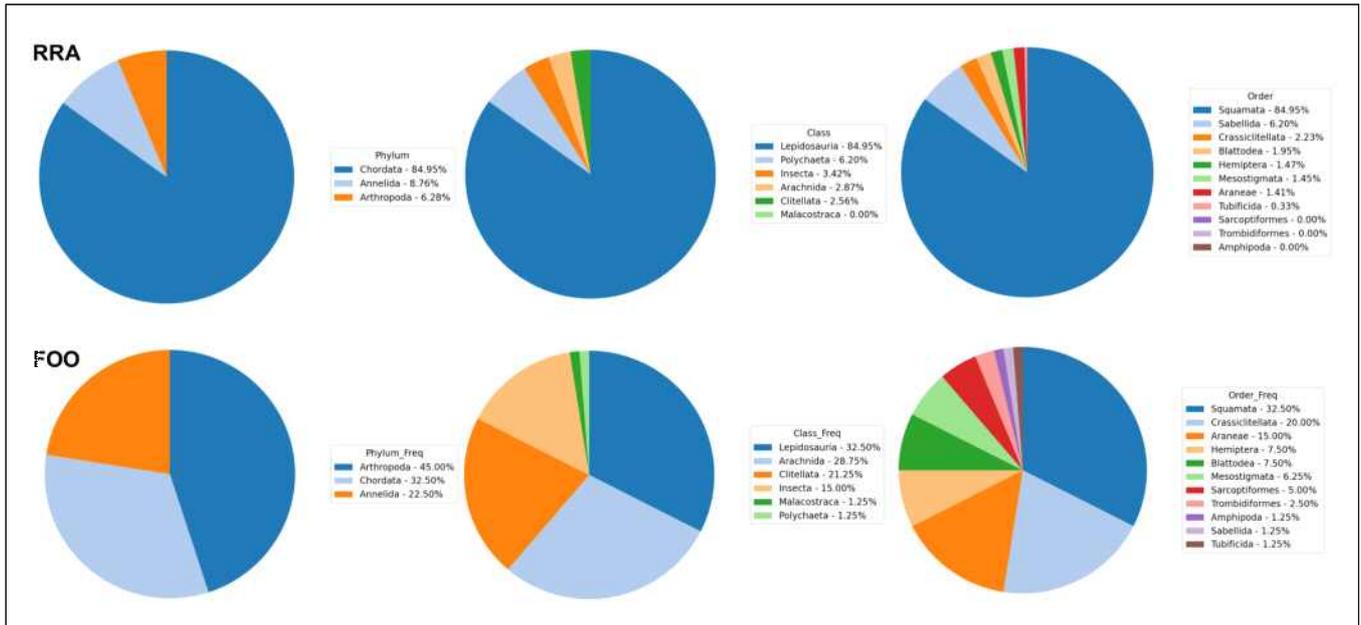


그림 19 문, 강, 종 순서에 따라 분류된 대륙유혈목이의 분변에서 먹이원 상대적 리드 비율(RRA)와 발생 빈도(FOO) 구성

(나) 위협 정도에 따라 등급화하여 분류군-종별 훼손 원인 파악

1) 꼬치동자개 훼손원인 파악

- 출현지점에서 전기전도도(Cond) 및 내성종(어류) 개체수 비율이 미출현지점에 비해 낮게 나타남
- 또한 출현지점이 탁도(Tur.), 주 먹이원(날도래목) 밀도(비율), 충식종(어류) 개체수 비율은 상대적으로 높은 경향을 보임
- 스텝와이즈 회귀분석 결과 5개 환경인자(습지 비율, 충식종 개체수 비율, EPT종 비율, 나지 비율, 민감종 비율)가 선정됨
- 로지스틱 회귀분석 결과, 최적 모형으로 선정된 서식처 적합성 모형의 변수 예측 값이 다음으로 산출됨

$$\text{Log}(p) = -22.07 + (2.41 \times \text{습지비율}) + (0.23 \times \text{충식종개체수비율})$$

- 꼬치동자개는 습지비율과 충식종개체수 비율이 높을수록 출현확률이 높음
- 또한 예상 출현율을 고려해보면 토지용도(습지)가 2.41으로 가장 핵심 변수임
- 개체수 감소: 서식처 교란, 먹이 경쟁 심화, 산란장 감소, 이입종 증가, 하천 정비로 인한 서식지 훼손, 서식지 주변 개발 ⇒ 증식, 방류, 방류 후 모니터링, 연구 및 교육, 홍보 강화 필요
- 서식지 감소: 하상구조 등의 변경으로 인한 유속 및 수심 변화, 자연재해(홍수 등)로 인한 유량 등 흐름 변화 ⇒ 특별보호구역 지정 필요

- 먹이원 감소: 교란 및 공사로 인한 서식처 변화 ⇒ 서식지 연구 및 모니터링, 서식지 개선 필요

표 9. 꼬치동자개 출현지점과 미출현지점의 서식지 환경요인 비교

		출현지점		비출현지점				
		Mean ± std	range	Mean ± std	range			
환경변수	수질	DO(mg/ℓ)	9.21±2	6.48~14.02	9.45±1.71	7.04~12		
		pH	7.98±0.51	6.87~8.68	8.09±0.73	6.99~8.84		
		Cond	172.49±85.53	60.45~363	211.2±139.01	86.1~390.5		
		Turb	5.64±4.55	1.2~17.45	2.78±1.87	1~5.6		
		BOD	1.66±0.58	0.6~2.85	2.41±1.51	0.85~5		
		NH ₃ -N	0.03±0.02	0.01~0.07	0.02±0.02	0.01~0.05		
		NO ₃ -N	1.06±0.62	0.28~2.35	1.63±1.42	0.36~3.52		
		TN	1.69±0.91	0.44~3.24	1.93±1.17	0.65~4.04		
		PO ₄ -P	0.02±0.01	0.01~0.05	0.02±0.02	0.01~0.05		
		TP	0.03±0.02	0.01~0.06	0.05±0.05	0.02~0.14		
		Chl-a	2.74±2.4	0.45~10.8	2.67±1.45	0.95~4.8		
		하천차수	3.88±1.36	1~5	3.5±0.84	3~5		
		생물환경	주먹이원 밀도 (비율)	하루살이목	30.75±22.04	0~65.09	31.65±27.14	4.04~65.51
				파리목	20.69±18.63	0~74.05	18.85±18.65	0~42.76
날도래목	14.28±19.42			0~62.79	8.7±8.34	0~22.43		
딱정벌레목	4.58±7.59			0~23.22	6.32±6.69	0.2~15.15		
어류	부착조류	내성종개체수 비율	7.8±14.11	0~49.07	28.86±34.38	0~83.51		
		잡식성종개체수 비율	36.12±11.39	15.44~54.43	39.32±18.81	13.4~66.11		
		총식성종개체수 비율	54.55±17.72	15.89~79.19	42.89±20.89	15.46~72.96		
		여울성저서종수	2.35±1.66	0~6	2.17±1.72	0~4		
		민감종수	3.94±1.68	0~7	3.17±2.48	0~6		
		운동성돌말류 종수 (상대밀도)	12.29±5.21 (11.94±12.32)	2~2 (0.9~43.61)	13.5±5.1 (32.53±28.15)	9~23 (12.99~81.07)		
		부영양성돌말류종수 (상대밀도)	14.53±6.45 (14.63±9.31)	5~3 (3.29~34.38)	13.67±1.97 (21.18±10.76)	12~17 (5.34~32.34)		
		민감성 돌말류종수 (상대밀도)	12.47±2.72 (60.58±24.58)	8~18 (8.93~96.21)	11.83±2.48 (59.26±20.81)	9~16 (37.31~89.01)		
		EPT종 비율 (%)	45.36±27.99	3.82~78.44	40.44±31.03	4.04~75.31		
		주위먹는 무리개체수 비율 (%)	55.19±26.95	0~92.15	53.3±20.29	32.93~80.82		
생물변수	저서	걸러먹는 무리 및 굵어먹는 무리의 개체수 비율 (%)	40.51±26.96	6.16~92.79	36.51±20.34	16.54~63.05		
		갈따구류 제외한 개체수 비율 (%)	81.86±19.27	25.95~100	87.27±14.48	59.78~100		
		민감종 비율 (%)	1.06±1.54	0~5.29	1.56±2.13	0~4.49		
		내성종 비율 (%)	6.71±16.7	0~58.75	4.26±4.01	0~11.11		
		우점종비율	33.77±16.51	17.78~74.05	24.91±7.06	14.14~32.19		
	다양도지수	2±0.74	0~2.82	2.45±0.31	2.01~2.84			

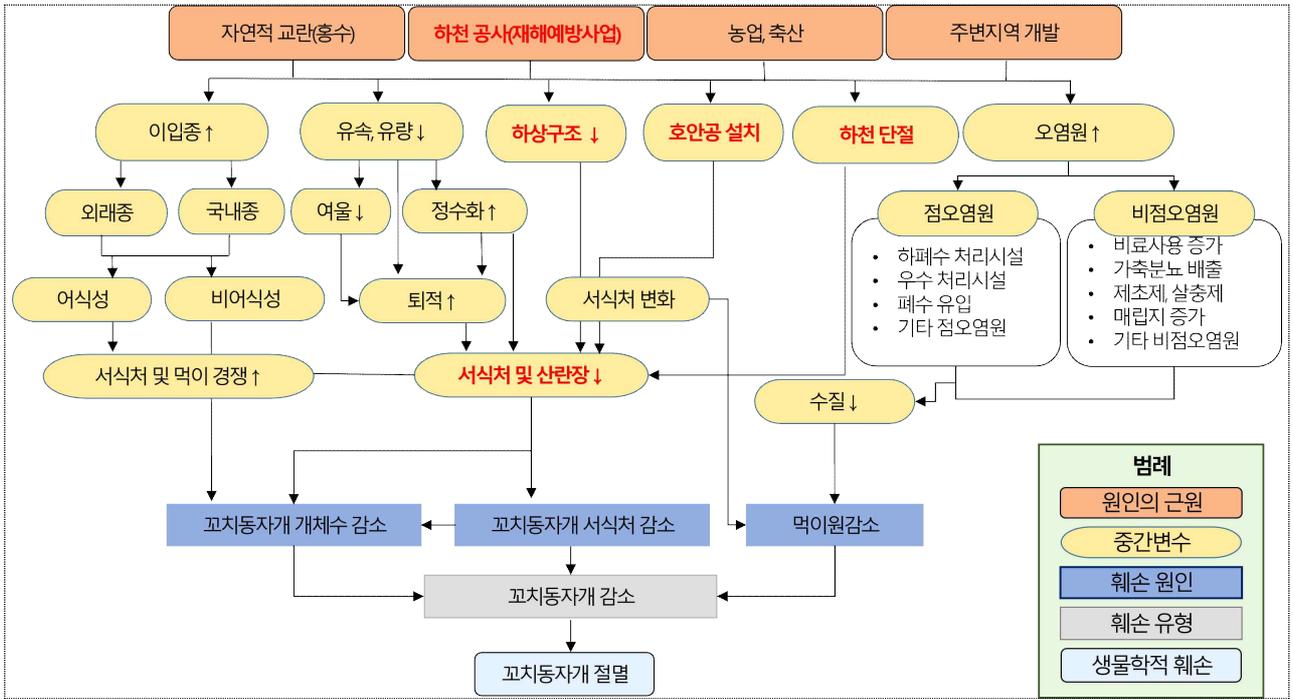
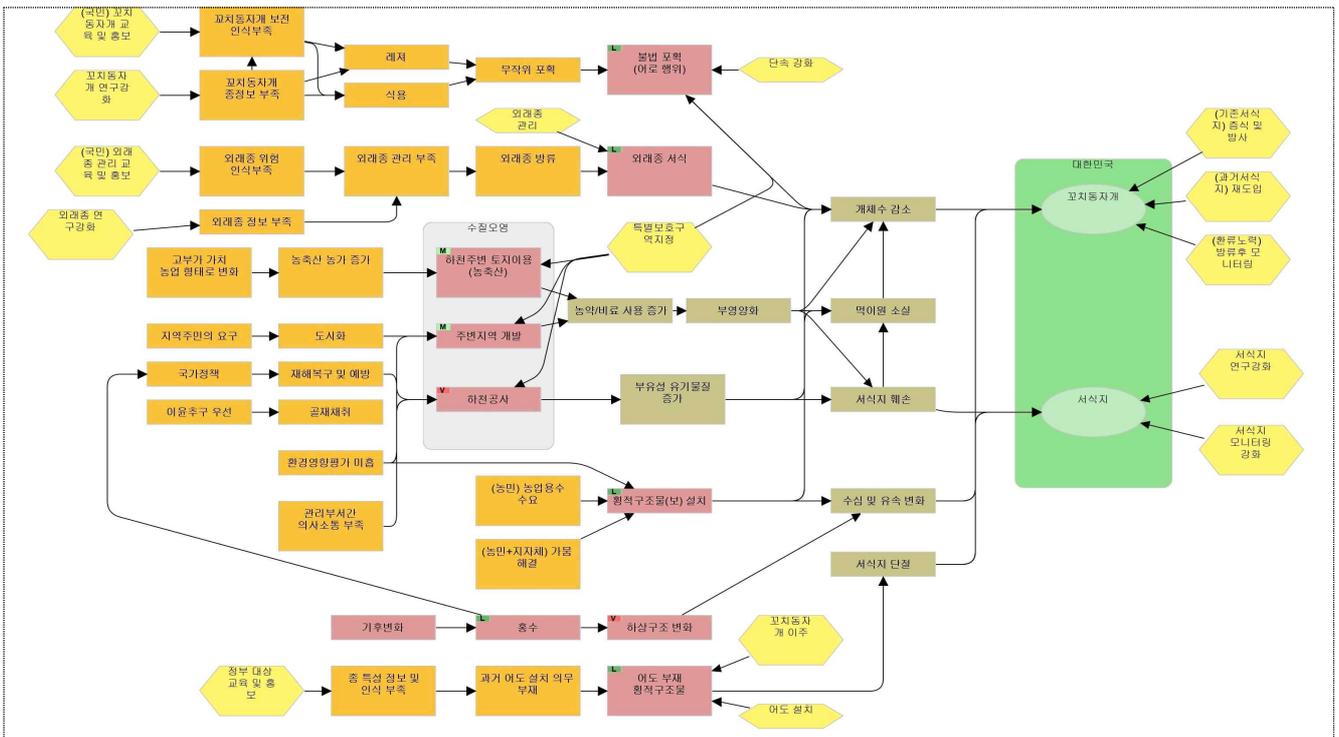


그림 20. 꼬치동자개 개념적 훼손진단 모델



(■: 직접적 위협요인, □: 간접적 위협요인, ▨: 위협요인으로 인한 결과, ○: 보전대상, ◇: 전략)

※ 직접적 위협요인(적색 사각형)의 좌측상단 문자는 '직접적 위협요인 평가표'의 종합평가결과임 (L: 낮음, M: 중간, H: 높음, V: 매우 높음)

※ 보전 개념모형 구축은 Miradi 프로그램 활용(www.miradi.org)

그림 21 꼬치동자개 종 복원사업 보전 상황모형

(2) 멸종위기 담수어류 및 양서파충류 복원 연구

(가) 증식 기술 개발 및 개체 관리

1) 모래주사 인공증식 매뉴얼 제작

- 3년간(2022~2025년)의 연구 결과를 바탕으로 모래주사 증식기술 확보 성공
- 증식기술 보급 → 복원사업 확대를 위한 매뉴얼 제작
- 연구 배경 및 목적, 생태 및 분포 정보, 치어 확보 및 사육 관리, 인공성숙 및 산란 유도, 인공 수정 및 관리, 치어 사육관리 및 먹이 급여, 질병 관리 및 주의사항 등 포함

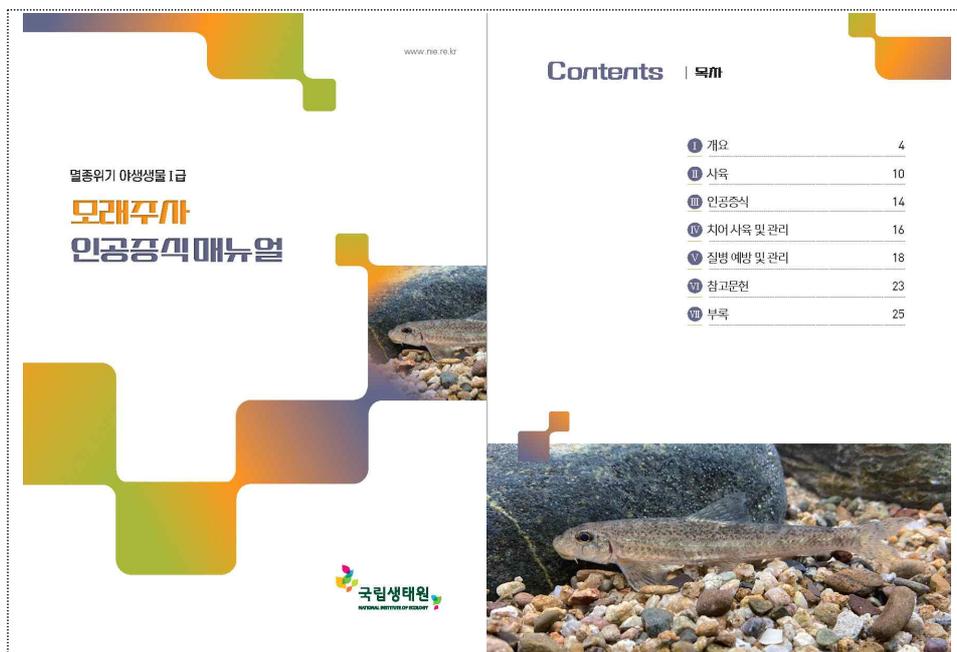


그림 22. 모래주사 인공증식 매뉴얼 발간

2) 우리나라 청개구리류 원종 동정 기술 개발

- GBS 데이터를 기반으로 분자마커 22개 개발
- 청개구리류 여섯 집단의 유전적 거리를 분석하기 위해 유전형 데이터를 바탕으로 Principal Coordinates Analysis (PCoA) 분석을 수행한 결과, 청개구리(Dja) 집단과 청개구리 모계 교잡종(DjDs) 집단은 우측에, 나머지 집단은 좌측에 뚜렷이 분리되어 배치되었으며, 이는 두 집단 간 뚜렷한 유전적 분화를 나타냄(그림 3)
- 청개구리 모계 교잡종(DjDs) 집단은 청개구리(Dja) 집단과 가까운 위치에

분포하였고, 노랑배청개구리(Dfl) 집단은 수원청개구리(Dsu) 집단과 중첩되는 양상을 보였으며 교잡종(Hyb) 및 수원청개구리 모계 교잡종(DsDj) 집단의 개체들은 집단 사이에 분포하거나 산재하여 나타남

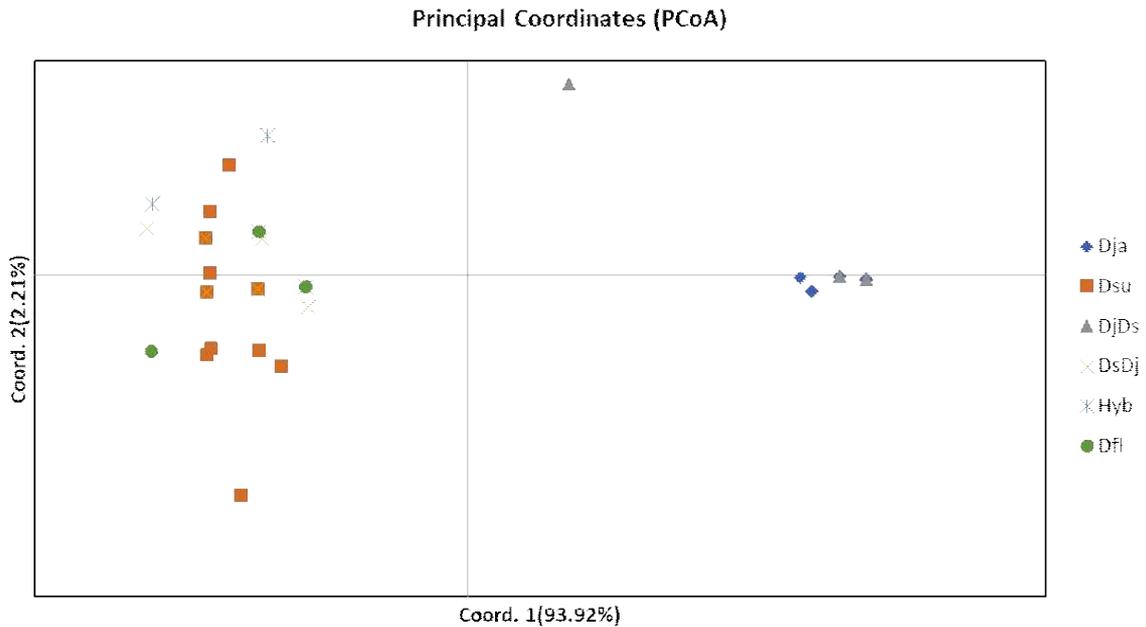


그림 23. 청개구리류 6개 집단의 유전자형 분석 기반 Principal Coordinates Analysis (PCoA). Dja: 청개구리, Dsu: 수원청개구리, DjDs: 청개구리 모계 교잡종, DsDj: 수원청개구리 모계 교잡종, Hyb: 교잡종, Dfl: 노랑배청개구리

- 해당 마커들은 교잡종을 명확하게 구분하지 못하기 때문에 분자마커의 해상도를 높이기 위하여 보존(conserved)적인 영역인 단백질 번역 영역(protein coding gene)에서의 분자마커 설계 필요

3) 우리나라 청개구리류 종별 골격 비교를 위한 시범 분석

- PCA 분석 결과, 총 변이량(total variance)이 0.02~0.19 값으로 매우 낮았으며, 고유 분산값(eigenvalue variance scaled by total variance)이 0.07~0.12로 모두 낮게 나타남
- 이는 특정 주성분이 형태 변이의 큰 부분을 설명하지 못했으며, 시료 수가 각 종당 3개체로 시료 수가 매우 적어 PCA 구조가 안정적이지 않은 것으로 확인됨. 따라서 시료 수를 늘려 추가 분석 필요



그림 24. 청개구리류 두개골 사진

(나) 서식지 환경 특성 파악 및 기후변화 예측 연구

1) 수원청개구리 생태적 지위 모델 개발을 통한 서식지 관리 방안 모색

- 수원청개구리는 해발고도와 경사도가 낮은 저지대 지역에서 주로 출현했으며, 면적이 500 m² 이상의 농경지가 주 서식지임을 확인. 따라서 논은 수원청개구리의 핵심 서식지로 가장 중요한 변수임을 알 수 있었고, 논 생태계 구조에 적응한 것으로 보임
- 출현 지점은 비출현 지점보다 평균·최고·최저 기온이 높고, 연강수량·2분기 강수량·강수강도 지수가 낮았음. 이는 수분 의존도가 높은 양서류의 특징을 잘 반영한 결과로 볼 수 있음

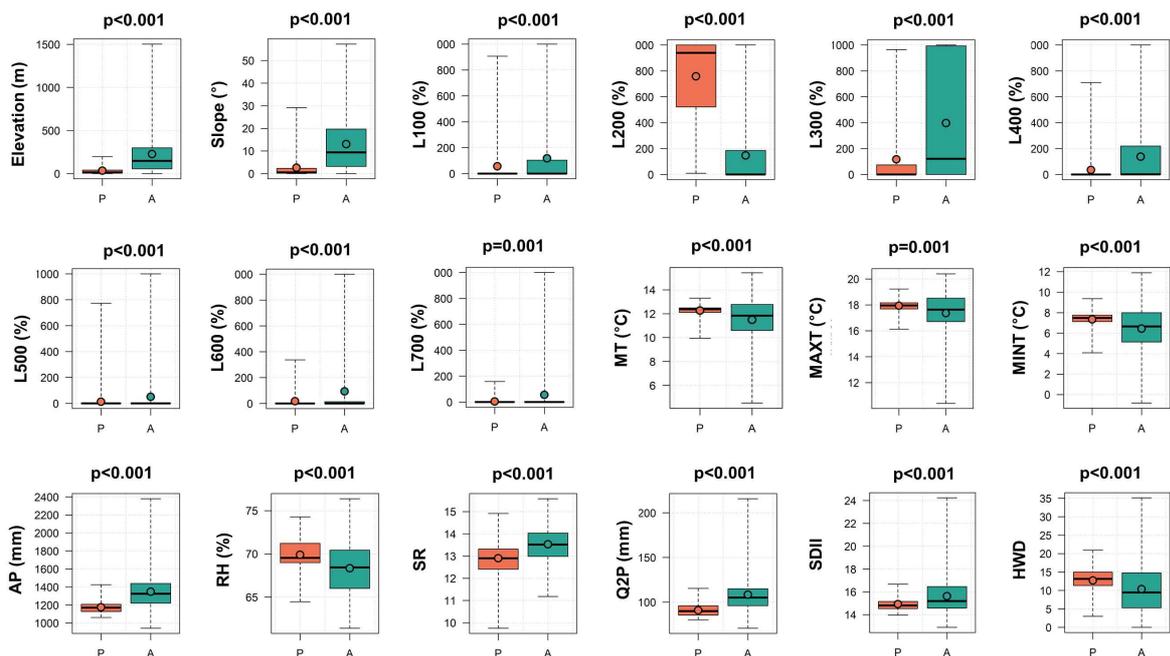


그림 25. 수원청개구리의 서식지 환경 특성 분석. 환경 조건은 출현 지점(P)과 비출현 지점(A) 비교

- 4분기 강수량이 증가할 경우, 수원청개구리의 출현 확률이 증가하였으며, 2분기 강수량의 증가는 출현 확률을 감소시킴. 4분기 강수량은 수원청개구리의 동면 환경 개선과 관련되어 보이며 (Nakanishi et al. 2025), Becker et al. (2018)의 연구 결과를 보면, 2분기 강수량의 증가는 수원청개구리의 번식 성공률을 떨어뜨릴 가능성이 있음

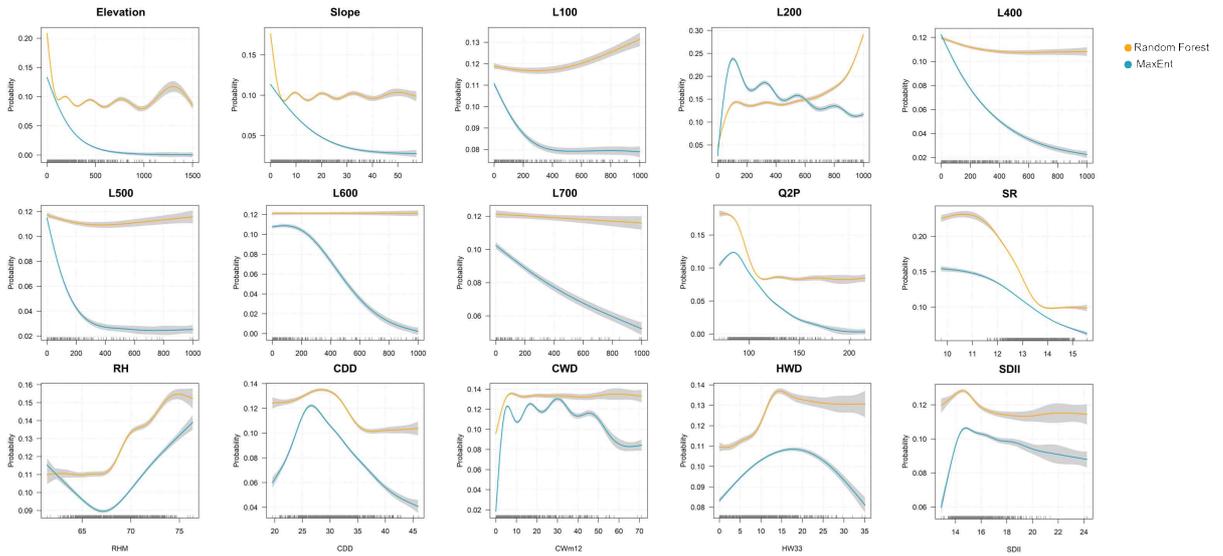


그림 26. 생태적 지위 모델에서 수원청개구리 출현에 영향을 미치는 환경 변수를 나타내는 부분 의존도 그림(partial dependence plot)

- RandomForest(RF)와 MaxEnt의 앙상블 모델 평균이 ACC = 0.942, AUROC = 0.956, F1 = 0.808, TSS = 0.912 값으로 높은 예측 성능을 나타냄. RF와 MaxEnt 모델 모두 2분기 강수량과 고도가 수원청개구리에 있어 중요한 변수로 나타남

표 10. Random Forest 및 MaxEnt 모델 기반 수원청개구리 서식지 적합성 예측 성능 평가 (평균 ± 표준편차). RF와 MaxEnt 모델에 대한 모든 평가 값들은 훈련모델에서 제외된 30% 테스트 데이터셋을 사용하여 10-fold 교차 검증으로 측정

Model	Accuracy	F1 Score	AUROC	TSS
Random Forest	0.919 ± 0.003	0.755 ± 0.007	0.979 ± 0.001	0.876 ± 0.003
MaxEnt	0.911 ± 0.001	0.733 ± 0.005	0.985 ± 0.001	0.923 ± 0.003
Ensemble	0.942 ± 0.007	0.808 ± 0.020	0.956 ± 0.006	0.912 ± 0.011

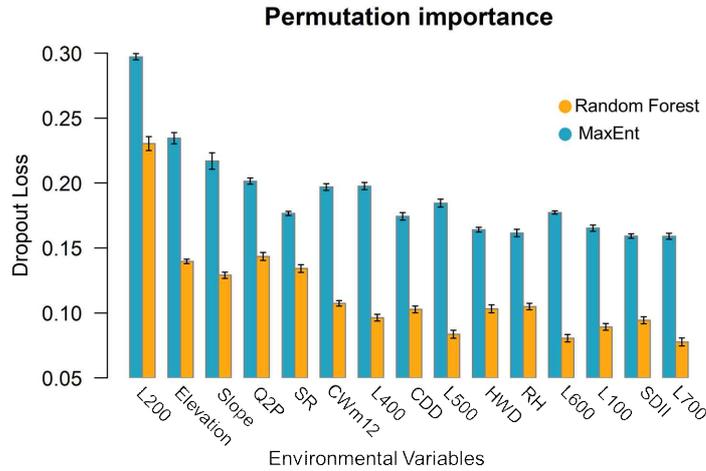


그림 27. 각 생태학적 지위 모델에서 수원청개구리 출현에 대한 변수 중요도. 중요도는 permutation test를 이용해 계산했으며 막대와 오차 막대는 평균과 표준편차를 나타냄

- Youden's Index 값이 0.296 이상이면 수원청개구리의 적합한 서식지로 간주되었으며, 값이 0.296 미만은 부적합한 지역으로 간주. 이 기준값을 바탕으로 수원청개구리의 적합성 지도를 세 가지 범주로 분류: $0.0 \leq$ 부적합 < 0.296 ; $0.296 \leq$ 적합 < 0.6 ; $0.6 \leq$ 매우 적합 ≤ 1 . 수원청개구리의 적합 서식지는 기존 서식지와 유사. 서식이 적합한 지역은 기존 수원청개구리 서식지가 분포되어 있는 경기도와 충청남도에 위치. 기존 서식지 보전이 우선적이라고 판단됨

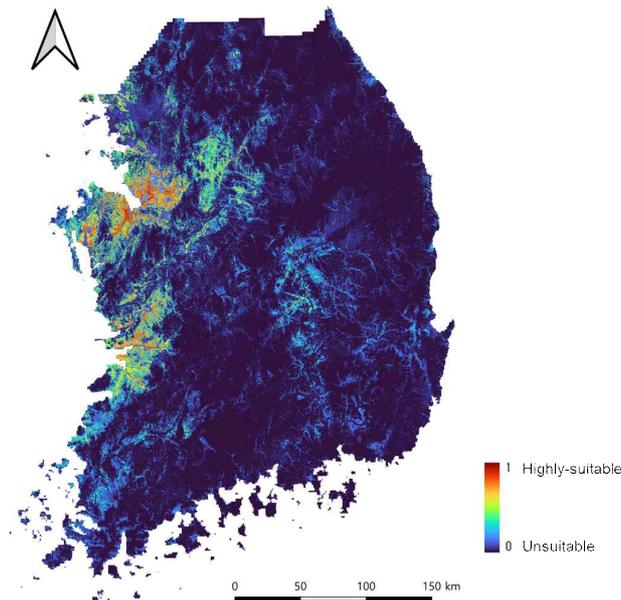


그림 28. 수원청개구리 잠재서식지

2) 남생이 서식 환경 분석 및 기후변화로 인한 미래의 서식지 변화 예측

- 남생이 서식지 결정 핵심 요인 분석 (Variable Importance)

- 랜덤 포레스트 모델을 통해 변수 중요도(Mean Decrease Gini)를 분석한 결과, 남생이의 서식 여부를 판별하는 가장 결정적인 요인은 경사도였으며, 그 뒤를 고도, 수역, 나지, 습지 등이 따르는 것으로 확인됨
- * 특히 경사도가 최상위 중요 변수로 도출된 것은 반수생 거북류인 남생이의 이동 능력 한계와 생리적 특성을 반영하는 것으로 추정됨. 남생이는 육상 이동 시 에너지 소모를 최소화하기 위해 평탄한 지형을 선호하며, 급경사지는 산란 이동이나 서식지 간 분산을 제한하는 물리적 장벽으로 작용함을 시사함
- * 경사도와 고도는 남생이의 생존(이동 제약 및 피난처)을 결정짓는 제한 인자(Limiting Factor)로서 가장 강력하게 작용하였으며, 산란 장소인 나지의 중요도가 높게 나타난 것은 번식지 서식지 선택의 특수성을 반영함
- * 산림과 농경지 변수가 중요도 순위에서 다소 밀려난 것은 단순한 선호/기피가 아닌 복합적인 서식지 이용 패턴과 관련있는 것으로 생각됨

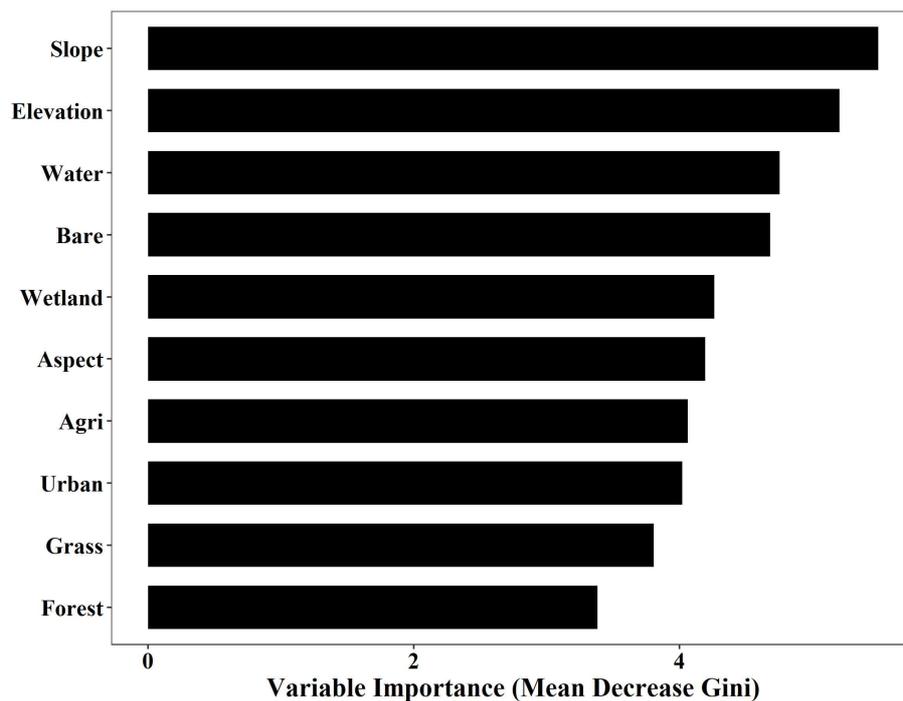


그림 29. 랜덤 포레스트(Random Forest) 모델 기반의 남생이의 서식지 내 환경 변수 중요도 평가

- 생태적 지위 및 서식지 패턴 (PCA Analysis)

- 남생이 출현 지점(Presence)만을 대상으로 수행한 PCA 결과, 서식지의 환경 구조는 '자연적 지형 구배(PC1)'와 '토지 이용 유형 구배(PC2)'로 명확히 설명됨
- 제1주성분 (PC1): '거시적 산림-지형 입지'
 - * PC1 축은 경사도(0.99), 산림(0.99), 고도(0.94)와 매우 강한 양의 상관관계를 보임. 반면 도시(-0.66) 및 농경지(-0.61)와는 음의 상관관계를 나타냄
 - * 이는 남생이의 서식지가 평탄한 저지대 도시, 농경지 구역이 아닌, 산림이 우거지고 지형적 기복이 있는 산간 지역에 주로 위치하고 있음을 시사함. 즉, 거시적 관점에서 남생이는 인위적 간섭이 적은 산림 지대를 핵심 서식 권역으로 삼고 있는 것으로 판단됨
- 제2주성분 (PC2): '수환경의 질적 특성'
 - * PC2 축은 수역(0.97)과 습지(0.90)와 양의 방향으로 강하게 작용함
 - * 이는 산간 지역 내에서도 건조한 사면이 아닌, 풍부한 수량이 확보된 수공간(저수지, 하천)에 서식하고 있음을 나타냄

표 11. 남생이 출현 지점의 환경 변수와 주성분 분석(PCA) 서열화 축 간의 적합성 (Environmental fit) 분석 결과

Variable	PC1	PC2	R ²	P_value
Forest	0.9998	0.0221	0.8322	0.001
Elevation	0.9402	-0.3405	0.6163	0.001
Water	-0.2388	0.9711	0.6023	0.001
Slope	0.9917	-0.1286	0.5439	0.001
Urban	-0.6563	-0.7545	0.5233	0.001
Grassland	-0.4056	-0.9141	0.4985	0.001
Wetland	-0.4327	0.9015	0.4319	0.001
Bareland	-0.6405	-0.7680	0.2343	0.016
Agriculture	-0.6081	0.7939	0.0480	0.349

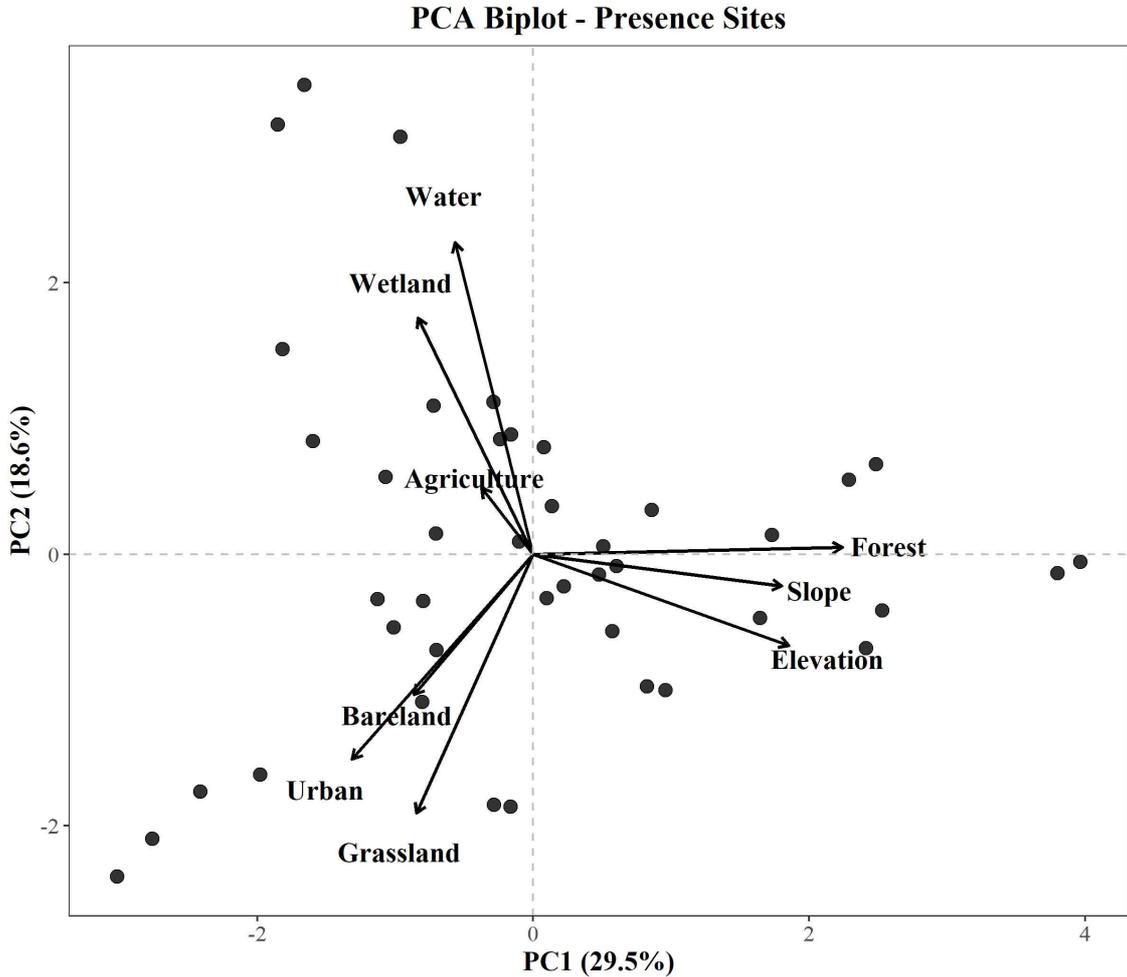


그림 30. 남생이가 출현한 서식지 환경 특성을 시각화한 주성분 분석(PCA) 바이플롯

- 환경 변수별 반응 특성 (Response Curve Analysis)

• A. 경사도 (Slope): '유일한 공통 하락 요인'

- * 모든 모델(RF, GBM, GLM)에서 경사가 급해질수록 서식 확률이 급격히 감소하는 일관된 우하향 패턴을 보임. 이는 '평탄한 지형'이 남생이 서식의 가장 강력하고 절대적인 전제 조건임을 증명함
- * PCA(PC1)에서 경사도와 강한 양의 상관관계를 보인 것과 대조적으로, 반응 곡선에서는 0~5도 사이의 평지에서 서식 확률이 가장 높고 경사가 급해질수록 확률이 급감하는 패턴을 보임
- * 이는 '스케일(Scale)의 차이'에 기인함. 거시적으로 남생이는 도시를 피해 경사가 급한 산간 지역(High PC1으로 이동했지만, 그 산간 지역 내부(Micro-habitat)에서는 이동 효율과 산란을 위해 가장 평탄한 저수지 가장자리나 계곡 및 하천변의 평지(Low Response Curve)를 선택적으로 이용하고 있음을 나타낸다고 생각됨

- B. 고도 (Elevation): ‘고지대 피난처’
 - * 고도가 높아질수록 서식 확률이 증가하는 경향을 보임. 이는 저지대 개발 압력을 피해 상대적으로 인간 간섭이 적은 산간 저수지나 상류 하천을 피난처(Refuge)로 선택한 결과임
- C. 수역 (Water) vs E. 습지 (Wetland): ‘습지의 질적 우위’
 - * 두 변수 모두 비율 증가 시 확률이 상승하지만, 습지가 수역보다 기울기가 가파르고 높은 확률값에 도달함. 이는 단순한 개방 수면보다 수생식물이 발달하여 은신처와 먹이원을 제공하는 습지가 서식지로서의 질이 더 높음을 시사함
- D. 나지 (Bareland): ‘산란처의 긍정적 효과’
 - * 나지 비율이 증가할수록 서식 확률이 상승함. 제방 사면이나 모래톱 등 산란 공간의 확보가 서식지 선택의 긍정적 요인임을 보여줌
- F. 사면향 (Aspect): ‘특정 방향 회피’
 - * 남향(180도) 선호보다는, 서향~북서향(200~300도) 구간에서 서식 확률이 감소하는 경향이 관찰됨. 건조하거나 부적합한 지형적 특성이 반영된 것으로 보임
- G. 농경지 (Agriculture) & H. 도시화율 (Urban): ‘인위적 환경에 대한 적응’
 - * PCA(PC1)에서는 산림과 대조되는 음의 상관관계를 보였으나, 반응 곡선(특히 GLM)에서는 농경지와 도시화율이 증가할수록 서식 확률이 완만하게 유지되거나 상승하는 경향이 관찰됨
 - * 이는 연중 안정적인 수위를 유지하는 저수지에 비해 농경지가 핵심 영구 서식지로는 부족할 수 있으나(PCA 결과), 5~7월 관개기(Watering season)에는 먹이 가용성이 높고 수로를 통한 은신이 용이하여 남생이가 일시적으로 이용하는 계절적 서식지(Seasonal habitat)로서 중요한 기능을 수행함(Park, 2025). 또한, 남생이가 서식하는 수계(저수지)가 공간적으로 농경지 및 마을과 인접해 있는 경우가 많아 나타난 반자연적 적응(Semi-natural adaptation) 및 공간적 연관성’으로도 해석됨
- I. 초지 (Grassland): ‘수변 식생의 중요성’
 - * 초지 비율이 증가할수록 서식 확률이 상승하는 양상을 보임. 이는 수변의 초지가 육상 이동 시 포식자로부터의 은폐 업체물 역할을 하며, 콘크리트 제방보다 초지로 덮인 자연형 제방을 선호함을 나타냄
- J. 산림 (Forest): ‘광범위한 서식 배경’
 - * 비율 증가 시 서식 확률이 꾸준히 상승함. 산림은 서식지의 질을 결정하는 가장 기본적인 토대 역할을 수행함

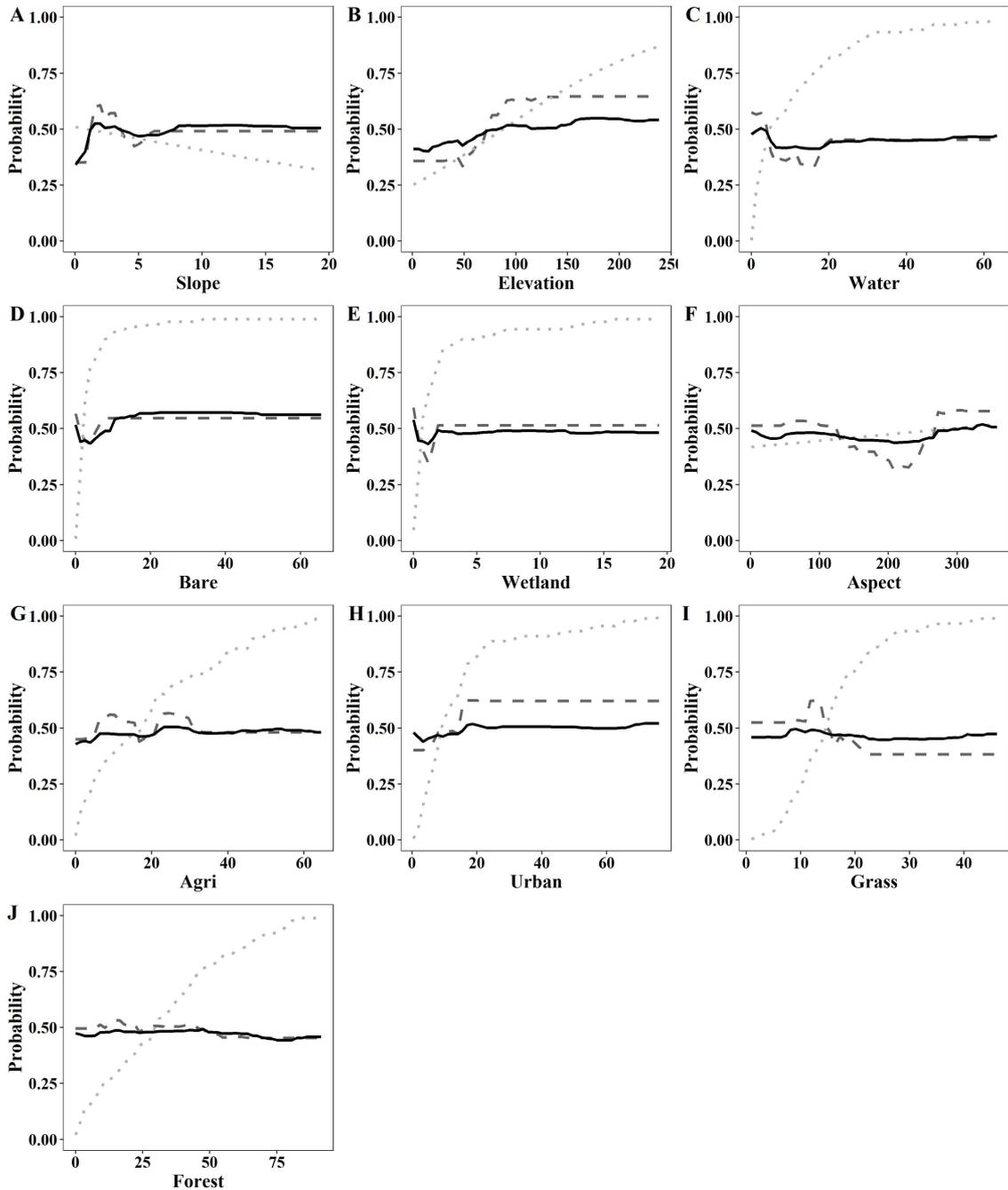


그림 31. 환경 변수에 대한 남생이 서식 확률 반응 곡선. 각 선은 서로 다른 모델링 알고리즘의 예측 결과를 나타냄: 랜덤 포레스트(RF; 검정 실선), 그래디언트 부스팅(GBM; 진한 회색 파선), 일반화 선형 모형(GLM; 연한 회색 점선)

- 종합 고찰 및 향후 계획

- 본 연구 결과, 남생이의 서식지 선택은 거시적 환경(Landscape)과 미시적 환경(Micro-habitat) 간의 상충 관계(Paradox)를 보여줌

- * 지형적 역설 (The Slope Paradox): 데이터 상에서 남생이는 고도와 경사도가 높은 산림 지역(PCA PC1)에 분포하는 것으로 나타났으나, 실제 미세 서식지 선호도에서는 평탄한 지형(Response curve)을 절대적으로 요구함. 이는 남생이가 본래 선호하던 저지대의 광활한 평야 습지가 도시와 농경지로 개발됨에 따라, 생존을 위해 산 속에 위치한 작은 평지(산간 저수지, 계곡 소류지)로 내몰린 서식지 압박(Habitat squeeze) 현상으로 해석됨
- * 농경지의 생태적 기능 재조명: 농경지는 산림에 비해 서식 적합도가 낮게 평가되었으나(PCA), 반응 곡선과 선행 연구(Park, 2025)를 종합할 때, 번식기 일시적인 먹이 활동 공간이자 은닉처로서 중요한 계절적 서식지 기능을 수행하는 것으로 판단됨. 또한, 도시화율과의 양의 상관성은 남생이가 인간과 완전히 격리된 환경보다는 농촌 경관 내의 반자연적 수계에 적응하여 생존하고 있음을 시사함
- * 하천 서식지의 중요성: 본 연구에서 확인된 15개(출현 10, 비출현 5)의 하천 서식 지점은 남생이가 정수역뿐만 아니라, 유속이 완만한 하천의 보(Weir) 구간이나 소(Pool) 지역을 서식지로 이용함을 보여줌. 이는 하천 정비 사업 시 보 존치나 자연형 여울, 소 조성이 남생이 보전에 기여할 수 있음을 시사함
- 따라서 향후 보전 전략은 핵심 서식지(산간 저수지 및 자연 하천)는 절대 보전 구역으로 지정하여 관리하고, 완충 서식지(농경지 및 수로)는 농수로 탈출구 설치 등을 통해 생태적 연결성을 확보하는 이원화된 전략이 필요함
- 본 연구에서 규명된 핵심 서식지 변수(경사도, 고도, 습지, 수계 연결성 등)를 기반으로, 차년도 연구에서는 기후변화에 따른 남생이 서식지의 시공간적 변화를 예측하는 종분포모델(SDM) 고도화를 수행할 계획임
- * 기후변화 시나리오 적용: IPCC 제6차 평가보고서의 공통사회경제경로(SSP; Shared Socioeconomic Pathways) 시나리오 중 '지속가능 경로(SSP1-2.6)'와 '화석연료 의존 경로(SSP5-8.5)' 등을 적용하여, 미래(2050년, 2070년) 기온 상승 및 강수 패턴 변화가 남생이 서식 적합성에 미치는 영향을 분석할 예정임(IPCC, 2021)
- * 서식지 이동 예측: 기후변화로 인한 수문 환경 변화(가뭄, 홍수 등)와 기온 상승이 남생이의 서식 적합지를 북상시키거나 더 높은 고도로 이동시킬 가능성을 평가함. 이를 통해 미래에 서식지가 소실될 위험이 있는 지역(Hotspot of loss)과 새롭게 형성될 잠재 서식지(Refugia)를 파악하고자 함

* 선제적 보전 전략 수립: 예측 결과를 바탕으로, 현재 보호구역의 유효성을 평가하고 기후변화에도 안정적인 서식처 기능을 유지할 수 있는 지역을 '기후 피난처(Climata refugia)'로 지정하여 우선적으로 보호 및 복원하는 적응형 관리(Adaptive management) 전략을 제안할 계획임

(다) 첨단기술을 활용한 멸종위기종 모니터링

1) 환경DNA를 이용한 유해조수와 멸종위기 담수어류의 연관성 파악

- 분변 46개 시료와 하천수 9개 시료를 대상으로 16S 메타바코딩 라이브러리를 시퀀싱한 결과 reads 수는 평균 $810,316 \pm 271,519$ 개(범위 357,514-1,779,616)였으며, Q30(Phred ≥ 30 비율)은 $92.47 \pm 1.13\%$ (범위 88.31-94.96%)로 나타나 시료별 비교를 위한 데이터량도 충분한 편이며, 전반적으로 Q30이 평균 92% 이상으로 높아 후속 분석(예: 군집 조성 비교, 다양도 분석 등)에 적용하기에 염기 품질이 양호한 수준으로 판단됨
- 희소화 곡선(rarefaction curve)에서 대부분 시료는 read 수 증가에 따라 초기에는 분류군 수(Taxa S)가 빠르게 증가하였으나, 일정 심도 이후 증가폭이 완만해지는 양상을 보임(그림 2)에 따라 전반적으로 추가적인 read 확보가 분류군 수를 크게 증가시키지 않는 수준으로 판단되며, 본 자료의 시퀀싱 깊이는 군집 검출을 수행하기에 충분한 수준으로 해석할 수 있음

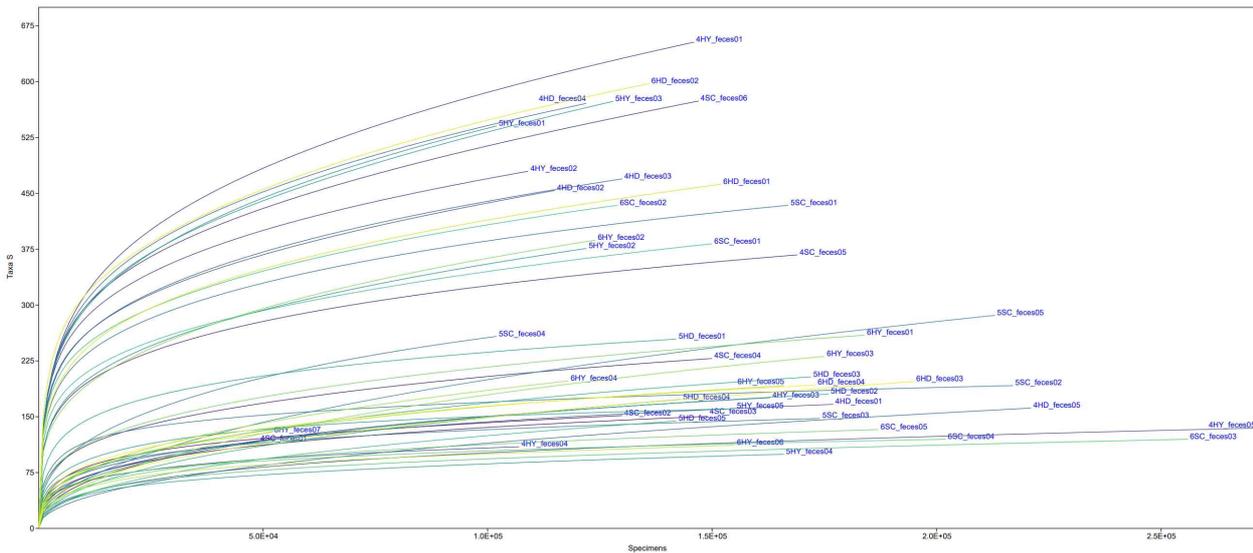


그림 32. 메타바코딩 분석 시료별 희소화 곡선 분석 결과

- 분변 eDNA의 분류학적 조성은 출현빈도(FOO)와 상대적 리드 풍부도(RRA) 요약에서 공통적으로 척삭동물문(Chordata)이 우점하였으며, RRA 기준에서 우점성이 더욱 강화되는 경향을 보임(FOO 80.77% vs RRA 89.05%)(그림 3)
- 강(Class) 수준에서 조기어강(Actinopterygii)은 분변 메타바코딩 분석에서 FOO 51.92%로 가장 높은 비율을 보였고, RRA 72.48%로 read 기반 조성에서도 가장 큰 비중을 차지함. 또한 시료별 FOO 기반 상대조성에서도 모든 시료에서 조기어강이 가장 큰 비중을 차지하는 패턴이 공통적으로 확인됨(그림 4). 반면 포유강(Mammalia), 조강(Aves), 양서류강(Amphibia), 파충강(Reptilia) 등 다른 강 분류군은 일부 시료에서 검출되었으나, 전체 조성에서 차지하는 비율은 조기어강에 비해 크게 낮았다. 종합하면, 분변 메타바코딩 분석의 강 수준 분류학적 조성은 조기어강이 가장 큰 비중을 차지하고, 나머지 분류군이 그 외 비율을 구성하는 형태로 나타남
- 목(Order) 수준에서는 잉어목(Cypriniformes)이 FOO 57.14%, RRA 59.08%로 두 지표에서 모두 가장 높은 비중을 보여, 분변 메타바코딩 분석 기반 어류 조성의 중심이 잉어목임을 일관되게 지지함 특히 목 수준에서는 FOO와 RRA의 차이가 문/강 수준에 비해 상대적으로 작아, 잉어목이 검출 빈도와 read 비중 양 측면에서 동시에 우점하는 안정적인 패턴을 보임
- 요약하면, 본 분변 메타바코딩 분석 자료는 상위 분류단계에서 척삭동물문-조기어강-잉어목으로 이어지는 우점 구조가 명확하며, RRA에서는 해당 우점 구조가 더욱 강화되는 양상이 나타남

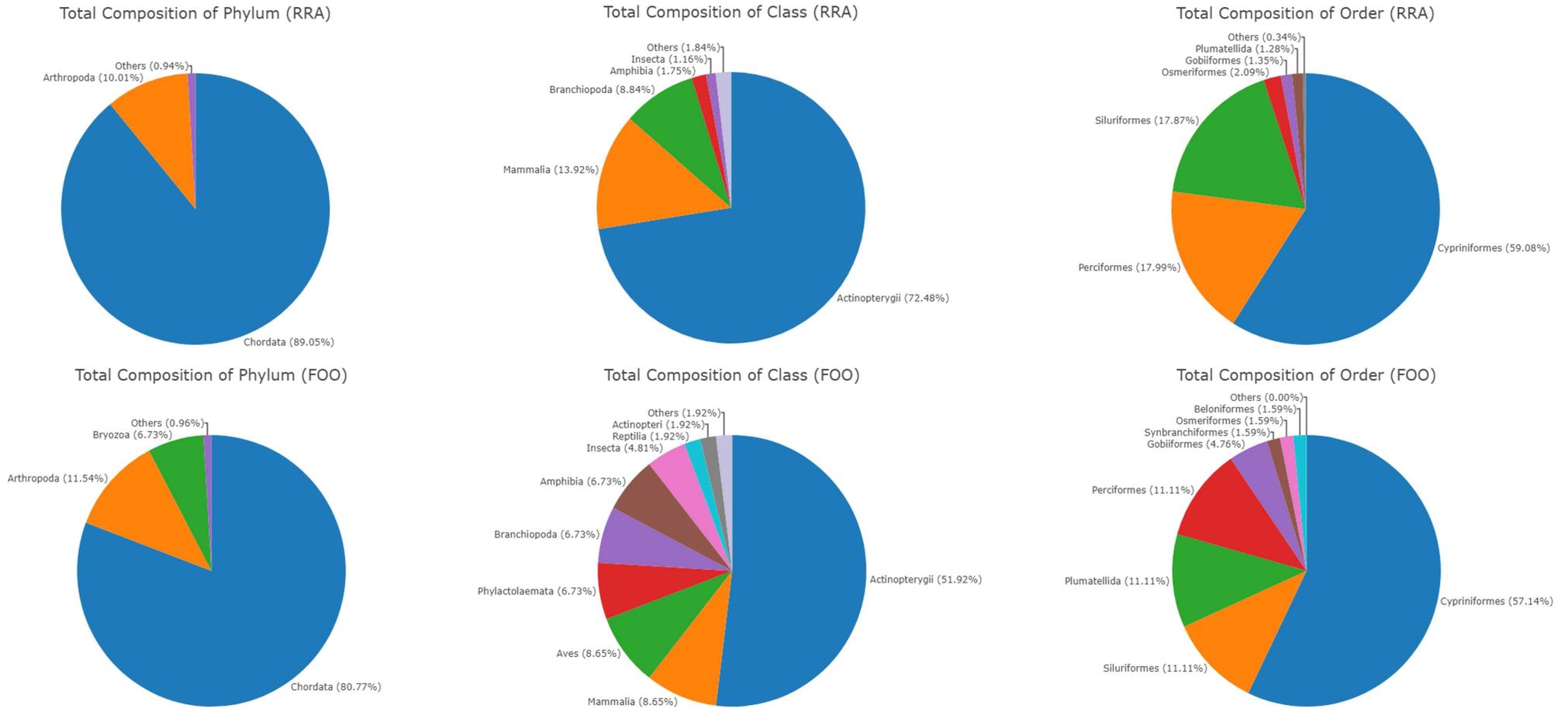


그림 33. 분번 시료 메타바코딩 분석에서 확인된 분류학적 조성(문·강·목)별 상대적 리드 풍부도(RRA)와 출현빈도(FOO) 비교

Relative Abundance of Class (FOO)

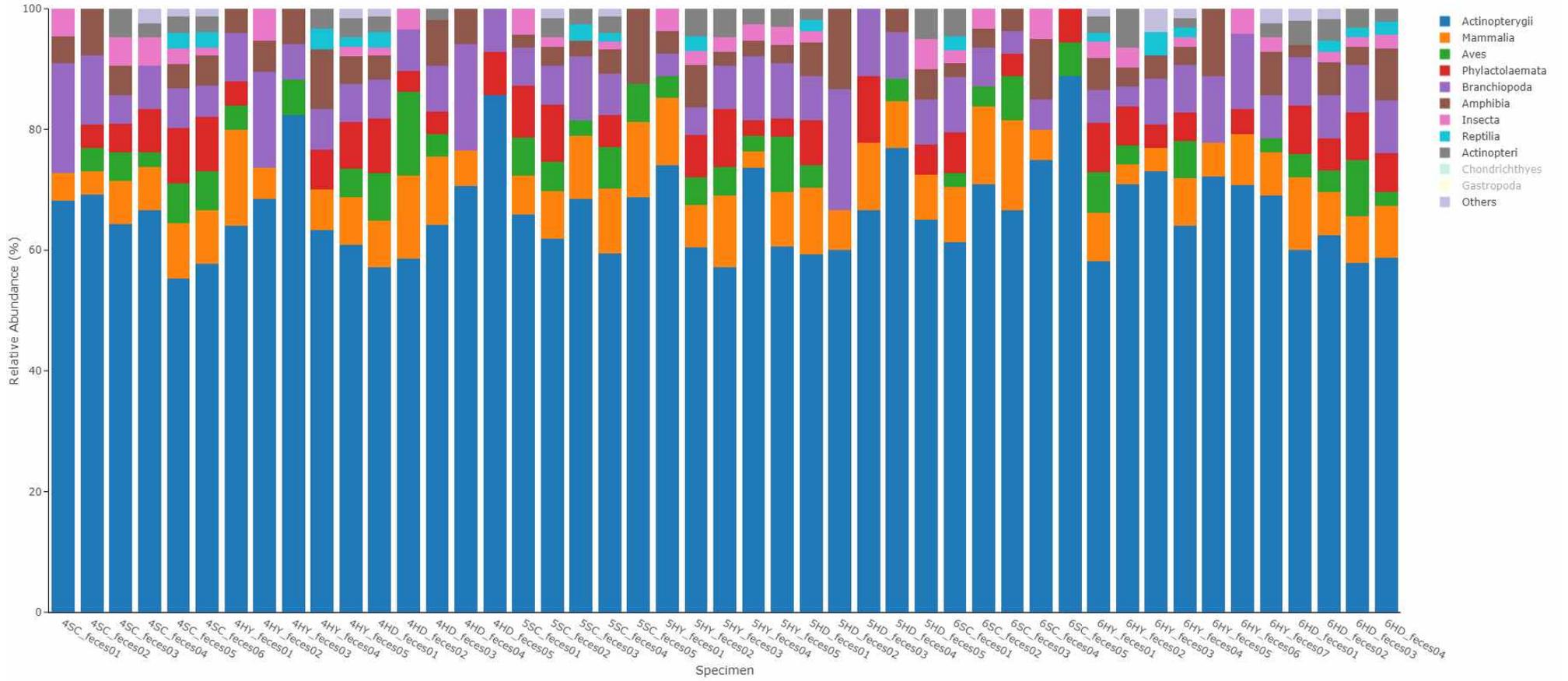


그림 34. 분변 메타바코딩 분석 결과를 강(Class) 수준에서 요약한 출현빈도(FOO) 기반 상대조성(%)의 시료별 비교

- 각 분변 시료의 제곱근 변환(square-root transform)을 적용한 뒤 Bray-Curtis 유사도(Bray-Curtis similarity) 기반 nMDS를 수행한 결과 2D stress는 0.21로 나타났음. nMDS ordination상 월(4-6월) 및 지역(HY, SC, HD) 그룹이 서로 뚜렷하게 분리되지 않고 상당 부분 중첩되었으며, 유사도 등고선(20%, 40%) 또한 특정 월 또는 지역에 의해 일관되게 구획되는 패턴을 보이지 않았음. 또한 PERMANOVA에서도 월·지역 및 상호작용 효과가 모두 유의하지 않아($p>0.05$) 월별 및 지역별로 일관된 군집 차이(구조적 분리)는 확인되지 않았음

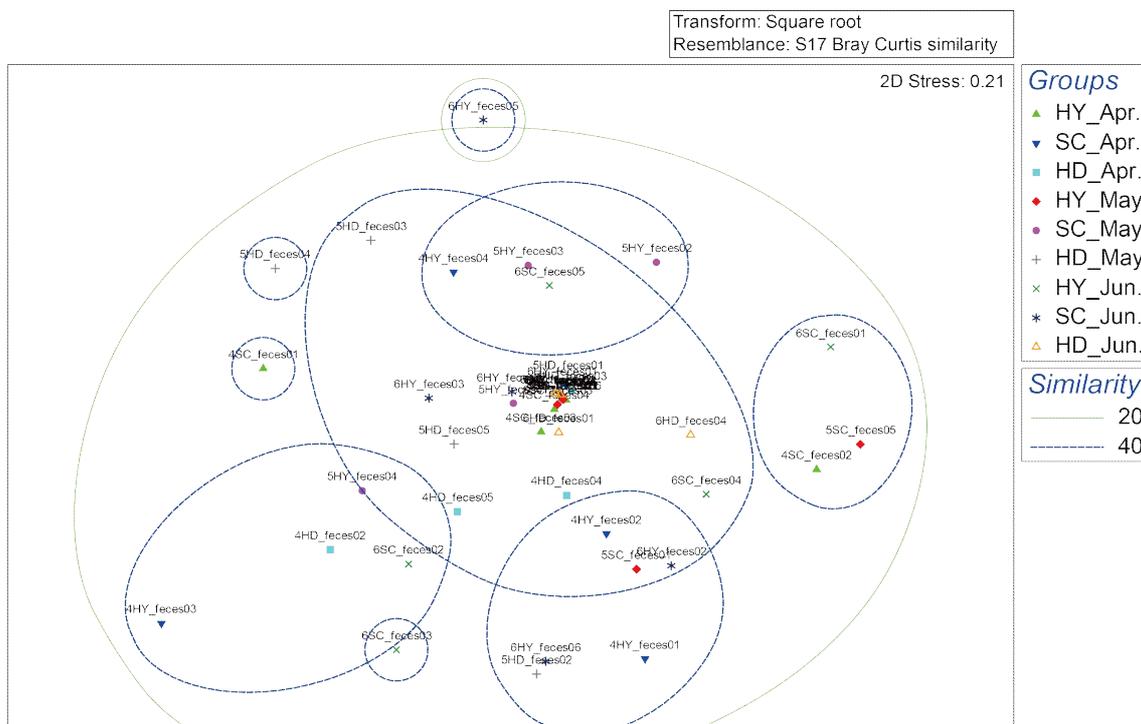


그림 35. 분변 시료의 어류 종 조성에 대해 Bray - Curtis 거리 기반 nMDS 결과

- 따라서 전체 시료를 대상으로 대표 먹이원인 담수어류 데이터만을 필터링하여 분석에 이용함
- 왜가리 분변 eDNA 시료는 46개, 하천수 eDNA 시료는 9개로 총 55개 시료를 분석한 결과 시료당 총 어류 read 수는 분변에서 $61,780 \pm 17,436$ 개(범위 30,641-109,129개), 하천수에서 $53,511 \pm 18,595$ 개(범위 8,491-68,202개)였음
- 전체적으로 담수어류 56종이 검출되었으며, 분변에서 55종, 하천수에서 53종이 검출됨. 분변과 하천수 모두에서 검출된 종은 52개였고, 분변에서만 검출된 종은 3개(꼬치동자개, 참마자, 황어), 하천수에서만

검출된 종은 1개(여울마자)였음

- 시료당 검출한 담수어류 종 수는 25.48 ± 10.91 종 (범위 9-46종), 하천수에서 31.56 ± 8.22 종 (범위 17-43종)으로 하천수에서 상대적으로 높았음
- 분변 메타바코딩 분석 결과 FOO 기준 상위 10순위 종은 순서대로 붕어(FO=1.000), 피라미(FO=1.000), 참갈겨니(FO=0.957), 돌고기(FO=0.957), 메기(FO=0.935), 가물치(FO=0.913), 동자개(FO=0.891), 미꾸리(FO=0.848), 큰납지리(FO=0.804), 꺾지(FO=0.783)로 나타났음(Table X)
 - 이 중 붕어(RRA= 0.204 ± 0.1725), 메기(0.133 ± 0.1517), 피라미(0.116 ± 0.1336)는 상대 read 비중도 높아 분변 eDNA 신호에서 기여도가 큰 분류군으로 확인됨. 또한 참갈겨니(0.063 ± 0.1005), 꺾지(0.063 ± 0.0892), 가물치(0.052 ± 0.0855), 동자개(0.044 ± 0.1104), 미꾸리(0.041 ± 0.1301), 돌고기(0.040 ± 0.0879)는 평균 RRA는 중간 수준이었음

표 12. 왜가리 분변 메타바코딩에서 검출된 출현빈도(FOO) 기준 상위 20종의 FOO 및 상대 read 풍부도(RRA)

순위	종 명	FOO (n/46)	FOO	RRA (mean±SD)
1	붕어	46/46	1.000	0.2041 ± 0.1725
2	피라미	46/46	1.000	0.1164 ± 0.1336
3	참갈겨니	44/46	0.957	0.0629 ± 0.1005
4	돌고기	44/46	0.957	0.0400 ± 0.0879
5	메기	43/46	0.935	0.1326 ± 0.1517
6	가물치	42/46	0.913	0.0520 ± 0.0855
7	동자개	41/46	0.891	0.0440 ± 0.1104
8	미꾸리	39/46	0.848	0.0410 ± 0.1301
9	큰납지리	37/46	0.804	0.0062 ± 0.0153
10	꺼지	36/46	0.783	0.0627 ± 0.0892
11	배스	35/46	0.761	0.0177 ± 0.0660
12	은어	34/46	0.739	0.0218 ± 0.0521
13	떡붕어	34/46	0.739	0.0040 ± 0.0081
14	미꾸라지	33/46	0.717	0.0062 ± 0.0309
15	긴물개	33/46	0.717	0.0061 ± 0.0201
16	잉어	31/46	0.674	0.0565 ± 0.1756
17	동사리	31/46	0.674	0.0481 ± 0.0735
18	버들치	31/46	0.674	0.0121 ± 0.0505
19	민물검정망둑	29/46	0.630	0.0057 ± 0.0140
20	자가사리	28/46	0.609	0.0025 ± 0.0061

- 종 수준에서 분변 RRA와 하천수 RRA는 유의한 양의 상관관계를 보임(Pearson $r = 0.841$, $p = 4.85 \times 10^{-16}$; Spearman $\rho = 0.753$, $p = 2.26 \times 10^{-11}$). 선형회귀식은 $y = 0.3401x + 0.0104$ 로 추정되어, 분변 RRA가 증가하더라도 하천수 RRA의 증가폭은 상대적으로 제한적인 경향이 나타남. 또한 낮은 분변 RRA에서 하천수 RRA가 상대적으로 높게 관측되는 종(잠재적 이상치)이 일부 확인됨

Correlation between feces RRA and water RRA (species-level, n=56)

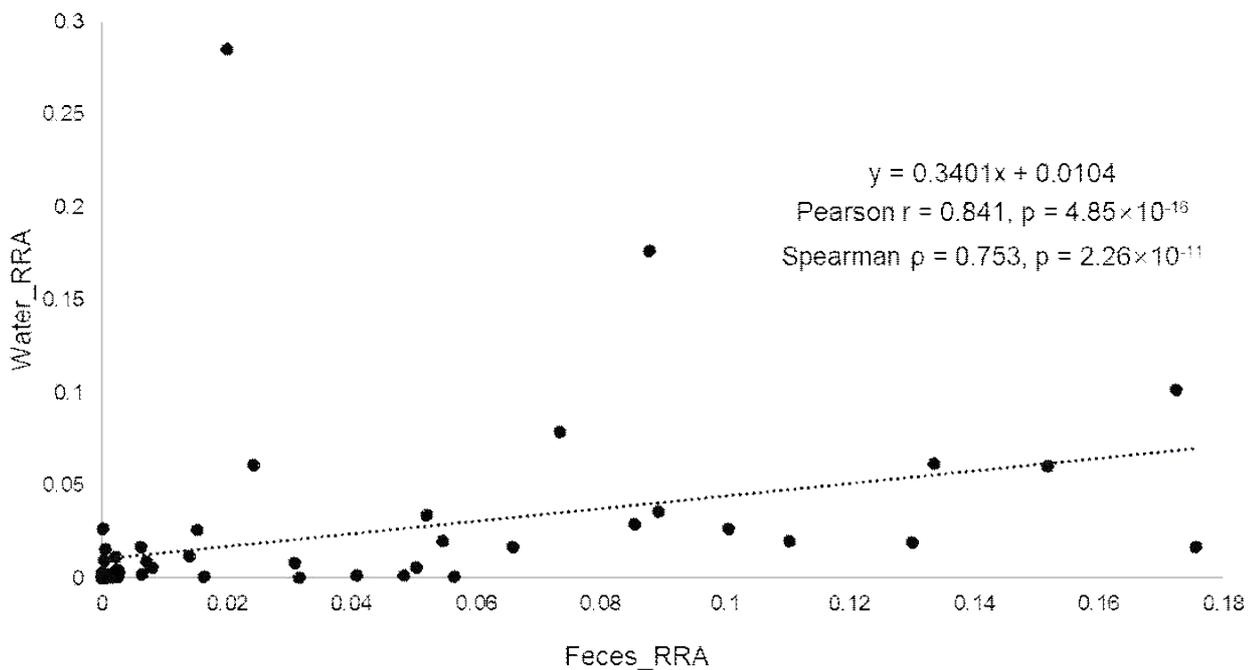


그림 36. 종 수준(species-level)에서 분변 RRA(Relative read abundance)와 하천수 RRA 간의 상관관계를 나타낸 산점도. 각 점은 개별 종을 의미한다.

- RRA는 상대적 리드 풍부도에 기반하므로, FOO에 비해 PCR/프라이머 편향, 종별 mtDNA copy number 차이, 시료 내 억제물질, 소화 과정에서의 DNA 분해 차이의 영향을 더 크게 받음. 이번 결과에서 Pearson 상관관계는 높지만(0.841) Spearman이 상대적으로 낮고(0.753), 회귀 기울기가 0.34로 1보다 크게 낮다는 점은 분변에서 상대적으로 많이 검출되는 종이 하천수에서는 상대적 비중으로 재현되지 않을 수 있음을 의미함. 즉, RRA 기반 정량 해석은 방향성은 유용하되, 풍부도 차이를 직접적으로 선형 대응시키는 해석은 적절치 않음
- 또한 하천수 RRA는 높는데 분변 RRA는 낮은 종은 포획 가능성(은신/야간활동), 포식자 선택성, 또는 조사지점 외 섭식 등 생태적

요인과 함께, 수중 eDNA의 종별 방출량·유지·확산 차이 같은 방법론적 요인이 복합적으로 작용했을 가능성을 시사함

- 종 수준에서 분변 FOO와 하천수 FOO는 매우 강한 양의 상관관계를 나타냄(Pearson $r = 0.888$, $p = 7.98 \times 10^{-20}$; Spearman $\rho = 0.887$, $p = 8.67 \times 10^{-20}$). 선형회귀식은 $y = 0.9985x + 0.1092$ 로, 기울기는 1에 근접하였고, 절편은 양(+)의 값을 보여 낮은 분변 FOO 구간에서도 하천수 FOO가 상대적으로 높게 나타나는 경향이 관찰됨

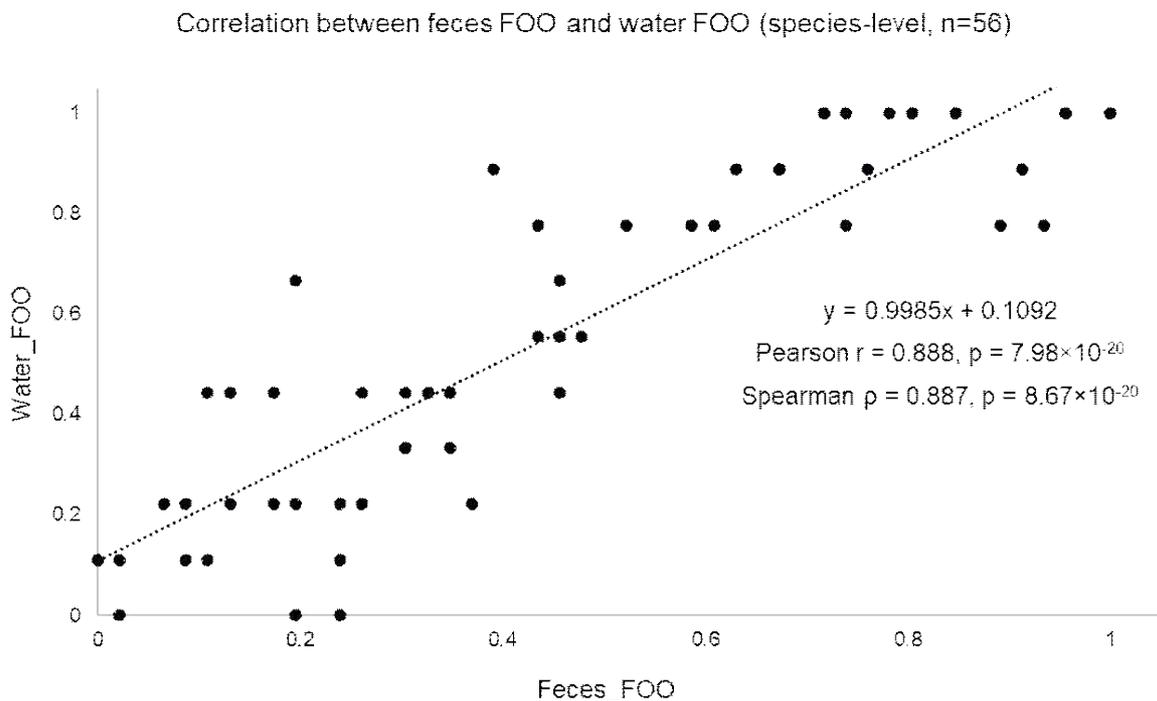


그림 37. 종 수준(species-level)에서 분변 FOO(Frequency of occurrence)와 하천수 FOO 간의 상관관계를 나타낸 산점도. 각 점은 개별 종을 의미한다.

- 반면, FOO는 검출 여부의 반복성을 요약하는 지표이므로, 분변 FOO와 하천수 FOO의 강한 상관관계는 조사 구간에서 하천수 eDNA가 반영하는 환경 가용성(존재/활동) 신호가 왜가리 분변에서 관찰되는 섭식/접촉 신호와 전반적으로 같은 방향으로 변동함을 시사함
- 즉, 조사지점에서 더 자주 검출되는 종일수록 분변에서도 검출될 가능성이 높아 최소한 조사기간 동안 포식자인 왜가리가 먹이로 이용하는 종이 지역 어류군집 신호와 일정 수준 대변하는 양상을 보임

- 멸종위기 4종(흰수마자, 얼룩새코미꾸리, 꼬치동자개, 여울마자)을 대상으로 분변과 하천수에서의 FOO 및 먹이로서의 선택성을 평가한 결과 분변 시료 46개 중 18개(39.1%)에서 멸종위기 4종 중 최소 1종이 검출되었음
- 종별로는 흰수마자는 분변 FOO가 0.239, 하천수 FOO가 0.222로 유사하였고, Ivlev electivity 지수는 0.0366으로 중립(Neutral)에 해당하였음
- 얼룩새코미꾸리는 분변 FOO가 0.174, 하천수 FOO가 0.444로 하천수 대비 분변 검출이 낮았으며, Ivlev 지수는 -0.438으로 강한 회피(Strong avoidance) 경향을 보였음
- 꼬치동자개는 분변 FOO가 0.0217이었으나 하천수에서는 검출되지 않아 Ivlev 지수는 1.000으로 강한 선택(Strong selection) 경향을 보였음
- 여울마자는 꼬치동자개와는 반대로 하천수에서만 FOO가 0.111이었으나, 분변에서는 검출되지 않아 Ivlev 지수는 -1.000으로 강한 회피(Strong avoidance) 경향을 보였음
- Strauss 선형 지수(Strauss' linear index)는 각각의 차이를 선형적으로 반영하였으며, 흰수마자는 0.0169, 얼룩새코미꾸리는 -0.2705, 꼬치동자개는 0.0217, 여울마자는 -0.1111으로 나타나 전반적으로 Ivlev 지수의 방향성과 일치하였음
- 멸종위기 4종의 분변(섭식 신호)-하천수(가용성 신호) 출현 차이는 단순한 선호/회피로 단정하기 보다는 종별 생태와 함께 종별 방출량, 서식 미소환경, 수리·혼합 조건, 거짓음성 가능성의 영향을 받을 수 있는 eDNA 검출 특성을 복합적으로 고려하는 것이 필요함(Wilcox et al., 2013; Lahoz-Monfort et al., 2016)
- 흰수마자는 분변 FOO와 하천수 FOO가 유사하고 Ivlev가 중립에 가까워, 본 조사 범위에서 하천수에서 나타나는 빈도와 섭식 빈도가 일치하는 양상을 보임. 이러한 결과는 최소한 왜가리의 번식기에 흰수마자 개체를 섭식하였음을 분명히 시사하며, 실제 분포할 가능성을 가짐에 따라 추후 포획조사가 필요할 것으로 판단됨. 다만, 육추기 왜가리의 먹이활동 이동거리는 GPS 추적 결과 평균 0.8 km(± 4.6)로 비교적 짧게 나타나지만, 개체에 따라 번식기에 0.2-137.0 km까지 장거리 이동도 보고되어 인접 수계나 다른 지역에서 섭식하고 돌아왔을 가능성을 완벽하게 배제하기는 어려움(Manikowska-Słepowrońska et al., 2025)

- 얼룩새코미꾸리는 하천수 FOO가 높았음에도 분변 FOO가 낮아 회피 지수가 산출되었음. 4~6월이 산란기인 얼룩새코미꾸리의 경우 하천수에서 검출되는 양과 확률이 상승하는 양상은 잘 반영하고 있음. 반면, 큰 돌·자갈 하부 은신과 야간 이동 등으로 인해, 주로 주간에 시각 기반으로 보행하며 포식하는 왜가리에게 탐지·포획 가능성이 상대적으로 낮아져 분변에서의 낮은 FOO로 이어졌을 가능성이 있음
- 꼬치동자개는 분변 시료에서만 희소하게 검출되고 하천수에서는 미검출되었는데, 이는 본 종이 야행성이며 주간에 수초 및 자갈을 은신처로 이용하는 생태적 특성(Yoo et al., 2024)으로 인해 eDNA가 수중에서 미소서식처 수준으로 국소화되어 공간적 이질성이 커졌을 가능성과 그 결과 채수 지점·시점에 따라 불완전 검출 및 거짓 음성(false negative)이 발생했을 가능성을 가짐(Shogren et al., 2017; Wilcox et al., 2016). 또한 eDNA는 꼬치동자개처럼 비늘이 없는 어류의 경우 비늘·피부 기원 eDNA 방출이 상대적으로 제한될 가능성이 있어, 수중 eDNA 기반 조사에서 검출률 저하에 기여할 수 있음(Dan et al., 2024; Thalinger et al., 2021)
- 여울마자는 유속이 매우 빠르고 자갈이 많은 여울 구간에 주로 서식하는 생태적 특성을 가지고 있으며(Hong et al., 2017), 분포와 개체군이 크게 제한적인 상태이기 때문에(Hong et al., 2017; Yoon et al., 2023) 왜가리 같은 보행성 포식자가 포획하기에 불리하여 실제로 먹이로서의 가용성 자체가 낮을 가능성이 높음
- 분변 eDNA와 하천수 eDNA를 비교한 결과, 왜가리의 섭식 신호는 전반적으로 하천 내 먹이 가용성 패턴을 따르는 것으로 나타났다. 즉, 하천에서 흔한 어종은 분변에서도 자주 검출되어 왜가리가 특정 종을 표적으로 삼기보다 기회적으로 이용하는 경향이 강함
- 반면 멸종위기종은 개체군 규모가 작고 분포가 국지적이어서 환경에서도 검출이 제한되며, 이러한 희귀성이 분변 자료에서도 그대로 반영되어 낮은 출현 빈도로 나타난 것으로 해석됨
- 따라서 본 연구는 멸종위기종에 대한 강한 선택적 포식보다는 희귀성에 의해 섭식 기회가 제한되는 구조를 보임. 따라서 관리 측면에서는 왜가리 개체수 자체의 단순 조절보다 멸종위기종의 핵심 서식처 보호와 은신처·미소서식처 유지, 산란기 서식지 관리와 같은 서식지 기반 대응이

더 실효적일 가능성을 제시함

3) 환경DNA를 이용한 수원청개구리 잠재서식지 발굴

- 수원청개구리 표준 플라스미드의 10^6 복제수에서는 Ct 값이 26~27로 확인
- 기존 수원청개구리 서식지 7개 지역 중 3개의 지역(충남 아산시 수장리, 경기 김포시 하성면, 충남 아산시 석정리)에서 증폭되었으며, 김포시의 경우 3개의 반복수 중 2개가 증폭했고 비서식지(경북 안동시)에서도 증폭했으나 Ct 값이 34~47로 환경유전자가 낮은 농도로 검출
- 특히, 40 이상의 Ct 값은 검출 한계(LOD)에 근접한 매우 낮은 농도 영역이며(Bustin et al., 2009) 수원청개구리의 비서식지로 확인된 지점(안동)에서도 유사한 수준의 신호가 확인됨에 따라 확실한 수원청개구리 유전자 검출로 판단하기에는 어려움
- 우선적으로 수행해야되는 사항으로 수원청개구리 환경유전자 프라이머를 활용한 표준곡선(Standard curve)을 정교하게 구축한 후 추가 검증이 필요. 이후에도 해당 시료들에서 명확한 결과가 도출되지 않을 경우, 동일 시기 내 수원청개구리 활동 및 비활동 시간대별 반복 채취를 실시하고, 한 서식지 내 채수 지점을 다양하게 하여 시료의 위음성 발생률을 낮춰 재분석 할 필요가 있음

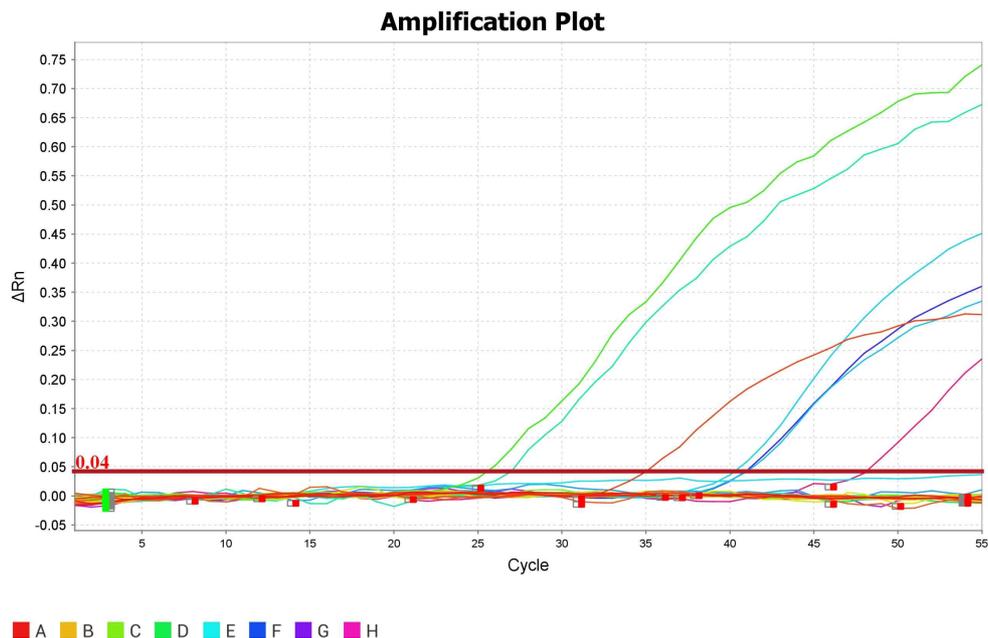


그림 38. 수원청개구리 서식 확인을 위한 환경유전자 실시간 PCR 증폭 결과. C~D: 수원청개구리 플라스미드(복제수 106)

표 13. 수원청개구리 서식 확인을 위한 채수 날짜, 지역, Ct값

번호	채수 날짜	지역	Ct 값
8	2025.05.16.	경북 안동시 임하면 금소리	40.16
11	2024.05.22	충남 아산시 수장리	34.85
12	2024.05.23.	경기 김포시 하성면	40.80, 47.91
13	2024.05.22.	충남 아산시 석정리	40.89

3) 금개구리 PIT tag 삽입, 방사 후 모니터링 강화

- 2차년도 모니터링의 경우 2025년 1월부터 12월까지 매월 1회 조사(총 12회 조사)를 수행함

- 1차(1월) 모니터링 시 동면중인 금개구리 5개체를 확인하였음
- 2차(2월) 모니터링 시 동면중인 금개구리 6개체를 확인하였음. 기존 4개체 및 신규 2개체 확인함
- 3차(3월) 모니터링 시 동면중인 금개구리 5개체를 확인하였음. 5개체 모두 기존 확인된 개체임
- 4차(4월) 모니터링 시 동면중인 금개구리 2개체를 확인하였음. 2개체 모두 기존 확인된 개체임
- 5차(5월) 모니터링 시 금개구리 16개체를 확인(측정 5, 청음 2, 목견 9)하였음. 동서종으로 참개구리 성체 15개체, 올챙이 다수를 확인하였으며, 쇠살모사 2개체, 붉은귀거북 1개체 목견하였음
- 6차(6월) 모니터링 시 금개구리 11개체를 확인(측정 5, 청음 6)하였음. 동서종으로 참개구리 성체 4개체, 올챙이 다수를 확인하였으며, 청음 3개체, 한국산개구리 4개체 목견하였음
- 6차 모니터링 이후 추가 방사 300개체 진행함
- 7차(7월) 모니터링 시 금개구리 49개체를 확인(측정 30, 목견 19)하였음. 전년도 방사개체가 F₁(자손세대)을 생산한 것이 확인되었음. 해당 지역은 2021년도에 복원사업이 시행되었으나, 2024년도에 본 복원사업의 사전조사를 수행하였을 시 금개구리가 미서식하는 것으로 조사되었기에 본 복원사업에서 방사한 개체의 F₁으로 판단됨. 동서종으로 참개구리 성체 21개체, 준성체 10개체를 확인하였으며, 청개구리 청음 30개체, 무자치 1개체 목견하였음

- 8차(8월) 모니터링 시 금개구리 65개체를 확인(측정 13, 성체 목견 7, 준성체 목견 45)하였음. 동서종으로 참개구리 성체 18개체 목견하였으며, 한국산개구리 목견 3개체, 무자치 1개체 목견하였음
 - 9차(9월) 모니터링 시 금개구리 75개체를 확인(측정 16, 성체 목견 2, 준성체 목견 57)하였음. 동서종으로 무자치 1개체 목견하였음
 - 10차(10월) 모니터링 시 모든 양서과충류 미확인됨
 - 11차(11월) 모니터링 시 동면중인 금개구리 2개체를 확인하였음
 - 12차(12월) 모니터링 시 동면중인 금개구리 2개체를 확인하였음. 2개체 모두 기존 확인된 개체임
- 2차년도 모니터링 금개구리 측정 결과 평균값은 1차(48.28±13.51mm, 17.5±12.7g, N=5), 2차(45.79±11.91mm, 14.7±10.3g, N=6), 3차(48.31±11.24mm, 18.5±11.5g, N=5), 4차(46.42±9.20mm, 12.5±6.5g, N=2), 5차(43.16±6.64mm, 8.7±4.3g, N=5), 6차(49.22±5.57mm, 12.7±5.0g, N=5), 7차(43.09±7.73mm, 8.7±4.7g, N=30), 8차(41.84±8.00mm, 8.8±5.4g, N=13), 9차(42.51±7.60mm, 8.7±4.7g, N=17), 10차(미확인), 11차(41.84±2.57mm, 9.7±2.1g, N=2) 12차(41.66±1.75mm, 9.1±0.6g, N=2)으로 나타났음
 - 25년 추가방사 이후 12mm tag과 8mm tag의 재포획율을 확인했을 경우 12mm tag이 삽입된 개체는 11.7% 재포획 되었으며, 8mm tag이 삽입된 개체는 25.0% 재포획이 되었음. 재포획율이 차이나는 이유는 다양한 변수가 있기 때문에 지속적인 데이터 누적이 필요할 것으로 판단됨. 또한 8mm tag의 경우 PIT tag reader에서 인식 거리가 12mm tag에 비해 짧기 때문에 동면지 확인 연구에서 금개구리를 찾을 때 제약이 따를 것으로 예상됨

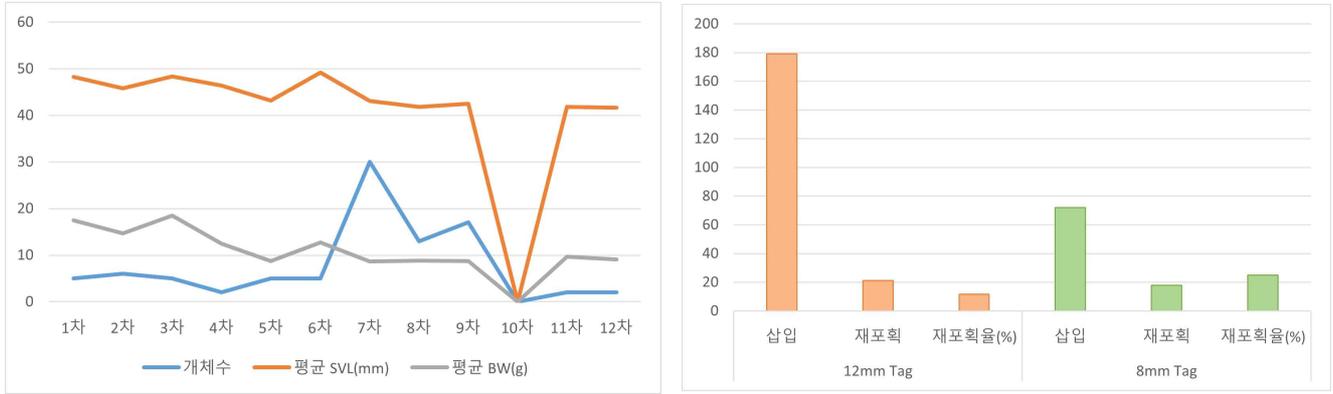


그림 39. 2차년도 금개구리 모니터링 변화 양상 및 Tag 크기별 재포획율 비교

- 금년도 추가 방사한 개체들의 동면까지 확인하였으며, 2024년 방사한 개체의 F₁개체가 확인되어 복원성공 평가지표 중 이른 지표(Early indicator)에 해당함(Baker et al., 2015). 따라서 지속적인 모니터링이 진행된다면 방사개체의 정착을 유도할 수 있을 것으로 판단됨

(3) 분류군별 복원 및 보전 전략 수립

(가) 멸종위기종 서식지 관리 전략 수립

1) 분류군별·종별 서식지 관리를 위한 관리 카드 개발

- 담수어류 서식지 관리카드 개발

- 대분류 3개 요인(환경요인, 생물변수, 인문사회학적 요인), 중분류 11개요인, 세부항목 85개 요인에 대한 현장 및 연구실 측정 항목 선정

- 수원청개구리 및 금개구리 서식지 관리카드 개발

- 서식지 특성 및 위협요인 등, 세부항목(수원청개구리: 18개 요인, 금개구리: 20요인)에 대한 현장 항목 및 연구실 측정 항목 선정

<p>환경변수</p>	<p>지점명 조사지점좌표</p> <p>수질</p> <p>대기</p> <p>하천물리</p>	<p>사진번호 Latitude Longitude 고도 조사지역 크기(제방폭*10m) DO(mg/l) pH Cond Turb BOD NH3-N NO3-N TN PO4-P TP Chla 연평균 수온(10년) 연평균 강수량(10년) 연평균 온도(10년) 하천차수 수심(5개 이상 평균) 유량 유속(5개 평균) 제방높이 제방폭 제방사이 거리 조사당시 유로폭 baseline 거리 하천형태(1. 급경사, 2. 완만; 3. 낮은; 4. 협곡; 5. 대형 종수타; 6. 비대칭 종수타) 종수타(1. 앞음; 2. 우각표; 3. 고하도; 4. 종수수로; 5. 사형퇴적지; 5. 사력퇴적지; 6. 기타) 하천교란요인 수로변형(교란)</p>
<p>인문사회적 요인</p>	<p>저서</p> <p>토지이용도 (좌안, 우안 구분)</p> <p>오염원 개수</p> <p>환경기초시설</p> <p>인공구조물</p>	<p>민감성 돌말류 상대밀도 우점종 비율 총출현종수 EPT종 비율 (%) 주어먹는무리 개체수 비율 (%) 걸러먹는 무리 및 굵어먹는 무리의 개체수 비율 (%) 깔따구류 제외한 개체수 비율 (%) 민감종 비율 (%) 내성종 비율 (%) 우점종비율 다양도지수 농경지비율 주거지 녹지 사업지 공업지 축산 양식 농업용수로 관거 하수종말처리장 폐수처리장 분뇨처리장 폐기물처리장 공공하수도 인공구조물개수(보)</p>
<p>생물변수</p>	<p>어류</p> <p>부착조류</p>	<p>제방경사도 제방 종류 조사지점 인근 구조물 하상밀도(아장침조) 하상 안정성(1. 침식; 2. 약한침식; 3. 안정; 4. 약한퇴적; 5. 퇴적) 여울빈도 프롬상태 10년내 공사현황 항후 예상 하천 공사 외래종수 외래종비율 (%) 경쟁종비율(%), 농동자개 등 주먹이원밀도(비율) Riparian zone 구성 (조사전구간, %) 수로 shading(%) 수변식생연속성(종적)(1. 없음; 2. 드뭇; 3. 일정; 4. 불연속 군집; 5. 거의 연결; 6연속) 식물고관정도(1. 심각; 2. 매우높음; 3. 높음; 4. 보통; 5. 낮음; 6. 매우낮음) 수생식물 cover(%) 사상성 조류 분포 비율 총출현종수 내성종 개체수 비율 감식성종 개체수 비율 중식종 개체수 비율 우점종 비율 여울성 저서종수 민감종수 운동성돌말류 종수 부영양성 돌말류 종수 민감성 돌말류 종수 운동성돌말류 상대밀도 부영양성 돌말류 상대밀도</p>

그림 40. 담수어류 서식지 관리카드 측정 항목

※서식지 관리카드 야장은 호주의 Ausrivas Physical Assessment Protocol (Parsons et al., 2001)을 활용하여 국내 멸종위기종의 서식처에 적합하도록 변형

지점명 조사자		날짜		Local Name Data Entered By/Date	
Survey Time (24h)		GPS Type		본 특 위 측정 피복	
시작 시간		위도		적용 피복 <20%	<input type="checkbox"/>
종료 시간		경도		30% 이상 적용 <40%	<input type="checkbox"/>
출조사 시간		장사		60% 이상 적용 <80%	<input type="checkbox"/>
모니터링을 일출 전 30분 부터 시작 End time should be exactly tree minutes after start time.				적용 피복 >80%	<input type="checkbox"/>
Weather			서식지 관찰상		
Cloud Cover	맑음	부분적으로 흐림	다부분 흐림	흐림	안개
바람 강도	0	1	2	3	4
조사 동원의 강수	없음	안개	약한 비	폭우	
지난 48시간 동안의 강수 양용		약간의 강수량		강수량 양용	
서식지 특징			서식지 관찰상		
수심 (cm)		논 크기			
수온		작형			
수질	pH	용산성 질소(NOC ₂ N)			
	전기전도도	질분			
	탁도	용존산소			
토지 이용	암모니아성 질소				
서식지 파괴	농장지 비율(%)	토양 성분	간류 농도		
	모질	중금속	중금속		
	소용 골짜기 (dB)				
	피해물(살충제, 제초제 등)				
위험준서식 여부 (은/개체수)		경장종			
종명	생태	운상제	생물사	아성제	유상
					난과
					미소서식지
					GPS 좌표
					조사 방법
					유인, 무인, 수
					촬영, 촬영 등

금개구리 서식지 관리 카드						
조사종명(국명)	금개구리	조사번호		조사일시	2022 년. 월. 일.	
조사자	책임	소속		보조	소속	
기상상황	기온		°C	날씨	<input type="checkbox"/> 맑음, <input type="checkbox"/> 흐림, <input type="checkbox"/> 비, <input type="checkbox"/> 눈	
조사지	<input type="checkbox"/> 기온 <input type="checkbox"/> 선규	개체수	(개체)	<input type="checkbox"/> 1-10 <input type="checkbox"/> 10-100 <input type="checkbox"/> 100 이상	미확인 (<input type="checkbox"/> 서식 가능 <input type="checkbox"/> 불가)	
조사지역	행정구역	동/리, 지번까지 기재			사진번호	
	위차설명	상세하게 설명 조사지 경로 및 방향 등 기재				
	경 위도 좌표값	기준	N위도(" " " ")	E경도(" " " ")		
	실측	N위도(" " " ")	E경도(" " " ")			
좌표값 취득일	<input type="checkbox"/> GPS <input type="checkbox"/> 수준법	<input type="checkbox"/> 기타()		고도	m	
서식지 특성	유형	<input type="checkbox"/> 연못 <input type="checkbox"/> 저수지 <input type="checkbox"/> 하천 <input type="checkbox"/> 농수로 <input type="checkbox"/> 기타				
	수심	가장자리:	m, 중심부:	m, 임의선정지점:	m	
	수질 특성	수온:	°C, 용존산소:	mg/L, 전기전도도:	µS/cm, pH:	염도:
	하상 재질	점토입경 0.002mm이하):	%, 미사(0.05~0.002mm):	%, 모래(2~0.05mm):	%	
	식생 유형	침수식물:	%, 부엽식물:	%, 부유식물:	%, 경수식물:	%
	식생 일도	<input type="checkbox"/> 저밀도, <input type="checkbox"/> 중밀도, <input type="checkbox"/> 고밀도				
	개방화	개방수역 면적:	m ² , 개방수역 비율:	%		
	주변 토양 종류	점토입경 0.002mm이하):	%, 미사(0.05~0.002mm):	%, 모래(2~0.05mm):	%	
	토양 특성	습도:	%, pH:			
	서식지 면적	수환경 면적:	m ² , 수변부 토양면적:	m ² , 수변부 개방 경사도:	°	
주변 사지 연결성	<input type="checkbox"/> 단절, <input type="checkbox"/> 연결성 보통, <input type="checkbox"/> 연결성 큼					
점오염원	(방경 500m) <input type="checkbox"/> 유, <input type="checkbox"/> 무 / (방경 1km) <input type="checkbox"/> 유, <input type="checkbox"/> 무					
토지이용 현황	(방경 150m) 논: % 습지: % 강: % 목초지: % 들밭: % 숲: % 기타: %					
위험요인	구분	<input type="checkbox"/> 인위적 <input type="checkbox"/> 자연적 <input type="checkbox"/> 생물적 <input type="checkbox"/> 해당사항 없음 등 해당사항				
	인위적	<input type="checkbox"/> 매립 <input type="checkbox"/> 간척 <input type="checkbox"/> 굴착/석재채취 <input type="checkbox"/> 도로(철도)건설/확장 <input type="checkbox"/> 벌채 <input type="checkbox"/> 하천/호소 구조변경 <input type="checkbox"/> 인간출입 <input type="checkbox"/> 포획/채취 <input type="checkbox"/> 수질오염 <input type="checkbox"/> 기타()				
	자연적	<input type="checkbox"/> 산불 <input type="checkbox"/> 태풍 <input type="checkbox"/> 가뭄 <input type="checkbox"/> 사태 <input type="checkbox"/> 홍수 <input type="checkbox"/> 폭설 <input type="checkbox"/> 이상기온 <input type="checkbox"/> 기타()				
	생물적	<input type="checkbox"/> 천적 <input type="checkbox"/> 경쟁 <input type="checkbox"/> 질병 <input type="checkbox"/> 외래종 <input type="checkbox"/> 기타()				
	발생 시기	<input type="checkbox"/> 과거(재발가능성 없음) <input type="checkbox"/> 과거(재발예상) <input type="checkbox"/> 현재 <input type="checkbox"/> 미래(발생 예상)				
	강도	<input type="checkbox"/> 약부 <input type="checkbox"/> 미약 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 위협 <input type="checkbox"/> 심각				
	영향	<input type="checkbox"/> 빠른 개체 감소 유발 <input type="checkbox"/> 느린 감소 유발 <input type="checkbox"/> 변동 유발 <input type="checkbox"/> 무시할 만한 수준 <input type="checkbox"/> 감소 없음				
범위	<input type="checkbox"/> 소수(10%미만) <input type="checkbox"/> 일부(10%~40%) <input type="checkbox"/> 40%~70% <input type="checkbox"/> 70%~90% <input type="checkbox"/> 전체개체군(>90%)					
미래 예측	<input type="checkbox"/> 단기 <input type="checkbox"/> 중기반복(<5년) <input type="checkbox"/> 중기지속(<5년) <input type="checkbox"/> 장기반복(>5년) <input type="checkbox"/> 장기지속(>5년)					
개발 예측	<input type="checkbox"/> 과거 5~10년 사이 <input type="checkbox"/> 과거 0~5년 사이 <input type="checkbox"/> 현재 <input type="checkbox"/> 미래 0~5년 사이 <input type="checkbox"/> 미래 5~10년 사이					

그림 42. 수원청개구리 및 금개구리 서식지 관리 카드 작성용 야장

2) 야장 및 관리카드 작성 방법

- 지점명

- (현장조사) 지점별로 기 부여한 지점명 제시(예: 흰수마자1 GN1)
- (생물측정망) 멸종위기종분포조사와 팀내에서 수행한 연구지점명을 우선적으로 적용하나, 비교 분석의 용이성 확보를 위해 생물측정망과 겹칠시에는 생물측정망 지점명 활용

- GPS좌표 및 고도

- (현장조사) 조사지점에서 GPS측정기(Garmin)를 이용하여 위, 경도 자료 기록
- (생물측정망) 멸종위기종이 출현한 지점들에 대한 위, 경도 자료를 기록

- 수질

- (현장조사) YSI를 활용하여 현장에서 측정(현장에서 측정되지 않는

- 항목의 경우 수질측정망 활용)
 - (생물측정망) 수질측정망 자료를 최대한 활용(조사지점과 가장 인접하고 있는 지점 자료 활용), 가장 최근 측정된 3회의 수질 자료 확보
- 하상구조
 - (현장조사) Wentworth(1922)의 구분에 따라 크기별 비율 작성(>256mm, 64-256mm, 2-16mm, 16-64mm, 0.06-2mm, <0.06mm), 조사정점을 기준으로 상하류 5m씩 총 10m 구간내 비율 산정
 - (생물측정망) Wentworth(1922)의 구분에 따라 크기별로 구분(>256mm, 64-256mm, 2-16mm, 16-64mm, 0.06-2mm, <0.06mm)하여 비율로 작성, 자료를 구하기 어려운 경우 비워두기
 - ※>256mm: 발크기 이상, 64-256mm: 한뼉크기, 16-64mm: 손바닥, 2-16mm: 엄지손가락, 0.06-2mm, <0.06mm
- 하천차수
 - (공통) 생물측정망의 하천 차수 자료 활용(파일제공)
- 하천수위 및 유량(장기 시계열 분석)
 - (현장조사) map.wamis.go.kr에서 수문기상->수위/유량 관측소에서 측정망 지점과 가장 인접한 지점의 정보 확보
 - (생물측정망) map.wamis.go.kr에서 수문기상->수위/유량 관측소에서 측정망 지점과 가장 인접한 지점의 정보 확보
- 유속
 - (현장조사) 휴대용 유속 측정계를 활용하여 하천의 다양한 지역을 대상으로 유속 측정(5개 지점)
 - (생물측정망) map.wamis.go.kr에서 측정망 지점과 가장 인접한 지점의 정보 확보
- 하천폭
 - (현장조사) 현장에서 조사정점을 기준으로 제방에서 반대쪽제방까지의 길이를 측정(거리측정기 사용)
 - (생물측정망) 조사지점의 항공사진 등 위성지도를 토대로 하천폭 측정
- 수로폭

- (현장조사) 현장에서 조사정점을 기준으로 물이 흐르고 있는 수로의 폭을 측정(거리측정기 사용)
- (생물측정망) 조사지점의 항공사진 등 위성지도를 토대로 수로폭 측정
- 제외지 토지이용
 - (현장조사 및 지도 활용) 제외지(하천구간)에 대한 토지 이용 번호로 표시
 - 1. 자연식생; 2. 자연+조성; 3. 경작지; 4. 공원+운동시설; 5. 불투수 포장(주차장 등)
- 제내지 토지이용
 - (현장조사 및 지도 활용) 제내지(사람이 사는 지역)에 대한 토지 이용 번호로 표시
 - 1. 자연상태; 2. 자연+조성; 3. 경작지+주거지; 4. 50%이하 시가지+주거지; 5. 시가지+주거지
- 외래종수
 - (현장조사, 생물측정망) 현장조사에서 출현한 동서종중 외래종 수
- 외래종 비율 (%)
 - (공통) 현장조사에서 출현한 외래종 비율. 외래종 개체수/총 개체수
- 경쟁종수 (먹이, 서식지 등)
 - (공통) 출현종 중 멸종위기종과 먹이원이나 서식처 경쟁이 있는 종의 수(예: 여울마자의 경쟁종, 모래주사, 돌마자 등)
- 주 먹이원 밀도 (분류군별, 종별 구분)
 - (공통) 대상종의 먹이원으로 알려진 먹이원들이 대사지점에 분포하는 비율. 현장조사의 경우 현장조사를 통해 확인된 부착조류, 저서, 식물 중 주요 먹이원의 비율 제시. 생물측정망 결과의 경우도 어류의 조사와 동일한 생물측정망 지점에서 확인된 부착조류, 저서, 식물 등에 대한 자료를 활용하여 비율 계산. 예: 여울마자의 주요 먹이원인 *Cymbella affinis* 밀도를 전체 출현 개체수에 대한 비율로 제시
- 총출현종수 (어류)
 - (공통) 지점별로 출현한 총출현종수

- 내성종 개체수 비율 (어류)
 - (공통) 수생태계 건강성 조사에 제시되어 있는 담수어류 내성도 길드에 따른 내성종의 비율 계산. 내성종 개체수/총 개체수(수환경이 부영양화 정도 파악). 수생태계 현황조사 및 건강성 평가 방법 등에 관한 지침_하천편 참조
- 잡식종 개체수 비율 (어류)
 - (공통) 수생태계 건강성 조사에 제시되어 있는 담수어류 식성 길드에 따른 잡식종의 비율 계산. 잡식종 개체수/총 개체수(수환경의 먹이원 다양성). 수생태계 현황조사 및 건강성 평가 방법 등에 관한 지침_하천편 참조
- 총식종 개체수 비율 (어류)
 - (공통) 수생태계 건강성 조사에 제시되어 있는 담수어류 식성 길드에 따른 총식종의 비율 계산. 총식종 개체수/총 개체수(수환경 수질 예측). 수생태계 현황조사 및 건강성 평가 방법 등에 관한 지침_하천편 참조
- 우점종 비율 (어류)
 - (공통) 출현종중 우점하고 있는 종의 비율. 우점종 개체수/총 개체수(종조성의 다양성 평가)
- 여울성 저서종수 비율 (어류)
 - (공통) 수생태계 건강성 조사에 제시되어 있는 여울성 저서종의 종수 비율. 여울성 저서종수/총 개체수. 수생태계 현황조사 및 건강성 평가 방법 등에 관한 지침_하천편 참조
- 민감종수 (어류)
 - (공통) 수생태계 건강성 조사에 제시되어 있는 민감종의 종수(하천의 quality평가). 수생태계 현황조사 및 건강성 평가 방법 등에 관한 지침_하천편 참조
- 운동성 돌말류 종수 및 상대밀도 (부착조류)
 - (공통) 훼손유형판단 파일에 제시되어 있는 부착조류 종별 운동성 돌말류 자료를 토대로 지점별 종수와 상대밀도(비율) 계산(운동성 돌말류의 세포밀도가 늘어나면 하천에 토양 퇴적의 증가를 의미)
- 부영양성 돌말류 종수 및 상대밀도 (부착조류)

- (공통) 훼손유형판단 파일에 제시되어 있는 부착조류 종별 부양양성 돌말류 자료를 토대로 지점별 종수와 상대밀도(비율) 계산(부영양성 돌말류의 세포밀도가 증가하면 하천의 부영양화 의미)
- 민감성 돌말류 종수 및 상대밀도 (부착조류)
 - (공통) 훼손유형판단 파일에 제시되어 있는 부착조류 종별 민감성 돌말류 자료를 토대로 지점별 종수와 상대밀도(비율) 계산(민감성 돌말류의 세포밀도가 감소하면 하천이 깨끗함을 의미)
- 우점종 비율(부착조류)
 - (공통) 출현종중 우점하고 있는 종의 비율. 우점종 개체수/총 개체수(종조성의 다양성 평가)
- 총 출현종수 (저서)
 - (공통) 지점별로 출현한 총출현종수
- EPT종 비율 (%)
 - (공통) 저서지표모음 파일에 제시되어 있는 저서종 자료를 토대로 지점별 EPT 상대밀도(비율) 계산(EPT 비율이 낮으면 상대적으로 오염이 많이 되어 있는 상태)
- 주워먹는 무리 개체수 비율 (%)
 - (공통) 저서지표모음 파일에 제시되어 있는 주워먹는 종 자료를 토대로 지점별 상대밀도(비율) 계산(주워먹는 무리의 비율이 높으면 유기물 높음)
- 걸러먹는 무리 및 굵어 먹는 무리의 개체수 비율 (%)
 - (공통) 저서지표모음 파일에 제시되어 있는 종 자료를 토대로 지점별 상대밀도(비율) 계산
- 깔따구류 제외한 개체수 비율 (%)
 - (공통) 저서지표모음 파일에 제시되어 있는 종 자료를 토대로 지점별 상대밀도(비율) 계산
- 29. 민감종 비율 (%)
 - 민감종 비율 (%)
 - (공통) 저서지표모음 파일에 제시되어 있는 종 자료를 토대로 지점별 상대밀도(비율) 계산

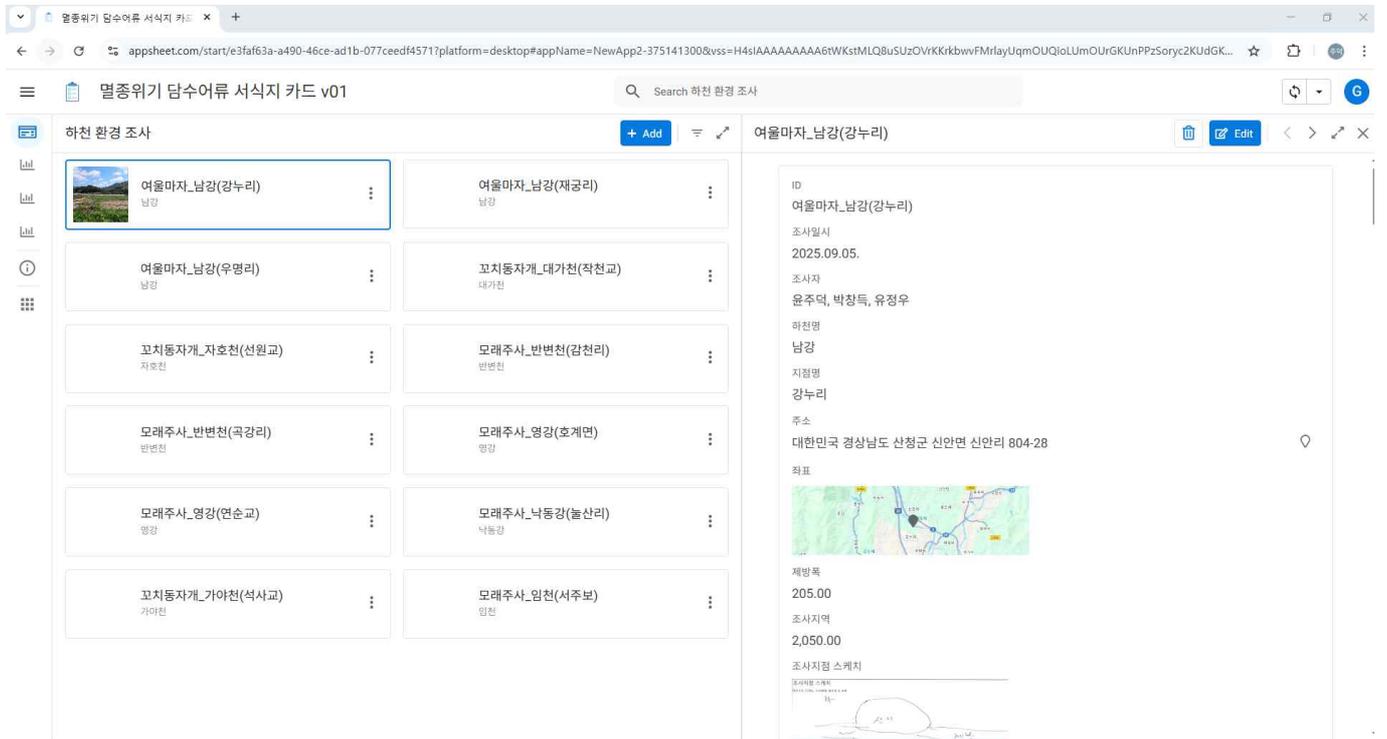
- 내성종 비율 (%)
 - (공통) 저서지표모음 파일에 제시되어 있는 종 자료를 토대로 지점별 상대밀도(비율) 계산
- 시가화건조지역, 농업지역, 산림지역, 초지, 습지, 나지, 수역
 - <https://egis.me.go.kr/map/map.do> 제공 토지피복도(대분류기준) 기준 비율
 - 물환경지리정보서비스(<http://211.114.21.35/GIS/>)에서 조사지점의 리치정보를 확인하고 해당 범위내에서 500x500m으로 토지이용 비율 산정
- 논 비율(금개구리, 수원청개구리)
 - <https://egis.me.go.kr/map/map.do> 제공 토지피복도(중분류기준) 기준 비율
- 환경기초 시설(하수처리시설, 분뇨처리시설, 축산폐수처리시설, 간이축산폐수처리시설, 산업폐수(산단, 농단)
 - WAMIS->환경생태->환경기초시설->유역별로 조사지점과 인접하고 있는 정보 추가
 - 물환경지리정보서비스(<http://211.114.21.35/GIS/>)에서 조사지점의 리치정보를 확인하고 해당 범위내의 개수 및 오염 부하량 포함
- 축산 농가 수
 - egis.me.go.kr/map/map.do에서 환경주제도->물환경->닭, 돼지, 한우 자료 확보
 - 물환경지리정보서비스(<http://211.114.21.35/GIS/>)에서 조사지점의 리치정보를 확인하고 해당 범위내의 개수 및 오염 부하량 포함
- 하천 연결성(보 및 어도)
 - 물환경지리정보서비스(<http://211.114.21.35/GIS/>)에서 조사지점의 리치정보를 확인하고 해당 리치내에 하도와 보의 개수 파악(보설치대비 어도 개수, 어도의 통과 가능 유무 평가 포함)
- 하천 유역도(Catchment)
 - 출현지점 상류, 표준유역 기준

- 사상성 조류 비율(Filamentous algae cover)
 - 출현지역의 영양염류 풍부정도 예측. 하천의 5m 정도 구역의 사상성 조류의 분포 비율 측정
 - <10%, 10-35%, 35-65%, 65-90%, >90%
- 수변식생(Riparian vegetation)
 - (생물측정망) 평가지점과 가장인접한 생물측정망 지점의 수변식생지수를 사용
- 하천 공사기록(10년)
 - 하천정보관리시스템(RIMGIS), river.go.kr/index.do에서 과거 기록 확인
- 향후 하천 공사 예정
 - 하천정보관리시스템(RIMGIS), river.go.kr/index.do에서 하천 기본 계획 확인
- 서식지 스케치
 - (현장조사) 드론을 활용하여 하천 촬영, 하천폭을 기준으로 하천폭의 10배의 구간을 촬영하거나 드론이 없을시에는 현장에서 드로잉(만약 하천폭이 10m 이면, 상류 100m, 하류 100m 총 200m 구간에 대한 스케치 필요)
- 하천 단면도
 - (현장조사) 조사 정점을 기준으로 상류, 하류를 포함한 2-3개 지점의 하천 단면도 작성. 단면도 작성시 서로 다른 형태의 서식처가 포함되도록 작성(여울, 흐름, 소 등)
- 자연적 종횡 사주
 - (공통) 흐름의 다양성을 유발하는 하도내 자연적인 구조물(사주, 하중도, 바위 등) 횡수. 지점내 암반s의 경우도 종횡 사주로 판단
- 하도의 형태
 - (공통) 하도의 형태(자연형, 사다리꼴, 사각형 등)
- 제방의 형태 및 재료
 - (현장조사) 제방의 각도 및 재료 작성(45도 이상, 이하, 콘트리트, 거석, 돌망태, 자연 등)

- 호안공의 형태 및 재료
 - (현장조사) 제방과 동일
- 하천의 형태
 - 직선, 거의 직선, 불규칙한 곡선, 일정한 곡선(물환경지리정보서비스(<http://211.114.21.35/GIS/>)에서 조사지점의 리치 내 하천의 형태 파악)
- 강수량
 - 조사지점 대상 10년강 연강 강수량 변화 시계열 자료 제시(기상청 자료 활용)

3) 서식지 관리카드 작성

- Appsheet를 활용한 자료 정리(디지털 야장)
 - 디지털 야장을 통해 입력된 자료들은 google의 appsheet와 연동되어 그림 7과 같은 형태로 출력
 - 어플리케이션 내에서도 자료의 수정이 가능하며, 각각의 자료들이 조사지점명으로 연결되어 있어 향후에도 자료 추가 가능
 - 또한 필요시 항목의 추가 또한 가능하기 때문에 활용성 높음



멸종위기 담수어류 서식지 카드 v01

Search 수로 단면도 및 수치 측정

연결된 ID	단면도 ID	단면도 호를 형태	단면도 스케치	좌안 제방 높이	좌안 제방 폭	좌안 수표면과 침수선사이 ...	우안 제방 높이	우안 제방 폭	우안 수표면과 침수선사이 ...	하천 침수선 사이 넓이	제방사이 넓
여울마자_남강(강누리)	1	흐름		8.00	29.00	7.40	11.00	40.20	7.40	135.80	205.00
여울마자_남강(강누리)	2	여울		11.20	2.00	7.40	11.20	4.20	7.40	177.80	220.00
여울마자_남강(재궁리)	3	여울					3.00	3.60	2.30		192.00
여울마자_남강(재궁리)	4	여울		6.20	21.00	2.10	4.00	15.00	2.10	140.00	176.00
여울마자_남강(우명리)	5	흐름		3.40	24.00	80.00	4.50	8.80	80.00		
여울마자_남강(우명리)	6	여울		5.40	7.10	1.30	5.40	7.10	1.30	155.00	
꼬치동자개_대가천(작천교)	7	여울		6.00	14.60	2.70	6.00	128.00	2.70	162.00	173.00
꼬치동자개_대가천(작천교)	8	흐름		3.60	16.20	3.00	8.40	2.00	3.00	94.00	370.00
꼬치동자개_자호천(선원교)	9	흐름		3.60	11.40	1.00	3.60	11.40	1.00	99.20	122.00
꼬치동자개_자호천(선원교)	10	흐름		3.40	20.60	9.40				187.00	217.00
모래주사_반변천(감천리)	11	흐름				1.10	3.30	44.00	1.10		
모래주사_반변천(감천리)	12	여울		1.90	65.80	1.50	2.50	12.20	1.50		158.00
모래주사_반변천(곡강리)	13	여울							1.80		
모래주사_반변천(곡강리)	14	흐름		3.60	132.00		12.30		1.60		
모래주사_영강(호계면)	15	여울		8.40	19.00	3.20	10.00	22.80	3.20		158.00
모래주사_영강(연순교)	16	여울		2.50		1.10	2.50	33.40	1.10	183.00	226.00
모래주사_영강(연순교)	17	흐름		4.00	31.80	0.80	5.20	75.00	0.80		
모래주사_낙동강(눌산리)	18	여울				11.40				101.00	117.00

그림 43. 디지털 야장을 통해 작성된 서식지 현장조사 결과 DB

- 서식지 관리카드

- 꼬치동자개, 모래주사, 여울마자 3종에 대해서 현재 서식하고 있는 것으로 확인되는 12개 지점의 서식지 관리카드를 작성하였음(여울마자 3지점, 꼬치동자개 4지점, 모래주사 5지점)

- 각 지점별로 드론을 활용하여 3D모델을 중심으로 단면도, 토지이용, 수질자료, 교란요인을 배치하여 지점별로 한눈에 비교가 가능하도록 작성



그림 44. 모래주사 서식지 관리 카드(영강, 문경시 호계면)



그림 45. 모래주사 서식지 관리 카드(낙동강, 봉화군 법전면)

- 현재 서식지 관리카드는 현장조사는 완료된 상태이며 현재 3D 모델링과 내부자료 입력과정에 있으며, 공사현황에 대한 사항은 각 지자체와 지방, 유역청과 자료 협조 단계에 있음
- 현재까지 진행된 지점들의 서식지 관리카드 작성이 완료되고 나면 1차적으로 자료 작성 quality에 대한 평가 진행 후 개선 방안 도출

- 추후 연구에서 전문가 자문을 통한 서식지 관리카드 작성 방법 및 내용에 대한 검증 실시 예정



그림 46. 모래주사 서식지 관리 카드(임천, 함양군 휴천면)

- 양서류 서식지 관리 카드 작성 결과

- 수원청개구리 6개 지점, 금개구리 6개 지점(1개 지점은 동서하는 서식지)으로 총 11개 지점의 서식지 관리 카드를 작성하였음
- 각 지점별로 드론을 활용하여 서식지 영상을 확보하였으며, 지속적인 조사를 통하여 서식지 변화과악을 통한 서식지 훼손 여부를 확인할 수 있음. 또한 훼손시 과거 서식지 형태를 확인할 수 있어 서식지 복원에 중요한 자료로 활용할 수 있음



그림 47. 수원청개구리, 금개구리 서식지 드론 전경사진

나. 연구목표 달성

구분	달성률(%)	주요내용
모래주사 먹이원 파악		- 먹이자원 구성 규명 - 돌말류와 녹조류가 주요 먹이원
비바리뱀 서식 실태 및 생태적 특성 연구		- 비바리뱀 및 대륙유혈목이 서식 환경 특성 분석(계속) - 대륙유혈목이 먹이자원 구성 규명
꼬치동자개의 훼손 원인 파악		- 개체군 감소 및 서식지 질 저하 유발하는 원인(서식처 단순화, 연결성 저하 등) 진단
모래주사 인공증식 매뉴얼 작성		- 작성 및 배포 완료
우리나라 청개구리류 원종 동정 기술 개발		- 해상력 보강된 분자마커 설계 필요
우리나라 청개구리류 종별 골격 비교를 위한 시범 분석		- 향후 본격 분석 예정
수원청개구리 생태적 지위 모델 개발을 통한 서식지 관리 방안 모색		- 기후변화에 따른 서식 적합성 높은 지역(경기도, 충청남도) 선정 완료 - 미래 서식지 적합성 변화 예측 기반 마련
남생이 서식 환경 분석 및 기후 변화로 인한 미래의 서식지 변화 예측		- 중요 서식지 적합성 환경 변수(경사도, 고도 등) 도출 완료 - 향후 기후변화 시나리오 적용을 위한 과학적 기준선 마련
환경DNA를 이용한 유해조수와 멸종위기 담수어류의 연관성 파악		- 왜가리의 먹이 이용 경향 평가를 통해 잠재 영향(먹이 가용성) 파악 완료 - 유해조수 대응 전략(서식처의 구조적 다양성 확보) 제시
환경DNA를 이용한 수원청개구리 잠재서식지 발굴		- 프라이머 제작을 통한 표준곡선 정교화 필요
금개구리 PIT tag 삽입, 방사 후 모니터링 강화		- 개체군 보강을 통해 복원 성공 확인 - 지속적인 모니터링 실시
서식지 관리카드 작성		- 서식지 관리카드 작성 방법 개발 및 시범 적용

다. 성과목표 달성

구분	정책활용		논문실적		산업재산권			교육전시콘텐츠	
	제정	개정	국내 논문	Scopus, SCI-E이상	출원	등록	기술이전	개발	보급
목표			2	1	1				
실적			5	5	1	2		9	

(1) 정책 활용

- (가) 여울마자, 흰수마자, 큰줄납자루, 모래주사, 금개구리 증식(5건) 및 여울마자 동결 정액 제조, 수원청개구리 원종 확인, 남생이 모니터링 매뉴얼 개발(3건)을 통한 멸종위기 야생생물의 인공증식에 관한 규정 개선 자료 제공
- (나) 훼손평가, 서식지 관리, 잠재분포 파악 등 멸종위기종 효율적 복원에 따른 환경부 야생생물 보호 기본계획 정책 지원

(2) 논문실적: KCI 5편 및 SCIE 5편 게재(참고자료 1, 2, 3)

#	제목	저자	게재일	비고
1	Environmental DNA to track endangered <i>Gobiobotia naktongensis</i> : Assessment of distribution and habitat requirements	윤주덕(교신), 김근식(교신), 유정우(공동)	'25.01.10.	SCIE
2	International Trends in the Application of Environmental DNA Methods to National Aquatic Ecosystem Monitoring Programs and Challenges for Domestic Implementation	윤주덕(교신)	'25.02.01.	KCI
3	First Complete Mitochondrial Genome Analysis of Tree Frog, <i>Dryophytes flaviventris</i> and Comparison with <i>Dryophytes suweonensis</i>	유나경(주), 윤주덕(교신), 김근식(교신)	'25.03.07.	SCIE
4	국내 호소에서 환경유전자를 활용한 어류 다양성 평가	윤주덕(공동), 김근식(공동)	'25.07.04.	KCI
5	Assessing Freshwater Zooplankton Diversity in Lakes Using eDNA Metabarcoding: Comparison of Zooplankton eDNA Sampling and Analysis Methods	윤주덕(공동), 김근식(공동)	'25.07.04.	KCI
6	Genetic Diversity and Structure for Conservation Genetics of Goldeye Rockfish <i>Sebastes thompsoni</i> (Jordan and Hubbs, 1925) in South Korea	김근식(주)	'25.11.06.	SCIE
7	Dietary Composition of the Japanese Striped Snake (<i>Hebius vibakari</i>) in Jeju Island Revealed by Fecal DNA Metabarcoding	유정우(주), 윤주덕(교신), 김근식(교신), 권관익(공동), 박창득(공동), 유나경(공동)	'25.12.15.	KCI
8	Assessing the hibernation ecology of the endangered amphibian, <i>Pelophylax chosonicus</i> using PIT tagging	권관익(주), 윤주덕(교신),	'25.12.17.	SCIE

	method	김근식(공동), 박창득(공동), 유정우(공동), 유나경(공동)		
9	Assessing Genetic Diversity and Population Structure of the Endangered Freshwater Fish <i>Gobiobotia brevivirgata</i> for Conservation Genetics in Korea	김근식(주)	'25.12.20.	SCIE
10	Homing ability of the Endangered Reeves' Turtle (<i>Mauremys reevesii</i>) in Agricultural Reservoirs, South Korea	박창득(주), 윤주덕(교신), 권관익(공동), 유정우(공동)	'25.12.21.	KCI

(3) 산업재산권

(가) 특허등록(2건) 및 출원(1건): (참고자료 4)

- 모래주사 종 식별용 PCR 프라이머 세트와 프로브 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법(등록번호 1028065110000)
- 꾸구리 종 식별용 PCR 프라이머 세트와 프로브 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법(등록번호 1028065130000)
- 은신 습성을 이용한 뱀 포획장치(출원번호 10-2025-0161139)

(4) 교육·전시·콘텐츠: 1건

- (가) ‘자연의 색을 담은 하천의 공작 물길에 수놓은 큰줄납자루 혼인색의 비밀’ 교육 콘텐츠 제작

라. 결과의 우수성

(1) 실질적인 성과:

- (가) SCIE 논문 5건, KCI 논문 5건 게재 및 특허 등록 2건, 출원 1건을 통해 학술적 성과를 달성하고, 원천기술 확보 및 기술 확장성을 증대시켰음
- (나) 연구 결과의 기술적 확장성을 바탕으로 중소기업의 연구개발(R&D) 지원을 위한 기술이전 기반을 마련하고, 향후 기업과의 협력 가능성을 제고했음

(2) 실효성 있는 복원 연구

- (가) 메타바코딩(먹이원·먹이망 분석), eDNA 기반 상호작용 평가(유해조수 - 어류),

종분포모델 및 출현 - 비출현 기반 서식지 적합성 분석을 통합 적용하여 서식지 결정요인을 정량화하고 예측 기반을 구축함

(나) 증식·방사(방류) 및 사후 모니터링을 수행하고, 증식 매뉴얼 8건과 현장 관리 도구(서식지 관리 카드, 디지털 야장)를 구축하여 현장 적용성과 지속 가능성을 강화함

(3) 정책적, 사회적 기여:

(가) 서식지 관리 카드와 복원·관리 가이드라인을 통해 조사 - 평가 - 개선 - 모니터링으로 이어지는 표준 운영체계를 제시하고, 정책 활용 가능성을 제고함

(나) 데이터 기반 근거를 바탕으로 우선관리지역 설정, 관리 우선순위 도출, 방사(방류) 적지 판단 등 행정·정책 의사결정을 지원할 수 있는 기반을 제공함

4. 연구 활용

가. 정책적 기여

- (1) 「멸종위기 야생생물 보전 종합계획(18~27년)」 및 「제4차 야생생물 보호 기본계획(21~25년)」에 따른 멸종위기종 보전 및 복원 이행력 강화를 위한 과학적 근거를 제공함
- (2) 멸종위기종의 효율적 복원을 위한 환경부의 야생생물 보호 기본계획 정책 지원에 기여, 실효성 있는 복원 및 관리 전략을 제시함
- (3) 멸종위기종 증식 및 복원 현실화를 위해 「멸종위기 야생생물의 인공증식에 관한 규정(환경부예규 제621호)」 개선을 위한 데이터 기반 및 과학적 근거를 제공함

나. 생태환경적 기여

- (1) 멸종위기 담수어류 및 양서·파충류가 서식할 수 있는 적합한 생태 환경을 조성하는 데 기여
- (2) 유전적 다양성 증진을 통해 복원 대상 종이 근친교배 및 유전적 다양성 감소로 인한 절멸 소용돌이(extinction vortex) 단계에 진입하는 것을 방지
- (3) 환경변화에 따른 멸종위기종 개체군과 군집 구조 및 기능 변화에 대한 과학적 정보를 제공하여 향후 복원 및 관리 전략 수립에 기여

다. 기술적 기여

- (1) 멸종위기종 등급 관리에 필요한 체계적이고 과학적 기준을 마련하는 데 기여하여 생태정보 제공
- (2) 멸종위기종 원종 및 교잡종 식별 마커 개발을 통해 고유종의 유전자원 및 지적재산권을 확보
- (3) 환경DNA 등 미량 유전자 검출 기술을 확보하여 멸종위기 담수어류 및 양서·파충류 서식 실태 조사 및 분석 기술 발전에 기여
- (4) 멸종위기 담수어류 및 양서·파충류 증식 관련 기술 확보를 통해 효율적인 증식·복원 방안을 제시

라. 사회적 기여

- (1) 멸종위기 담수어류 및 양서·파충류의 복원을 통해 생물다양성 및 생태계 건강성 회복에 기여
- (2) 복원대상종의 유전적 다양성 관리로 건강성을 확보하고, 지역 생태계에 긍정적인 영향을 미침.
- (3) 생태계 건강성 회복을 통해 생태계 서비스 기능을 확대하고, 삶의 질 향상에 기여
- (4) 멸종위기종 복원 효과를 홍보하여 대국민의 멸종위기종 보호 및 자연환경 보호에 대한 인식을 제고함

마. 경제적 기여

- (1) 고유 생물 자원 확보 기술 개발과 지적 재산권 확보를 통해 생물 주권을 강화하고, 경제적 가치를 창출
- (2) 실효성 있는 복원 계획 수립과 복원 기술 개발을 통해 예산 집행 효율성을 높이며, 관련 산업 발전에 기여

바. 과학학문적 기여

- (1) 멸종위기종 생물자원 확보를 통해 증식·복원 연구의 기초를 마련하며, 관련 학문 분야 발전에 기여
- (2) 멸종위기종 유전자 마커 개발을 통해 생태학적 연구와 유전학적 연구 기술 향상에 기여
- (3) 유전자 연구를 통한 국제적 학술지(SCIE) 논문 게재로 연구 성과의 국제적 확산에 기여

사. 교육적 기여

- (1) 멸종위기종 증식·복원을 통해 생명의 중요성에 대한 인식을 제고하며, 생태 보전 교육에 기여
- (2) 생물의 유기성, 상호연결성 등 생태계와 공존에 대한 인식을 확산
- (3) 멸종위기종 보전·복원 분야에서 생태·유전자 연구를 주제로 교육을 제공할 수 있는 기회를 마련
- (4) 미량 유전자 분석 기술 확보를 통한 유전기술 교육 활용 및 차세대 연구자 양성

5. 참고문헌

- Araújo, M. B., & New, M. (2007). Ensemble forecasting of species distributions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(1), 42–47.
- Baker, J. M. R., & Foster, J. (2015). Pool Frog Reintroduction Plan for Thompson Common, Norfolk (Version: 20 March 2015). Unpublished report. Amphibian and Reptile Conservation, Bournemouth.
- Becker, F. S., Tolley, K. A., Measey, G. J., & Altwegg, R. (2018). Extreme climate-induced life-history plasticity in an amphibian. *The American Naturalist*, 191, 250–258.
- Borzée, A., Kyong, C. N., Kil, H. K., & Jang, Y. (2018). Impact of water quality on the occurrence of two endangered Korean anurans: *Dryophytes suweonensis* and *Pelophylax chosenicus*. *Herpetologica*, 74(1), 1–7.
- Breiman, L. (2001). Random forests. *Machine Learning*, 45(1), 5–32.
- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., et al. (2009). The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., & Gu, J. (2018). fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 34(17), i884–i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
- Cheon, S. J. (2025). Study for habitat restoration of *Mauremys reevesii* in Korea (Ph.D. dissertation). Chonnam National University, Gwangju.
- Clarke, K. R., & Gorley, R. N. (2015). PRIMER v7: User manual/tutorial. PRIMER-e, Auckland, New Zealand.
- Dan, M. E., Portner, E. J., Bowman, J. S., Semmens, B. X., Owens, S. M., Greenwald, S. M., & Choy, C. A. (2024). Using low volume eDNA methods to sample pelagic marine animal assemblages. *PLOS ONE*, 19(5), e0303263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303263>
- Deagle, B. E., Thomas, A. C., McInnes, J. C., Clarke, L. J., Vesterinen, E. J., Clare,

- E. L., Kartzinel, T. R., & Eveson, J. P. (2019). Counting with DNA in metabarcoding studies: How should we convert sequence reads to dietary data? *Molecular Ecology*, 28(2), 391–406. <https://doi.org/10.1111/mec.14734>
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460–2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>
- Guisan, A., & Thuiller, W. (2005). Predicting species distribution: Offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, 8(9), 993–1009.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), Article 4.
- Hong, Y. K., Sung, H. C., Ko, M. H., Kim, K. S., & Bang, I. C. (2017). Distribution status and habitat characteristics of the endangered freshwater fish, *Microphysogobio rapidus* (Cyprinidae). *Animal Cells and Systems*, 21(4), 286–293.
- IPCC. (2021). *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
- Koo, K. S., & Choe, M. (2021). Distribution change of invasive American bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) by future climate threaten endangered Suweon treefrog (*Hyla suweonensis*) in South Korea. *Animals*, 11(10), 2865.
- Lahoz-Monfort, J. J., Guillerá-Arroita, G., & Tingley, R. (2016). Statistical approaches to account for false-positive errors in environmental DNA samples. *Methods in Ecology and Evolution*, 16(3), 673–685. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12486>
- Li, Y., Cohen, J. M., & Rohr, J. R. (2013). Review and synthesis of the effects of climate change on amphibians. *Integrative Zoology*, 8(2), 145–161.
- Manikowska-Ślepowrońska, B., Cieślińska, K., Ślepowroński, K., Siekiera, J., Goc, M., Iliszko, L. M., & Jakubas, D. (2025). Habitat selectivity during the annual life cycle of the grey heron *Ardea cinerea* revealed by GPS-tracking. *Animal Biotelemetry*, 13, 41. <https://doi.org/10.1186/s40317-025-00436-y>

- McCullagh, P., & Nelder, J. A. (1989). Generalized linear models (2nd ed.). Chapman and Hall.
- Nakanishi, K., et al. (2025). Experimental test of the effects of prolonged flooding practices on animal communities in rice paddy fields. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 379, 109369.
- National Institute of Ecology (NIE). (2020). Conservation research on the population trends and factor analyses in endangered species. National Institute of Ecology.
- National Institute of Ecology (NIE). (2021). Conservation research on the population trends and factor analyses in endangered species. National Institute of Ecology.
- National Institute of Ecology (NIE). (2022). Conservation research on the population trends and factor analyses in endangered species. National Institute of Ecology.
- O' Donnell, J. L., Kelly, R. P., Shelton, A. O., Samhuri, J. F., Lowell, N. C., & Williams, G. D. (2017). Spatial distribution of environmental DNA in a nearshore marine habitat. *PeerJ*, 5, e3044. <https://doi.org/10.7717/peerj.3044>
- Paluh, D. J., Stanley, E. L., & Blackburn, D. C. (2020). Evolution of hyperossification expands skull diversity in frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(15), 8554–8562.
- Park, C. D. (2025). Spatial habitat use and maternal lineage identification in the endangered Reeves' turtle (*Mauremys reevesii*) (Ph.D. dissertation). Seoul National University, Seoul.
- Park, C. D., Yoo, J. W., Kwon, K., Yoo, N., Heo, M., & Yoon, J. (2023). Habitat suitability model of endangered wildlife class II *Mauremys reevesii* in Gurye-gun, the Republic of Korea. *Journal of Environmental Impact Assessment*, 32(2), 83–93.
- Parsons, M., Thoms, M., & Norris, R. (2002). Australian River Assessment System (AusRivAS) Physical Assessment Protocol. Monitoring River Health Initiative Technical Report No. 22. Commonwealth of Australia and

University of Canberra, Canberra.

- Shogren, A. J., Tank, J. L., Andruszkiewicz, E., Olds, B., Mahon, A. R., Jerde, C. L., & Bolster, D. (2017). Controls on eDNA movement in streams: Transport, retention, and resuspension. *Scientific Reports*, 7(1), 5065. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05223-1>
- Strauss, R. E. (1979). Reliability estimates for Ivlev's electivity index, the forage ratio, and a proposed linear index of food selection. *Transactions of the American Fisheries Society*, 108(4), 344-352. <https://doi.org/10.1577/1548-8659>
- Takahashi, S., Takada, S., Yamanaka, H., Masuda, R., & Kasai, A. (2021). Intraspecific genetic variability and diurnal activity affect environmental DNA detection in Japanese eel. *PLOS ONE*, 16(9), e0255576. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255576>
- Thalinger, B., Rieder, A., Teuffenbach, A., Pütz, Y., Schwerte, T., Wanzenböck, J., & Traugott, M. (2021). The effect of activity, energy use, and species identity on environmental DNA shedding of freshwater fish. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 623718. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.623718>
- tpsDig2. (2021). tpsDig2 (Version 2.32). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Wilcox, T. M., McKelvey, K. S., Young, M. K., Jane, S. F., Lowe, W. H., Whiteley, A. R., & Schwartz, M. K. (2013). Robust detection of rare species using environmental DNA: The importance of primer specificity. *PLOS ONE*, 8(3), e59520. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059520>
- Yoo, J., Kim, K., Kwon, K., Park, C., Park, J., Kang, D., Kim, J., & Yoon, J. (2024). Movements and home ranges of an endangered freshwater fish, *Pseudobagrus brevicorpus*, and the impact of river management. *Water*, 16(23), 3440. <https://doi.org/10.3390/w16233440>
- Yoo, N., Yoon, J. D., Yoo, J., Kim, K. Y., Heo, J. S., & Kim, K. S. (2024). Development of molecular identification methods for *Dryophytes suweonensis* and *D. japonicus*, and their hybrids. *PeerJ*, 12, e16728.
- Yoon, J. D., Kim, K. S., Park, C. D., Kang, D. W., Lee, H. H., Lim, C. H., & Kim,

N. S. (2023). Identifying degradation causes of endangered freshwater fish, *Microphysogobio rapidus* using habitat–environmental characteristics. Korean Journal of Ecology and Environment, 56(3), 229–241.
<https://doi.org/10.11614/KSL.2023.56.3.229>

KJEE 58(2): 273-286 (2025)
https://doi.org/10.11614/KSL.2025.58.2.273
ISSN: 2288-1123 (Online)



Original article

Assessing Freshwater Zooplankton Diversity in Lakes Using eDNA Metabarcoding: Comparison of Zooplankton eDNA Sampling and Analysis Methods

Yarim Choi*, Keonhee Kim*, Keun-Sik Kim*, Ju-Duk Yoon*, Daeh-Hee Lee*, Geun-Hyeok Hong*, Min-Ho Jang*, Kwang-Hyeon Chang*, Hye-Ji Oh*

Department of Environmental Science and Engineering, Kwangju University, Yongju 17104, Republic of Korea
Human and Eco Care Center, College of Smart-Arch Life Science, Konkuk University, Seoul 05202, Republic of Korea
Research Center for Endangered Species, National Institute of Ecology, Yeonggyang 36531, Republic of Korea
Department of Biology Education, Kongju National University, Gongju 32588, Republic of Korea

Abstract Environmental DNA (eDNA) analysis has emerged as a powerful tool for biodiversity monitoring due to its efficiency, standardization potential, and cost-effectiveness. We evaluated the applicability of eDNA-based zooplankton monitoring in Korean lakes by comparing three DNA methods—eDNA, DNA, and eDNA—with traditional microscopy. Sampling was conducted in six lakes with varying conditions. eDNA was obtained from lake water, iDNA from unpreserved zooplankton incubated in water, and eDNA from zooplankton incubated in ethanol. DNA metabarcoding detected more taxa than microscopy, but dominant taxa overlapped, mainly Daphnia. While DNA methods showed higher richness, Simpson and Shannon indices were higher in microscopy, reflecting differences in quantification methods. These discrepancies reflect methodological differences in how taxa are quantified and suggest that DNA-based approaches may overrepresent certain groups in richness estimates. In addition, false negatives were observed for several common rotifer species (e.g., Keratella, Polyarthra), likely due to incomplete reference databases and high intraspecific genetic diversity. Conversely, some taxa detected only by DNA—particularly small-bodied or rare crustaceans—may represent false positives relative to microscopy. These findings emphasize the importance of improving reference libraries and interpreting DNA results with caution, while also supporting the utility of DNA-based methods as complementary tools in zooplankton monitoring and national biodiversity assessments.

Key words: freshwater zooplankton eDNA, ethanol DNA analysis, eDNA-based community index, biomass comparison, species richness, Cyclop, Keratella, Polyarthra

Manuscript received 5 June 2025, revised 16 June 2025,
revision accepted 16 June 2025.
* Co-corresponding author: Tel: +82-31-201-3399,
E-mail: ychoi24@konkuk.ac.kr
Tel: +82-31-200-2977, E-mail: chang58@knu.ac.kr
Tel: +82-31-201-2977, E-mail: ohj2009@knu.ac.kr

INTRODUCTION

The application of environmental DNA (eDNA) analysis has gained significant traction in recent national monitoring efforts due to its standardization, efficiency, and cost-effectiveness.

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



Article

Genetic Diversity and Structure for Conservation Genetics of Goldeye Rockfish Sebastes thompsoni (Jordan and Hubbs, 1925) in South Korea

Kang-Rae Kim 1,2*, Keun-Sik Kim 2,3* and Sung Jin Yoon 3,4*

1 Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Namhae 52440, Republic of Korea; kangrae@nifos.go.kr
2 Restoration Research Team (Fishery/Amphibians & Reptiles), Research Center for Endangered Species, National Institute of Ecology, Yeonggyang 36531, Republic of Korea; kskim@nie.ac.kr
3 Ulsan-Ulsan Ocean Science Station, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Ulsan 40205, Republic of Korea
4 Correspondence: sjyoon@kio.ac.kr
* These authors contributed equally to this work.

Simple Summary

This study assessed the genetic status of the rockfish Sebastes thompsoni from five coastal sites along South Korea and East Seas sampled in 2018. Using microsatellite markers, we measured genetic diversity and differences among locations. We found consistently high diversity and minimal genetic separation among regions, indicating one large, connected population. However, effective population size was mostly below 1000, suggesting a risk of future diversity loss if pressures persist. These results support managing S. thompsoni as a single unit across the South and East Seas, while prioritizing habitat protection, controls on overfishing, use of diverse broodstock in any release programs, and regular genetic monitoring. Our findings provide practical evidence to guide the sustainable use of this ecologically and economically important species in Korean waters.

Abstract

Sebastes thompsoni is a cold-water rockfish of commercial and ecological value off the coast of Korea, requiring conservation management. We analyzed seven microsatellite loci to assess genetic diversity, population structure, and historical effective population size (Ne) of five populations obtained from the South and East Seas of Korea in 2018. The observed heterozygosity (Ho = 0.759–0.816) was higher than previously reported, and none of the STRUCTURE, DAPC, or AMOVA analyses detected geographic differentiation among samples from the South and East coasts of Korea, indicating a single population within these coasts. There was genetic flow between the five groups, with migration rates ranging from 4.1 to 19.11. However, the current Ne of all populations is estimated to be <1000, and VarEff-based reconstructions indicate a recent, severe bottleneck following an expansion approximately 600–1200 years ago (100–200 generations ago). This suggests that genetic diversity loss may persist in the future due to long-term habitat loss, fishing pressure, and ocean current fluctuations. Therefore, S. thompsoni should be established as a single management unit covering the Korean Peninsula coast, and habitat protection, overfishing control, genetic management type resource release using various mother and broodstock, and periodic genetic monitoring should be promoted. This study provides evidence to guide efforts to secure long-term genetic resilience and sustainable management of S. thompsoni in Korean coastal waters.



Academic Editors: Qianhong Gu and Liang Guo

Received: 14 October 2025
Revised: 4 November 2025
Accepted: 4 November 2025
Published: 8 November 2025
Citation: Kim, K.-R.; Kim, K.-S.; Yoon, S.J. Genetic Diversity and Structure for Conservation Genetics of Goldeye Rockfish Sebastes thompsoni (Jordan and Hubbs, 1925) in South Korea. Biology 2025, 14, 1039. https://doi.org/10.3390/biology14111039

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Biology 2025, 14, 1039

https://doi.org/10.3390/biology14111039



Article

Assessing the Hibernation Ecology of the Endangered Amphibian, Pelophylax chosienicus Using PIT Tagging Method

Kwanik Kwon 1,2*, Changdeuk Park 1,3, Jeongwoo Yoo 1,4, Nakyung Yoo 1,5, Keun-Sik Kim 1,6 and Juduk Yoon 1,4*

1 Research Center for Endangered Species, National Institute of Ecology, Yeonggyang 36531, Republic of Korea; ekwon@nie.ac.kr (K.K.), chunnam@nie.ac.kr (C.P.), wildlife3028@nie.ac.kr (J.Y.), nkyoo@nie.ac.kr (N.Y.), kskim@nie.ac.kr (K.-S.K.)
2 Department of Life Sciences, College of Natural Science, Yeungnam University, Gyeongsan 38541, Republic of Korea
3 Correspondence: zmszmsplek@hanmail.net; Tel: +82-54-680-7360

Simple Summary

This study investigated the hibernation ecology of the endangered Gold-spotted pond frog (Pelophylax chosienicus) using PIT tag tracking to support conservation efforts. By monitoring 49 hibernating individuals over a three-year period, we found the frogs burrowed at depths ranging from 1 to 23 cm. The frogs employed a behavioral strategy of digging deeper during colder periods, utilizing soil as a thermal buffer to maintain body temperatures above ambient air temperature. Furthermore, to prevent dehydration, they exhibited a strong preference for hibernation sites near the waterfront with high soil moisture content. We conclude that preserving microhabitats with adequate burial depth and high soil moisture near the waterfront is critical for the successful overwintering and subsequent conservation of P. chosienicus.

Abstract

The Gold-spotted pond frog (Pelophylax chosienicus (Okada, 1931)), classified as an endangered species in South Korea, has experienced significant population declines due to habitat loss, primarily driven by agricultural expansion and urbanization. This study aimed to assess the hibernation ecology of P. chosienicus using PIT tagging technology, focusing on its hibernation behavior, environmental conditions, and implications for conservation and restoration. Over a three-year period (2021–2024), PIT tags were implanted in 408 frogs, enabling continuous monitoring of hibernation sites and individual characteristics. The results revealed that hibernation depths ranged from 1 to 23 cm, with deeper burrowing observed during colder months, indicating a temperature-dependent survival strategy. The soil temperature at hibernation sites remained consistently higher than ambient air temperature, suggesting an adaptive mechanism to avoid freezing conditions. Additionally, frogs exhibited a strong preference for hibernation sites near water bodies, where soil moisture levels were high, highlighting the importance of preserving suitable microhabitats for successful overwintering. These findings provide valuable insights into the hibernation ecology of P. chosienicus and are critical for guiding effective habitat restoration initiatives. Future research should investigate physiological adaptations to varying hibernation environments and the potential impacts of climate change may impact the survival of this endangered species.



Academic Editor: Valentin Pérez-Medallo

Received: 19 November 2025
Revised: 11 December 2025
Accepted: 14 December 2025
Published: 17 December 2025
Citation: Kwon, K.; Park, C.; Yoo, J.; Yoo, N.; Kim, K.-S.; Yoon, J. Assessing the Hibernation Ecology of the Endangered Amphibian, Pelophylax chosienicus Using PIT Tagging Method. Animals 2025, 15, 3638. https://doi.org/10.3390/ani15243638

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Animals 2025, 15, 3638

https://doi.org/10.3390/ani15243638

KJEE 58(2): 668-676 (2025)
https://doi.org/10.11614/KSL.2025.58.2.668
ISSN: 2288-1123 (Online)



Note

제주도 서식 대륙유혈목이(Hebius vibakari)의 분변 18S rRNA 메타바코딩 분석을 통한 먹이원 규명

유정우 · 김근웅* · 박창득 · 권관익 · 유나경 · 김진석* · 윤주덕*

국립생태원 멸종위기종복원센터, 어쿠이전센터(주)

Dietary Composition of the Japanese keelback (Hebius vibakari) in Jeju Island Revealed by Fecal DNA Metabarcoding. Jeongwoo Yoo (0000-0001-5707-5720), Keun-Yong Kim (0000-0002-7647-3766), Chang-Deuk Park (0000-0002-7832-2806), Kwanik Kwon (0000-0001-7284-6513), Nakyung Yoo (0000-0002-5930-2279), Keun-Sik Kim (0000-0002-2081-2589) and Ju-Duk Yoon* (0000-0003-1667-3270) (Research Center for Endangered Species, National Institute of Ecology, Yeonggyang 36531, Republic of Korea; AquaGenTech Co., Ltd, Busan 48300, Republic of Korea)

Abstract This study applied 18S rRNA metabarcoding to 13 fecal samples collected from the Japanese keelback (Hebius vibakari) on Jeju Island to identify its dietary composition and analyze its ecological characteristics. As expected, Next-generation sequencing (NGS)-based Relative Read Abundance (RRA) analysis revealed high dominance of the phylum Chordata (85.0%), largely attributed to host-derived DNA and genetically similar taxa. This pattern underscores a technical limitation of the 18S marker—its low taxonomic resolution for reptiles, which can lead to species-level misidentification. To address this limitation, we performed a complementary Frequency-of-Occurrence (FOO) analysis, which revealed that various invertebrate groups contributed substantially to the diet, including Araneae (spiders, 28.8%), Chitellata (earthworms, 21.2%), and Insecta (15.0%). Notably, the high occurrence of earthworms suggests that H. vibakari on Jeju Island may employ an active foraging strategy, probing moist soil layers rather than feeding exclusively on surface-dwelling insects. In conclusion, this study demonstrates that combining FOO analysis with 18S metabarcoding can overcome key limitations of the molecular approach and provides the first detailed characterization of the wild diet of H. vibakari on Jeju Island. Future studies incorporating host-blocking primers or additional genetic markers with higher taxonomic resolution are needed to further refine dietary inferences.

Key words: Hebius vibakari, metabarcoding, feces, diet analysis, snake

서론

대륙유혈목이(Hebius vibakari)는 1826년에 처음 보고되

었고, 한국, 일본, 중국, 러시아 등 동아시아에 주로 분포하는 파충류이다(Boie, 1826). 한국에서는 제주도를 포함한 대부분의 지역에서 발견되지만 빈도는 높게 나타나지 않았다(Song, 2007). 대륙유혈목이는 주로 산림, 바위, 건물, 직사광선에 가려진 목재, 석재, 쓰레기 등 진흙을 아래 은신하여 생활한다(Malmate, 1962; Lee et al., 2011). 대륙유혈목이는 보통 작은 개구리나 올챙이, 지렁이 등을 먹이원으로 활용

Manuscript received 29 November 2025, revised 15 December 2025,
revision accepted 15 December 2025.
* Co-corresponding authors: Tel: +82-54-680-7362,
E-mail: kskim@nie.ac.kr
Tel: +82-54-680-7360, E-mail: gjun@nie.ac.kr

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Article

Assessing Genetic Diversity and Population Structure of the Endangered Freshwater Fish *Gobiobotia brevibarba* for Conservation Genetics in Korea

Keun-Sik Kim ^{1,†}, Kang-Rae Kim ^{2,†} and In-Chul Bang ^{3,*}

¹ Research Center for Endangered Species, National Institute of Ecology, Yeongyang 36531, Republic of Korea; kskim@nie.re.kr

² Southeast Sea Fisheries Research, National Institute of Fisheries Science, Namhae 52440, Republic of Korea; krkim@nie.re.kr

³ Department of Bioscience, Soeochunhyang University, Asan 31538, Republic of Korea

* Correspondence: inchang@sch.ac.kr

[†] These authors contributed equally to this work.

Abstract

The endangered freshwater fish *Gobiobotia brevibarba* is endemic to Korea and threatened by habitat disturbance in major river systems. We investigated four wild populations from the Han River basin (IJR, BHR, NHR) and the Geum River basin (GR) using eleven microsatellite loci to assess genetic diversity, population structure, and contemporary gene flow. All populations showed relatively high genetic diversity ($H_D = 0.709-0.800$, $H_E = 0.707-0.803$) and no evidence of inbreeding, although bottleneck signals under the infinite allele mutation model were detected in IJR and BHR. Contemporary effective population size was large in IJR ($N_e = 2463$) and moderate in NHR ($N_e = 467$), whereas estimates for BHR and GR were imprecise. Genetic differentiation was very low within the Han River basin ($F_{ST} = 0.009-0.027$) but weak and significant between Han and Geum ($F_{ST} = 0.085-0.096$), and clustering analyses (STRUCTURE, DAPC, find.cluster) consistently supported $K = 2$, separating Han from Geum River. Gene flow analyses indicated extremely limited interbasin gene flow (<4%) but asymmetric contemporary migration from BHR into both IJR and NHR; all other migration rates were similarly low. These results show that *G. brevibarba* currently maintains high genetic diversity and two basin-level genetic clusters, underscoring the need to manage Han and Geum River populations as separate units and conserve riffle habitats and longitudinal connectivity.

Keywords: genetic structure; genetic diversity; *Gobiobotia brevibarba*; effective population size

Key Contribution: We identified significant genetic differentiation between Han and Geum River populations of *Gobiobotia brevibarba*, supporting the designation of separate management units (MUs) for conservation strategies. The findings underscore the need to avoid cross-basin translocations and to conserve riffle habitats and gene flow pathways within river systems.

1. Introduction

Across Korea, many freshwater fishes have become threatened or endangered as a result of rapid habitat loss, channelization, and water quality degradation [1–5]. Indeed, the construction of large-scale hydraulic structures such as dams and weirs has transformed lotic reaches into impounded, slow-flowing environments, leading to the loss of

KJEE 58(6): 682-687 (2025)
<https://doi.org/10.11614/KSL.2025.58.6.682>
 ISSN: 2288-1123(Online)

Note

멸종위기 남생이(*Mauremys reevesii*)의 이소 거리에 따른 귀소 능력 평가

박창덕 · 유정우 · 권관익 · 윤주덕*

국립생태원 멸종위기종복원센터

Homing Ability of the Endangered Reeves' Turtle (*Mauremys reevesii*) in Agricultural Reservoirs, South Korea. Chang-Deuk Park (0000-0002-7832-2806), Jeongwoo Yoo (0000-0001-5797-5720), Kwanik Kwon (0000-0001-7284-6513) and Ju-Duk Yoon* (0000-0003-1667-327x) (Research Center for Endangered Species, National Institute of Ecology (NIE), Yeongyang 36531, Republic of Korea)

Abstract Homing behavior is a fundamental ecological trait influencing site fidelity and the success of translocation programs for endangered species. This study evaluated the homing ability and effective homing range of the Reeves' turtle (*Mauremys reevesii*), a Class II Endangered Wildlife species and a Natural Monument in South Korea. Six adult turtles were captured from reservoirs in Gurye-gun, attached with GPS transmitters, and artificially displaced to terrestrial release sites at distances ranging from 200 to 600 m from their original habitats. Monitoring from May 2023 to July 2024 revealed a distance-dependent homing response: individuals displaced by 200 m and one of two displaced by 300 m successfully returned to their original reservoirs. However, all turtles displaced by distances greater than 300 m (400–600 m) failed to return. These results suggest that while *M. reevesii* possesses homing instincts, its effective homing range on land is relatively limited compared to other freshwater turtles. This study provides the first empirical evidence of the spatial limits of homing in Korean *M. reevesii* populations. Technical challenges, such as signal loss due to mud accumulation on solar-powered tags in wetland environments, were also identified as a factor to consider in future telemetry studies. For successful translocation, we recommend selecting release sites within 300 m of core habitats to maximize settlement success.

Key words: GPS telemetry, homing ability, *Mauremys reevesii*, site fidelity, displacement

서론

식량과 느린 성장 속도라는 생활사적 특성으로 인해 성체의 손실은 개체군의 급격한 감소와 국소적 절멸로 이어질 수 있다 (Innes *et al.*, 2008; Keevil *et al.*, 2018). 국내에 서식하는 남생이(*Mauremys reevesii*) 역시 서식지 파괴, 로드킬, 외래종과의 경쟁 및 교잡 등으로 인해 개체수가 급감하여, 기후변화·지하환경부 멸종위기 야생생물 II급 및 국가 유산종 천연기념물로 지정되어 보호받고 있다 (Lee *et al.*, 2011; Baek *et al.*, 2024).

멸종위기종의 효과적인 보전과 복원을 위해서는 서식지

Manuscript received 30 November 2025, revised 21 December 2025,
 revision accepted 21 December 2025
 * Corresponding author: Tel: +82-54-680-7360.
 E-mail: jrmdnue@nie.re.kr

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.
 This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Academic Editor: Dongmei Xiang

Received: 15 November 2025

Revised: 11 December 2025

Accepted: 19 December 2025

Published: 20 December 2025

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license.

<https://doi.org/10.3390/fishes11010034>

Fishes 2026, 11, 4

682

참고자료4

특허 등록 2건, 출원 1건

발송번호: 9-5-2025-040093986
발송일자: 2025. 04. 25.

수신 대전광역시 서구 둔산북로 121 (둔산동, 아너스빌) 1827호 (PNC국제특허법률사무소) 박노은 기하(기하) 35238

특허청 특허결정서

출원인 성명 국립생태원 (특허고격번호: 120150247241)
주 소 충청남도 서천군 마서면 금강로 1210 ()
대리인 성명 박노은
주 소 대전광역시 서구 둔산북로 121 (둔산동, 아너스빌) 1827호 (PNC국제특허법률사무소)
발명자 성명 김근식
주 소 경상북도 영양군 영양읍 군민회관길 61
발명자 성명 윤주덕
주 소 부산광역시 사하구 제석로 127 해성아파트 104-304
발명자 성명 강동원
주 소 경상북도 안동시 성국1길 20 303호
출원번호 10-2022-0135251
발명의 명칭 오래주식 증식용 PCR 프라이머 세트와 프로브 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법
청구항수 3

이 출원에 대하여 특허법 제86조에 따라 특허결정합니다.
(특허권은 특허료를 납부하여 특허법 제87조에 따라 실경등록을 받음으로써 발생하게 됩니다.) 끝.

- [참고문헌]
1. GenBank JX179171.1 "Microphosphogobio koreensis haplotype hap3 cytochrome b (cytb) gene, complete cds
 2. Yang, J. et al., Hydrabiologia (2006) 553:255-266
 3. KR1020220071072 A
 4. KR1020220071070 A
 5. KR1020210050754 A
 6. KR102304789 B1

1/5

발송번호: 9-5-2025-040099421
발송일자: 2025. 04. 25.

수신 대전광역시 서구 둔산북로 121 (둔산동, 아너스빌) 1827호 (PNC국제특허법률사무소) 박노은 기하(기하) 35238

특허청 특허결정서

출원인 성명 국립생태원 (특허고격번호: 120150247241)
주 소 충청남도 서천군 마서면 금강로 1210 ()
대리인 성명 박노은
주 소 대전광역시 서구 둔산북로 121 (둔산동, 아너스빌) 1827호 (PNC국제특허법률사무소)
발명자 성명 김근식
주 소 경상북도 영양군 영양읍 군민회관길 61
발명자 성명 윤주덕
주 소 부산광역시 사하구 제석로 127 해성아파트 104-304
출원번호 10-2022-0135266
발명의 명칭 구구리 증식용 PCR 프라이머 세트와 프로브 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법
청구항수 3

이 출원에 대하여 특허법 제86조에 따라 특허결정합니다.
(특허권은 특허료를 납부하여 특허법 제87조에 따라 실경등록을 받음으로써 발생하게 됩니다.) 끝.

- [참고문헌]
1. KR102018798 B1
 2. KR102304789 B1
 3. KR1020210050754 A
 4. KR1020220071072 A
 5. KR1020220071070 A
 6. KR1020140016538 A

1/4

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2025.10.30
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원번호 10-2025-0161139 (접수번호 1-1-2025-1214695-09) (DAS접근코드BAD0)
출원인명칭 국립생태원(1-2015-024724-1)
대리인성명 박노은(9-2012-001315-9)
발명자성명 유정우,윤주덕,권관익,박장득,유나경
발명의명칭 은신 증성을 이용한 배 포획장치

지식재산처장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허출력페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통행된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 문점 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
* 납부방법: 0107122001-1 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고격번호 정보변경/경정, 정정신고서)를 제출하여 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 지식재산처 출력페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에 문의하여 주시기 바랍니다.
* 심사제도 안내: <https://www.epo.go.kr> 지식재산제도

멸종위기 담수어류·양서파충류 훼손 평가 및 복원 연구('25)

Study on Assessment of Habitat Degradation and Restoration for Endangered Freshwater Fishes, Amphibians, and Reptiles ('25)

발행일	2026년 2월
발행인	국립생태원장
발행처	국립생태원 충청남도 서천군 마서면 금강로 1210
참여연구자	윤주덕, 김근식, 강동원, 권관익, 박창득, 유나경, 유정우
문의	054-680-7360
홈페이지	www.nie.re.kr
제작	전우용사촌(주)
ISBN	979-11-6698-623-9 (93490)

© 국립생태원

이 책은 저작권법에 의해 보호를 받는 저작물이므로 무단 전재와 무단 복제를 할 수 없습니다.