

2024 인재양성 프로그램
연구자 최종 결과보고서

도시 수생태계 생물다양성 보전을 위한 환경 DNA 기반 생물모니터링 활용 방안 제언

Proposal for Utilizing Environmental DNA-Based Biomonitoring
for Biodiversity Conservation in Urban Freshwater Ecosystems

2025. 01. 28

강유진(특정주제 연구자)

제 출 문

재단법인 숲과나눔 이사장 귀하

본 보고서를 “도시 수생태계 생물다양성 보전을 위한 환경 DNA 기반 생물모니터링 활용 방안 제언”의 최종 연구 결과보고서로 제출합니다.

2025년 01월 28일

연구 원 : 강 유 진(특정주제연구자)

※ 본 보고서의 내용은 연구자의 의견이며, (재)숲과나눔의 공식적인 견해와는 다를 수 있습니다.

결과보고서 초록

연구원	강 유 진		구분	특정주제연구자
연구제목	한글	도시 수생태계 생물다양성 보전을 위한 환경 DNA 기반 생물모니터링 활용 방안 제언		
	영문	Proposal for Utilizing Environmental DNA-Based Biomonitoring for Biodiversity Conservation in Urban Freshwater Ecosystems		
연구기간	2022.3.1 ~ 2022.12.31			
색인어	한글	담수생태계, 메타바코딩, 연결성 분석, 멸종위기종, 생물다양성		
	영문	Freshwater ecosystems, metabarcoding, connectivity analysis endangered species, biodiversity		

도시 생태계의 수환경은 생물다양성 보전과 서식지 연결성을 유지하는 중요한 기능을 한다. 그러나 도시화로 인해 훼손과 복원이 반복되면서 높은 공간적 이질성이 나타나며, 이에 따라 생물다양성 및 서식지 평가를 위해서는 조밀한 공간 규모에서의 조사가 필요하다. 환경 DNA(eDNA)는 간단한 시료 채취와 분석만으로 생물다양성을 평가할 수 있는 효율적인 기술이지만, 국내에서는 어류 중심으로 활용이 제한적이며, 검출 결과의 해석과 활용 방안에 대한 지속적인 연구가 요구된다.

본 연구에서는 eDNA 기반 생물 모니터링을 활용하여 (1) 베타다양성 평가를 통해 도시하천의 특성과 관리 전략을 도출하고, (2) 서식지 적합성과 연결성 분석을 통해 멸종위기종 서식지 복원의 우선순위를 평가하고자 하였다. 안양천 수계를 대상으로 수행한 베타다양성 분석 결과, 계절에 따른 종의 풍부도 변화와 교체가 생물다양성 변화의 주요 요인으로 작용했으며, 상류 지역과 그곳에 서식하는 어종이 전체 수계의 베타다양성에 중요한 영향을 미쳤다. 특히, 외래어종이 베타다양성 변화에 높은 기여도를 보이며, 이에 따라 도시하천에서 외래종 관리의 필요성이 확인되었다. 대구광역시에서 진행한 수달 서식지 적합성 및 연결성 평가에서는 조사된 32개 수환경 중 25개 지점에서 수달 eDNA가 검출되었으며, 이는 수달이 하천뿐만 아니라 저수지와 연못과 같은 인공 수환경에서도 서식함을 보여준다. 또한, 저수지와 연못이 핵심 서식지와의 연결성을 높여 수달의 이동성을 증가시키는 역할을 하는 반면, 상업지와 주거지가 밀집된 도심 지역에서는 이동성이 저해되며 인간 활동과의 충돌 가능성이 높은 것으로 나타났다. 이에 따라 해당 지역을 우선적으로 보전 및 복원할 필요성이 제기된다.

본 연구를 통해 eDNA는 계절적 영향을 최소화하면서 광범위한 서식지의 생물상을 신속하게 평가하고, 서식 밀도가 낮은 종을 효과적으로 검출하여 도시생태계 관리 전략 수립에 유용한 도구임이 확인되었다. 특히, 생물다양성의 선제적 평가 및 예비 조사 단계에서 기존 조사보다 빠르고 효율적으로 활용될 수 있어, 환경영향평가(EIA) 및 서식지 복원 계획 수립을 위한 기초 자료로서의 활용 가능성이 높다. 그러나 eDNA 검출률은 물리·화학적 환경 변화에 영향을 받을 수 있으며, 높은 민감도로 인해 위양성 오류가 발생할 가능성이 있다. 따라서 신뢰성 높은 결과 도출을 위해 기존의 관찰 기반 조사와 병행하여 활용할 필요가 있다.

Abstract

Aquatic environments in urban ecosystems play a crucial role in biodiversity conservation and habitat connectivity. However, urbanization has led to repeated cycles of degradation and restoration, resulting in high spatial heterogeneity. Therefore, biodiversity and habitat assessments require investigations at a fine spatial scale. Environmental DNA (eDNA) is an efficient and non-invasive technology for biodiversity assessment, as it requires minimal sample collection and processing. However, its application in South Korea has been largely limited to fish species, and further research is needed to enhance the interpretation and utilization of eDNA detection results.

This study explores the applicability of eDNA-based biomonitoring through (1) beta diversity assessment to identify urban stream characteristics and inform management strategies, and (2) habitat suitability and connectivity analyses to prioritize the restoration of habitats for endangered species. Beta diversity analysis of the Anyangcheon River system revealed that seasonal variations in biodiversity were primarily influenced by species richness and turnover. The upstream sites and the fish species inhabiting them played a significant role in determining the overall beta diversity of the river system. Notably, non-native fish species contributed substantially to biodiversity shifts, highlighting the need for targeted management of invasive species in urban streams. A habitat suitability and connectivity assessment conducted in Daegu Metropolitan City detected otter eDNA at 25 out of 32 surveyed aquatic sites. These findings indicate that otters inhabit not only natural water bodies such as rivers but also artificial environments such as reservoirs and ponds. Additionally, reservoirs and ponds were found to enhance connectivity with key habitats, thereby facilitating otter movement. Conversely, commercial and residential areas were identified as barriers to movement, increasing the likelihood of human-wildlife conflicts. These urban areas should therefore be prioritized for conservation and restoration efforts.

This study confirms that eDNA-based monitoring effectively minimizes seasonal biases, enables the rapid assessment of biodiversity across diverse habitats, and facilitates the detection of low-density species. Particularly, eDNA can serve as a valuable tool for preliminary assessments and proactive biodiversity monitoring, offering a faster and more efficient alternative to conventional surveys. It holds great potential as a foundational dataset for Environmental Impact Assessments (EIA) and habitat restoration planning. However, as eDNA detection rates are influenced by physical and chemical environmental conditions and may yield false positives due to high sensitivity, integrating traditional observational surveys remains essential for ensuring the reliability of results.

요약문

I. 제목

도시 수생태계 생물다양성 보전을 위한 환경 DNA 기반 생물모니터링 활용 방안 제언

II. 연구 배경 및 목적

도시생태계의 수 환경은 생물다양성 보전과 연결성 유지에 중요한 역할을 하지만, 도시화로 인해 훼손과 복원이 반복되며 높은 공간적 이질성을 보인다. 환경 DNA(eDNA)는 간단한 시료 채취와 분석만으로 높은 민감도로 생물다양성을 평가할 수 있는 효율적이고 보전적인 기술로, 이질적인 도시수생태계를 조밀한 공간 규모에서 모니터링하기에 적합하다. 본 연구는 eDNA 기반 생물모니터링을 활용하여 도시 수생태계의 생물다양성 보전 방안을 제안하고자 하였다. 첫 번째 연구에서는 안양천 수계에서 메타바코딩을 통해 여름과 가을 동안 어류 군집의 베타다양성 패턴을 분석하여 계절별 생물다양성 변화와 주요 기여 종 및 공간을 파악하고 관리 전략을 제시하고자 했다. 두 번째 연구에서는 대구광역시에서 멸종위기종인 수달의 출현 여부를 qPCR로 평가하고, 서식지 적합성과 핵심 서식지 간 연결성을 분석하여 이동 취약 지역을 도출하고 우선 복원 지역을 제시하고자 했다.

III. 연구 결과 및 결론

첫 번째 연구는 안양천 수계를 대상으로 여름과 가을 두 계절 동안 메타바코딩을 통해 어류 군집의 계절별 베타다양성 패턴을 분석하였다. 여름에는 생물의 풍부도가 공간 변화에 따라 달라지는 풍부도 차이(Richness Difference)가 베타다양성 변화에 기여하였고, 가을에는 생물의 출현 여부가 변화하는 종 대체(Replacement)가 상대적으로 중요한 요인으로 나타났다. 베타다양성에 기여하는 주요 종은 계절에 따라 달라졌으며, 버들치와 같은 상류 지역에 서식하는 특정 종과 상류 지역 자체가 베타다양성에 중요한 역할을 하는 것으로 확인되었다. eDNA 메타바코딩 분석은 안양천 수계의 생물다양성을 계절과 관계없이 균일하게 검출했지만, eDNA의 절대적인 풍부도 추정의 한계와 위양성·위음성 가능성, 강우의 영향을 포함하지 못한 점 등 연구 한계가 있으나 효율적으로 생물상 조사가 가능하고 경관 규모에서 대략적인 경향 파악을 할 수 있다는 점에서 생물 조사와 생물다양성 보전 계획을 수립하는 데 있어 유용할 것으로 판단되었다.

두 번째 연구는 대구광역시를 대상으로 qPCR을 통해 멸종위기종인 수달의 출현 여부를 평가하고 이를 바탕으로 서식지 적합성과 핵심 서식지 연결성을 평가하였다. 총 32개 지점 중 25개 지점에서 수달 DNA가 검출되었으며, 자연하천뿐 아니라 저수지와 공원 연못과 같은 인공적으로 조성된 수 환경에서도 수달 서식이 가능한 것으로 나타났다. 또한 어류의 다양성과 우점 어종에 영향을 받지 않고 먹이원이 풍부한 경우 수달 서식이 가능한 것으로 추정되었다. 서식지 적합성 분석 결과, 상류 지역과 신천-금호강 합류부는 다수의 코리더를 통해 핵심 서식지로 기능하였으며, 저수지와 연못 같은 환경이 핵심 서식지 간 연결성을 높이는 중간 연결점 역할을 하는 것으로 확인되었다. 반면, 대구광역시 중구와 같은 상업 지역은 수달 이동을 저해하는 취약 지역으로 나타났고, 일부 시가지 지역은 인간-수달 충돌 가능성이 높은 지점으로 확인되었다. 이러한 결과는 낮은 연결성을 보이는 지역과 충돌 가능성이 높은 지역에서 서식지 복원과 보전 활동을 우선적으로 추진해야 함을 시사했다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 환경 DNA는 생물다양성 변화에 영향을 미치는 환경 요인을 규명하고 잠재적 서식지를 예측하는 데 효율적이고 선제적인 정보를 제공할 수 있는 도구임을 확인할 수 있었다.

목차

I. 연구 배경 및 목적.....	1
1. 연구배경.....	1
2. 연구목적.....	2
II. 도시하천 생물다양성 평가를 위한 메타바코딩 기반 베타다양성 모니터링.....	3
1. 서론.....	3
2. 재료 및 방법.....	4
3. 연구 결과.....	6
4. 논의.....	11
III. 환경 DNA를 활용한 도심 수달 서식지 적합성 평가 및 핵심 서식지 연결성 분석.....	14
1. 서론.....	14
2. 재료 및 방법.....	15
3. 연구 결과.....	18
4. 논의.....	23
IV. 연구 결론.....	24
참고문헌.....	26

I. 연구 배경 및 목적

1. 연구 배경

생태계 관리(Ecosystem management)는 생태계를 구성하고 있는 요소들 전반에 걸쳐 지속 가능한 방식으로 관리하고 보존하는 것을 의미하며, 과거의 경험과 환경 변화에 따라 관리 행위를 수정하는 적응 관리(adaptive management)가 요구되는 행위이다. 이때 생태계 내 공간정보와 생물상에 대한 자료수집 및 모니터링은 효과적인 생태계 관리방안을 제시할 수 있는 기초 정보가 된다. 하지만 조사방법에 따라 수집되는 데이터의 형태와 모니터링 결과에 차이가 발생하는 만큼 효과적인 생태계 관리를 위해서는 새로운 과학적 지식 또는 기술을 활용한 생태계 재평가가 지속해서 반복적으로 이루어져야 한다. 특히 도시하천, 저수지와 같은 도시생태계 내 수 환경은 도시와 시외 지역을 연결하는 통로 역할을 비롯해 생물에게 먹이 및 서식지를 제공함에 따라 생태적 기능과 역할에 대한 모니터링과 평가가 더욱 중요해지고 있다. 훼손과 복원이 반복적으로 이루어져 이질적인 공간 특성을 나타내는 도시는 조밀한 생물조사 지점을 선정하여 환경 변화에 따른 생물상 변화, 주요 깃대종의 서식지 적합성 등을 평가할 필요가 있다. 기존의 채집 및 관찰 기반의 생물조사 방법은 생물의 생활사를 고려해야 할 뿐만 아니라, 많은 노동 시간과 전문인력이 요구됨에 따라 좁은 지역 단위에서의 조사를 진행하는데 제한이 있다. 자연환경정보를 수집하는 전국자연환경조사 또한 생물 종 목록 중심의 조사를 목적으로 하여 종이 풍부한 일부 생태계 유형에서 조사가 집중되고 있으며 인력대비 방대한 조사범위 및 인간을 회피하는 동물 조사에 대한 한계를 마주하고 있다. 이를 보완하기 위해 무인센서카메라, 청음생물탐지장치, 드론과 같은 최신 장비와 함께 효율적인 생물 모니터링 방법론의 병행이 요구된다.

환경 DNA (Environmental DNA, eDNA) 조사는 물, 흙, 공기 등 환경 시료 내 유전 물질을 통해 생물 종을 구분하는 기술로써 간단한 시료 채취 및 분석과정을 통해 생물상을 도출하는 효율적이고 보전적인 생물모니터링 방법론으로 알려졌다. 현장조사에 전문인력이 필요하지 않으며 짧은 조사 시간 및 적은 노동력을 요구하여 상대적으로 광범위한 대상지 내 다수 지점을 조사하기에 적합하다는 장점이 있다. 또한, 유전 물질을 통한 생물조사 방법론으로 높은 민감도를 가져 낮은 밀도의 멸종위기종 또는 도입 초기의 외래종을 확인하는 데 활발히 이용되고 있다. 특히 생물은 생활사 일부를 수체에서 지내거나 수분섭취, 목욕, 이동을 위해 필수적으로 수 환경에 접근함에 따라 물 시료 내 eDNA를 통한 생물상 분석은 분류군에 상관없이 주변에 서식하고 있는 생물상을 반영할 수 있다. 또한, 서식지 파괴 또는 생물 채집이 없는 보전적인 현장조사 방법론으로 국립공원, 문화유산지구와 등 보전지역에서의 조사에 적합하다. 국외(영국, 캐나다, 핀란드) 및 국제기구(UNEP, UNESCO, WWF)에서는 생물모니터링 실행 계획에 eDNA 모니터링을 포함하고자 시도하고 있으며 표준화된 방법론을 제시하고자 eDNA 조사 분석 매뉴얼 배포, 액션 플랜 및 로드맵 구축도 이루어. 국내에서도 eDNA를 활용한 수생태계 종 다양성 분석 기반 연구를 비롯해 외래생물 유입 및 확산 진단, 이입종 확산 여부를 평가하기 위해 eDNA 방법론을 도입하고 있다. 하지만 여전히 국내에서 척추동물을 대상으로 한 eDNA 활용은 어류로 중심으로 이루어지고 있으며 서식 여부 평가 이외의 검출 결과 활용 또한 제한되어 있다.

2. 연구 목적

본 연구는 ‘도시하천 베타다양성 모니터링’과 ‘도시 수달의 서식지 적합성 및 서식지 연결성 분석’ 두 가지 주제를 토대로 깃대종을 중심의 도시 수생태계 생물다양성 보전을 위한 eDNA 기반 생물모니터링 활용 방안을 제안하는 연구를 목적으로 한다.

첫 번째 연구는 안양천 수계에서 메타바코딩을 통해 도출된 생물상으로 하천 환경 변화에 따라 변화하는 생물상을 여름과 가을 두 계절에 걸쳐 평가하였다. 연구 결과를 통해 안양천 수계의 생물다양성을 결정짓는 생물 종과 공간을 파악하고 계절별 환경 변화에 따른 생물다양성 관리 전략을 제시하고자 했다. 두 번째 연구는 대구광역시에서 멸종위기종 수달을 대상으로 진행된 연구로 qPCR 분석을 통해 수달의 출현 여부를 평가했다. 이후 출현 자료를 활용한 서식지 적합성 분석과 도시생태현황지도를 기반으로 핵심 서식지간 연결성 평가를 진행 하고 수달의 이동이 어려운 이동 취약 지역을 도출하고자 했다.

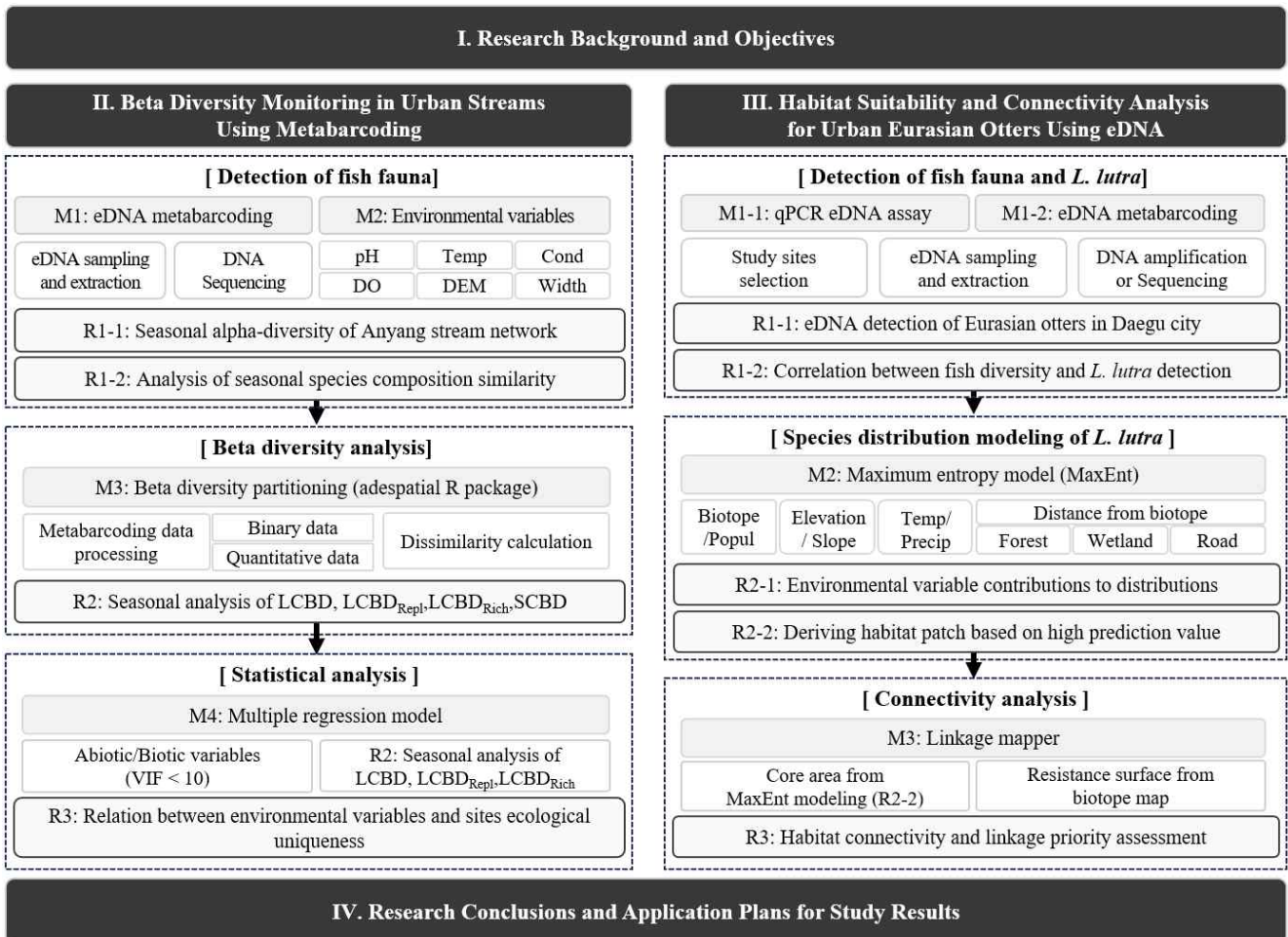


Figure 1.1 연구 구조

II. 도시하천 생물다양성 평가를 위한 메타바코딩 기반 베타다양성 모니터링

1. 서론

생물군집과 생물다양성은 생태계의 기능과 건강 상태를 이해하는 데 있어 핵심 지표로 작용한다(Jia and Chen, 2013; Karr, 1981; Ranta et al., 2021). 생물다양성은 종 풍부도, 개체수, 균등성을 포함하며, 시간적 및 공간적 범위 내에서 생태계를 이해하는 데 사용된다(Shannon, 1948; Simpson, 1949). 생물다양성은 α , β , γ 다양성으로 나눌 수 있다. α 는 특정 지역 내 생물다양성을, β 는 공간적 다양성 차이를, γ 는 지역적 생물다양성을 나타낸다(Whittaker, 1972). 특히 베타다양성은 지역 간 생물다양성 차이를 반영함으로써 주변 생태계의 환경적 차이를 평가하는 데 중요한 역할을 한다. 이는 종 조성의 변화에 따라 공간적, 시간적, 또는 환경적 경사를 명확히 하는 데 효과적으로 활용될 수 있다(Legendre, 2014; Legendre and De Cáceres, 2013; Socolar et al., 2016).

베타 다양성 연구는 종의 출현 여부뿐만 아니라 개체수에 기반한 평가를 포함하도록 지속적으로 발전해 왔다(Legendre et al., 2005; Raphae^l et al., 2003). 베타 다양성에 대한 지역적 기여도(LCBD, Local contribution to beta diversity)와 종의 기여도(SCBD, Species contribution to beta diversity) 지수는 지역 또는 종의 독특한 특성을 이질적인 속성을 통해 반영하는 지표로 기능한다. LCBD 개념은 베타 다양성에 영향을 미치는 두 가지 요인, 즉 종 교체(turnover)와 종 풍부도 차이(nestedness)를 논의한다(Baselga, 2010; Legendre, 2014). 교체(turnover)는 두 생물군집 간 종의 교체를 의미하며, 교체율이 높을수록 특정 군집의 많은 종이 다른 군집에서 결여되어 새로운 종으로 대체됨을 나타낸다. 이는 생태적 또는 지리적 장벽, 환경 조건의 차이, 또는 진화적 과정으로 인해 각 군집의 종 구성이 독특해졌음을 시사한다. 반면 종 풍부도 차이(nestedness)는 특정 군집이 다른 군집의 부분집합일 때 발생한다. 높은 풍부도 차이는 자원 가용성이나 서식지 조건의 제한으로 인해 덜 다양한 군집에서 종 구성이 제한되거나, 더 많은 종을 수용할 수 있는 군집이 존재함을 나타낸다.

도시생태계의 담수 환경은 생태학적 역동성을 이해하기 위해 베타 다양성 분석이 활용되어야 하는 주요 공간 중 하나이다. 특히 강과 하천은 중요한 서식지로 기능하며 서식지 간 연결성을 증진시키고, 생물다양성 보전을 위한 중요한 공간으로 작용한다(Paul and Meyer, 2001; Roy et al., 2016). 도시 생태계는 인간의 교란으로 영향을 받는 지역이지만, 동시에 생태 복원이 지속적으로 이루어지는 공간으로, 특히 상호 연결된 하천 시스템에서 높은 공간적 이질성을 보여준다(Sreekar et al., 2018; Zhang et al., 2015). 도시 생태계는 인위적 방출과 외래종 유입으로 인해 높은 생물다양성을 가지기도 한다(Borden and Flory, 2021; Francis and Chadwick, 2015). 또한, 도시 지역의 적절한 공간적 규모를 결정하는 것은 도시 생태계 내 담수 생태계의 건강 상태를 정량화하고 평가하기 위해 필수적이다(Mayer and Cameron, 2003). 도시 지역의 공간적 패턴을 이해하기 위한 연구에서는 약 100m에서 10km 범위의 모니터링 규모가 고려되었다(Ekroos et al., 2016; Hertwig et al., 2020; Rodrigue, 2024). 도시 지역의 생물다양성은 다양한 서식지 유형과 이동 거리에 따른 생물다양성의 급격한 변화를 반영하기 위해 10km 이하의 촘촘한 샘플링 간격으로 조사할 필요가

있다.

그러나 포획 기반 생물학적 조사는 많은 노동력과 인력이 필요하다는 한계가 있어, 도시 생태계에서 촘촘한 조사 지점을 실행하는 데 어려움이 따른다. 또한, 온도와 강수량과 같은 환경 요인이 변화하는 계절적 변동은 조사 지점 접근성, 생물의 생활 주기, 이동 행동 등에 영향을 미쳐 조사 결과의 일관성을 확보하기 어렵게 한다(Hubert et al., 2012; Stoner, 2004). 이 시점에서 환경 DNA는 단일 환경 샘플을 통해 다양한 종을 평가할 수 있는 메타 바코딩 기법을 기반으로 보다 밀집된 샘플링을 효율적으로 수행할 수 있게 한다(Ushio et al., 2018; Valentini et al., 2016). 메타바코딩은 높은 민감도로 인해 밀도가 낮은 종도 검출할 수 있으며, 장기적으로 샘플 보존이 가능한 재현 가능한 생물학적 분석을 가능하게 한다(Fukumoto et al., 2015). 또한 물체 내 일시적인 유기 물질을 검출하는 방법으로, 동물상 변화를 반영하여 시공간적 제약을 최소화한 조사를 가능하게 한다.

환경 DNA를 기반으로 한 생물학적 조사의 잠재적 활용과 응용에 관한 연구는 특히 담수 생태계에서 광범위하게 이루어졌다. 환경 DNA 기술의 응용과 관련된 이전 연구들은 검출 결과가 특정 지역 내 생물의 상대적 풍부도를 반영할 수 있음을 보여주었으며, 개체군 크기를 반영하는 평가도 수행되었다(Breton et al., 2022; Di Muri et al., 2020; Everts et al., 2022; Skelton et al., 2022). eDNA를 활용한 연구는 특정 종의 계절적 변화를 모니터링하고, 다른 종의 공간적 분포를 추정하며, 검출 농도를 기반으로 개체군 크기와 선호 서식지를 추정하는 연구를 수행해왔다 (Buxton et al., 2017; Sohn and Song, 2024; Zhang et al., 2019). 종 분포를 공간적 특성과 연결하려는 시도 또한 이루어졌다 (Kang et al., 2024). 그러나 하천 네트워크 내 세밀한 지역 규모에서 종 교체와 공간적 특성 간 상호작용을 철저히 평가하는 통합적 접근은 드물다. 따라서 본 연구는 생물다양성 지수, 종 조성 변화(교체와 풍부도 차이를 포함), 그리고 생물적 및 비생물적 환경 요인과 베타 다양성 분할 간의 관계를 조사함으로써 세밀한 공간 규모에서 생태계 역동성을 종합적으로 이해하는 것을 목표로 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 환경 DNA 분석

2.1.1 eDNA 샘플링 및 추출

eDNA 샘플링은 여름(2020년 7월 16~17일)과 전이 계절(2020년 10월 24일) 두 차례에 걸쳐 진행되었다. 각 지점에서 하나의 샘플을 채취하였으며, 음성 대조군을 포함해 총 64개의 샘플을 확보하였다. 약 240ml의 물을 30ml 주사기를 사용하여 Sterivex 필터(0.45 μ m)에 필터링하였다. 샘플링 완료 후 필터는 DNA 손실을 최소화하기 위해 즉시 아이스박스에 보관되었고, 실험실로 운반된 후 -20°C에서 보관하였다. 필터 내 DNA는 QIAGEN DNeasy Blood and Tissue Kit(QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 추출하였다. 추출된 DNA는 Nanodrop 2000c(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용해 농도를 측정하였으며, 분석 전까지 -20°C에서 보관되었다.

2.2.2 라이브러리 준비 및 MiSeq 시퀀싱

DNA 증폭에는 MiFish 유니버설 프라이머(Miya et al., 2020)가 사용되었다. 차세대 시퀀싱(NGS) 라이브러리 제작을 위해 2단계 PCR 공정이 수행되었다. 첫 번째 PCR 반응은 12 μ l로 구성되었으며, 2 μ l의 DNA 템플릿, 6 μ l의 2X KAPA HiFi Ready Mix(KAPA Biosystems, Inc., Wilmington, MA, USA), 각 0.36 μ l의 forward 및 reverse 유니버설 프라이머(10 μ M), 3.28 μ l의 증류수를 포함하였다. 첫 번째 PCR 주기는 98°C에서 20초간 변성, 65°C에서 15초간 결합, 72°C에서 15초간 신장을 35회 반복하였고, 마지막으로 72°C에서 5분간 연장하였다. PCR 결과는 1% 아가로스 젤에서 확인하였다. PCR 생성물은 20 μ l의 Ampure XP Beads를 사용해 정제되었고, Tecan 800 pro로 농도를 측정한 후 20ng/ μ l로 표준화되었다. 두 번째 PCR은 12 μ l 반응으로, 6 μ l의 2X KAPA HiFi Ready Mix, 3 μ l의 증류수, 1 μ l의 유니크 듀얼 인덱스 ID(P5 [Nextera, S5, 1 μ M] 및 P7 [Nextera, N7XX, 1 μ M]), 그리고 1 μ l의 표준화된 DNA 템플릿으로 구성되었다. 두 번째 PCR은 첫 번째 PCR 조건과 동일하나, 주기를 12회로 줄였다. PCR 후 생성물은 Tecan 800 pro로 농도를 측정한 뒤 100ng/ μ l로 표준화되어 시퀀싱에 사용되었다. Illumina 라이브러리는 MiSeq Reagent Kit v3(600-cycles)를 사용하여 Illumina MiSeq 300PE 플랫폼(Illumina, San Diego, CA, USA)으로 시퀀싱하였다.

2.1.2 종 식별 및 목록 정제

NGS 시퀀싱 결과 도출된 FASTQ 파일은 MiFish 파이프라인의 생물정보 데이터베이스(<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/mifish>)을 활용하여 종 목록을 작성하였다(Sato et al., 2018). 이 과정은 여기에는 품질 필터링된 정방향(R1) 및 역방향(R2) 리드 조합, 프라이머 서열을 제거하고 140bp 이상의 서열을 유지하기 위한 길이 필터 적용, 서열 정확도를 높이기 위한 품질 필터링(quality filtering) 수행이 포함되었습니다. 품질 필터링 및 중복 제거, 그리고 최소 4개 복사본 이상인 시퀀스만 유지하여 오차율을 낮췄으며, 최종 시퀀스에 분류학적 할당을 수행하였다. LASTN 유사성이 클러스터된 서열에 대해 97% 미만인 서열은 모호하거나 키메라(chimera)로 판단되어 제외되었습니다. 또한, 오염 제거를 위해 음성 대조군에서 검출된 모든 종은 목록에서 제거되었습니다. 메타바코딩 데이터에서 얻은 종 목록은 연구 지역의 지리적 범위를 참조하여 정제되었다(환경부, 2017a, 2017b). 국내 한강 수계의 하천을 대상으로 하는 연구로 해양 어류, 한국에서 기록되지 않은 외래종, 자연 서식지에서 멸종된 종은 제외하였다(국립생물자원관, 2021, 2018).

2.2 데이터 분석

2.2.1 다중 회귀 분석을 위한 환경 변수

총 10개의 연속적 환경 변수가 사용되었으며, 생물학적 환경 변수는 종 풍부도(종 수)와 풍부도(자연 로그 변환된 eDNA 리드 수)를 기반으로 계산되었다. 물리화학적 환경 평가를 위해 pH, 온도(Temp, temperature), 용존산소(DO, dissolved oxygen), 전기전도도(Cond, Conductivity)의 4가지 수질 매개변수를 현장에서 샘플링 중 YSI Pro Plus multiparameter 를

사용해 측정하였다. 또한, 각 샘플링 지점으로부터 500m 반경 내 도시 지역(RUr)과 농업 지역(RAg)의 비율을 계산하였다. 토지 이용 데이터는 환경부의 2020년 항공 사진(<https://egis.me.go.kr/>)에서 추출하였다. 하천 폭(Width)은 디지털 지형도를 기준으로 측정하였으며, 디지털 고도 모델(DEM)은 등고선 데이터를 기반으로 TIN 보간법을 사용해 계산되었다.

2.2.2 알파 및 베타 다양성 계산

각 지점에서 알파 다양성은 검출된 종 수를 기준으로 평가되었다. 메타바코딩에서 얻은 리드 수는 자연 로그를 적용해 종 풍부도를 표준화하였다. 이 방법은 eDNA 분해 패턴을 반영하며, DNA 증폭을 정확히 표준화하는 데 효과적이다(Breton et al., 2022). 베타 다양성은 Legendre와 De Cáceres(2013)의 접근법에 따라 행렬 Y(사이트별 종 행렬)를 사용해 분석되었다. 행렬 Y는 Hellinger 변환을 통해 종 풍부도를 조정된 후, 종 평균 풍부도와 각 Hellinger 변환 값의 제곱 차이를 계산하여 총 분산(SSTotal)을 산출하였다. BDTotal은 총 제곱합을 사이트 수에서 1을 뺀 값으로 나누어 계산되었다. BDTotal 값은 [0, 1] 범위를 가지며, 각 지점의 종 구성이 완전히 독립적일 때 최대값을 가진다. BDTotal은 LCBD(Local Contributions to Beta Diversity)와 SCBD(Species Contributions to Beta Diversity) 값을 평가하는 데 사용되었다. LCBD 값은 각 지점이 BDTotal에 기여하는 상대적 비율을 나타내며, 1.0으로 합산된다. 이는 각 지점의 생태적 독창성을 반영한다. SCBD 계수는 모든 지점에서 개별 종이 총 베타 다양성에 미치는 기여도를 측정하며, 종 간 변동성을 나타낸다.

베타 다양성을 종 교체와 풍부도 차이로 분할하기 위해, `adespatial` R 패키지(version 0.3-21)의 `beta.div.comp` 함수를 사용하였다. eDNA 메타바코딩을 통해 얻은 이진 데이터와 풍부도 데이터를 기반으로 Dissimilarity, Replacement (LCBDRapl), Richness Difference (LCBDRich)를 계산하였다. Podani의 Jaccard 지수를 활용해 지점 간 Dissimilarity, Replacement (LCBDRapl), Richness Difference (LCBDRich) 차이를 정량화하였다.

2.2.3 통계 분석

비계량 다차원 척도법(NMDS)과 유사성 분석(ANOSIM)을 수행해 eDNA 메타바코딩이 계절적 변화에 영향을 받지 않는 안정적인 동물상을 포착할 수 있다는 가설을 검증하였다. NMDS 분석은 계절적 차이가 종 조성이나 샘플링 지점 간 차이에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행되었으며, `vegan` R 패키지를 사용하였다. 또한, 다중 회귀 분석은 베타 다양성(LCBD, LCBDRapl, LCBDRich) 지표를 종속 변수로, 환경 변수를 독립 변수로 사용해 계절별로 수행되었다. 다중공선성을 방지하기 위해 R(Version 4.1.2)에서 단계적 선택법(stepwise selection)을 통해 변수를 선택하였으며, 각 변수의 분산 팽창 계수(VIF)가 10 미만임을 확인하였다.

3. 연구 결과

3.1 계절에 따른 알파 다양성 평가

eDNA 메타바코딩 결과, 2020년 7월에는 총 1,958,674개의 eDNA 리드가, 10월에는

3,761,228개의 리드가 확인되었다. 해수어, 한국에 도입되지 않은 비토착종, 음성 대조군(인간)에서 발생한 종을 제외한 결과, 각각 7월에는 1,502,983개(93.4%), 10월에는 3,511,668개 (76.7%)로 정제되었다(Appendix Figure 2.1, Appendix Figure 2.2). 7월에는 양서류와 파충류 2과 2종, 어류 14과 41종, 조류 1과 1종, 그리고 포유류 5과 7종이 검출되었다. 10월에는 양서류와 파충류 1과 1종, 어류 13과 44종, 조류 6과 8종, 포유류 5과 7종이 검출되었다.

31개 지점에서의 누적 eDNA 복제본 수는 10월이 7월보다 2.3배 더 높았다. 또한, 확인된 총 종수도 10월에 60종(속 수준에서 확인된 3종 포함)으로 7월의 49종(속 수준에서 확인된 2종 포함)보다 더 높은 다양성을 보였다. 안양천 수계 샘플링 지점의 알파 다양성(종 풍부도)은 가을에 더 높게 나타났으며, 7월 평균 15.9 ± 6.9 종(mean±SD), 10월 평균 18.2 ± 6.3 종(mean±SD)이었다. 연구에서는 하천 크기를 기준으로 샘플링 지점을 세 가지 공간 유형으로 나누어 계절별로 검출된 종의 평균 수를 분석하였다. 결과적으로, 두 계절 모두 하류로 갈수록 검출된 종의 수가 증가하는 경향을 보였다 (Table 2.1).

Table 2.1 하천 상하류 지점에 따른 기간 별 출현 생물 종 수 비교

Sampling sites and spatial classification of stream		Sampling period		
		Jul (mean±SD)	Oct (mean±SD)	Total (mean±SD)
Upstream (10 sites)	S15, S16, S22, S23, S24, S25, S26, S27, S28, S31	10.8±6.9	13.8±5.3	12.3±6.3
Midstream (10 sites)	S1, S2, S3, S17, S18, S19, S20, S21, S29, S30	16.9±5.3	19.3±4.6	18.1±5.1
Downstream (11 sites)	S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14	19.5±5.2	21.3±6.1	20.4±5.7

3.2 베타 다양성에 대한 지역 및 종의 기여

풍부도 기반 LCBD (Local Contributions to Beta Diversity)와 SCBD(Species Contributions to Beta Diversity) 분석 결과, 두 계절 모두 안양천 수계에서 상류 지점과 이 지역에 서식하는 종이 베타 다양성에 유의미하게 기여하는 것으로 나타났다. 여름 (mean±SD=0.032±0.018)과 가을 (mean±SD=0.032±0.015)의 평균 LCBD 값은 동일했으며, 이는 두 계절 동안 동물군의 종 구성과 풍부도 분포가 일관되었음을 나타낸다 (Figure 2.1). 특히 S16, S25, S26, S27, S31과 같은 상류 지역에 위치한 샘플링 지점은 계절과 관계없이 지속적으로 높은 LCBD 값을 보였다. 안양천 본류 하류 지역의 샘플링 지점도 비교적 높은 LCBD 값을 나타냈으며, 특히 여름철 S15 지점은 베타 다양성에 유의미한 기여를 보였다.

안양천의 베타 다양성에 기여한 종 (SCBD)은 계절에 따라 차이를 보였다(Figure 2.2). SCBD 값의 범위는 0.001에서 0.126까지 분포했으며, 이는 종의 베타 다양성 기여도가 다양함을 나타낸다 (7월: mean±SD = 0.020 ± 0.020; 10월: mean±SD = 0.017 ± 0.012). 상류 지류에서 서식하는 것을 선호하는 *Phoxinus oxycephalus* (버들치)는 두 계절 모두 다

른 종에 비해 높은 SCBD 값을 기록했다. *P. oxycephalus*에 이어 중류와 하류에 서식하는 어류가 높은 SCBD 값을 보였다. 여름에는 *Zacco platypus* (피라미)와 *Paramisgurnus dabryanus* (중국미꾸라지), 가을에는 *Micropterus salmoides* (큰입배스)와 *Pseudogobio esocinus* (모래무지)가 주된 기여종으로 나타났다. 이 결과는 안양천 수계의 어류가 상류와 하류 지역 간의 공간적 차이를 명확히 반영하고 있음을 보여준다. 또한, *P. dabryanus*와 *M. salmoides*와 같은 외래종의 도입이 생물다양성 증가에 기여한 것으로 확인되었다.

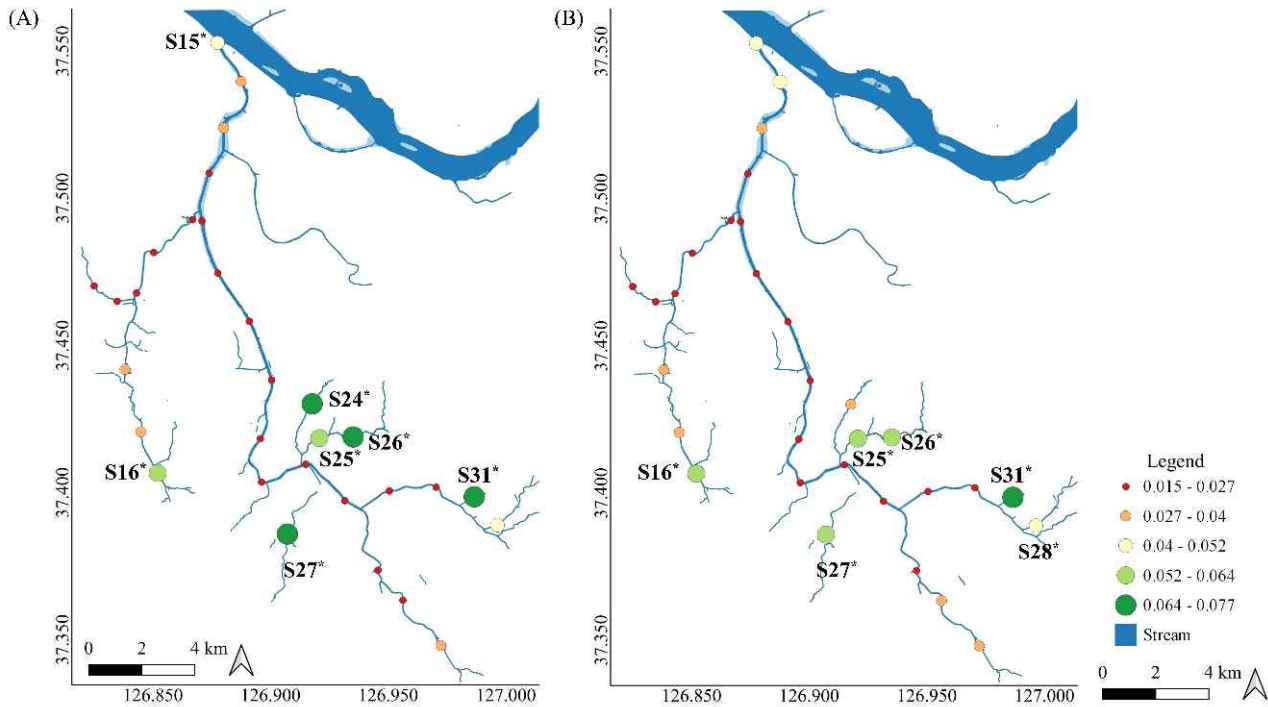


Figure 2.1 안양천 수계 내 계절별 LCBD 비교 (A) 7월, (B) 10월

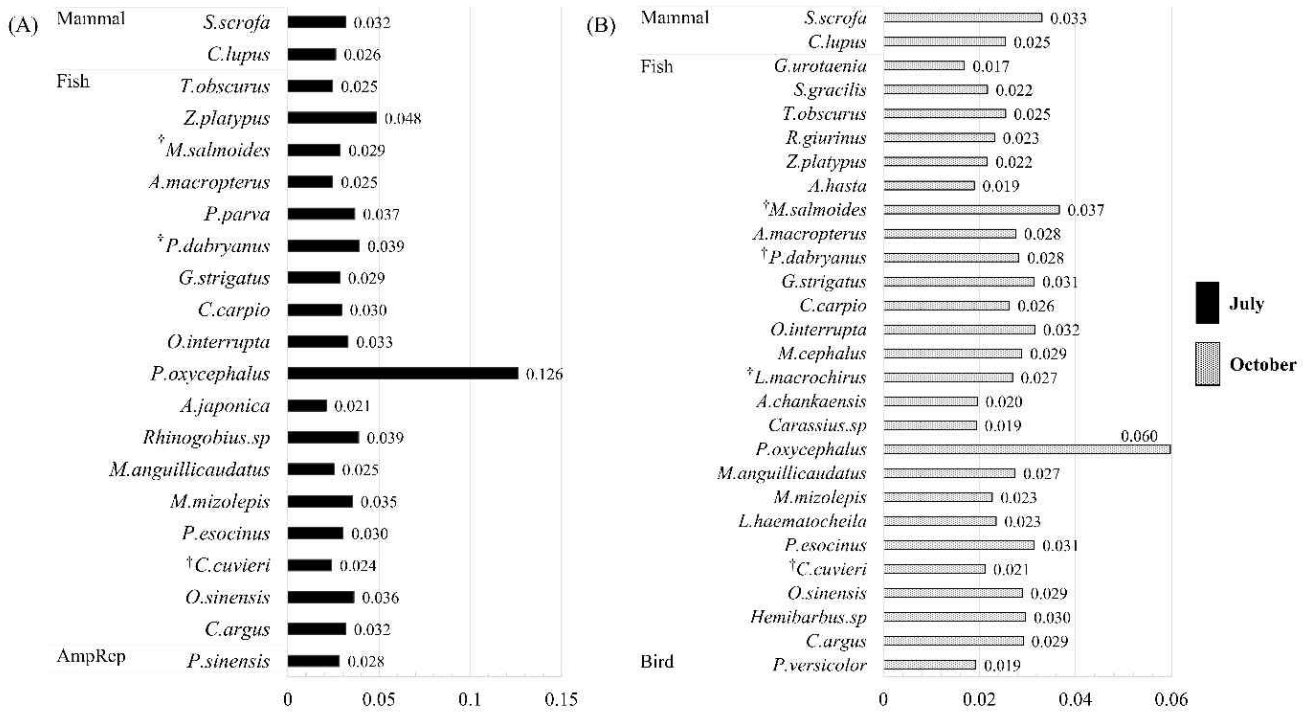


Figure 2.2 안양천 수계 내 계절별 SCBD 비교 (A) 7월, (B) 10월

3.3 존재-부재 데이터와 풍부도 데이터를 활용한 베타 다양성 분할: 종 교체와 풍부도 차이

종의 존재-부재 데이터와 풍부도 데이터를 기반으로 베타 다양성을 분할한 결과, 총 베타 다양성 (BDTotal)에는 계절적 차이가 없었으나, 베타 다양성 구성 요소의 분할에서는 계절적 변동이 관찰되었다 (Figure 2.3). 특히, 종 풍부도가 상대적으로 높은 10월에는 대조적인 패턴이 나타났다.

존재-부재 데이터를 사용한 분석에서, BDTotal 값은 7월 0.306, 10월 0.314로 나타났다. 7월에는 풍부도 차이(RichDiff; 57.0%, LCBDRich = 0.174)가 베타 다양성에 주요 기여 요소로 작용했다. 이는 7월에 종이 적은 지점들이 종이 많은 지점의 부분집합으로 나타났음을 의미한다. 특정 종의 존재 여부가 지점 간 중첩된 패턴 (nested pattern)을 형성하며 전체 베타 다양성에 크게 기여했다. 반면, 10월에는 종 교체 (Repl; 59.9%, LCBDRich = 0.188)가 베타 다양성의 주요 기여 요소로 확인되었다. 이는 10월 동안 지점 간 종 조성의 변동이 주로 종 교체에 의해 발생했음을 나타내며, 서로 다른 지점들이 고유한 종 집합을 포함하고 있음을 보여준다.

Hellinger 변환을 적용한 풍부도 데이터를 사용한 분석에서는 BDTotal 값이 7월 0.267, 10월 0.269로 나타났으며, 두 달 모두 풍부도 차이(RichDiff)가 베타 다양성에 지배적인 영향을 미쳤다 (7월: 71.5%, LCBDRich = 0.191; 10월: 69.3%, LCBDRich = 0.186). 이는 가을 동안 안양천 수계의 지점 간 종 조성은 변동이 있었으나, 특정 종이 지속적으로 우점하며 그 개체수가 환경 경사와 함께 비례적으로 감소했음을 시사한다. 또한, 베타 다양성을 계산할 때 풍부도를 고려해야 함을 보여주며, 종 풍부도의 차이가 베타 다양성 구성의 변동에 크게 영향을 미쳤음을 나타낸다.

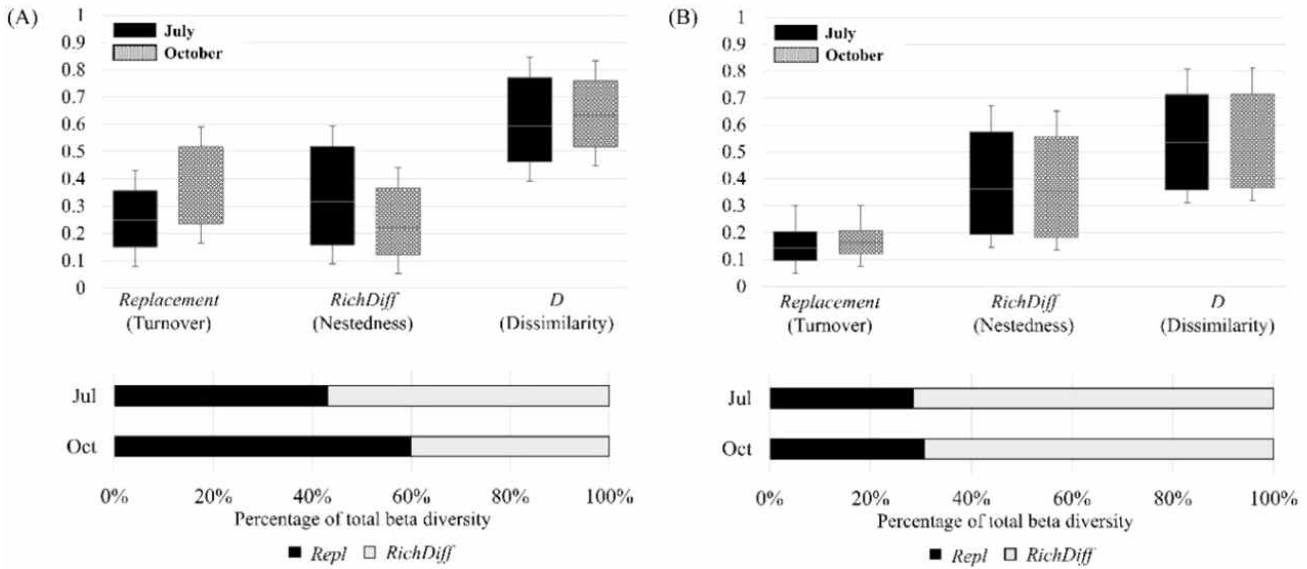


Figure 2.3 계절에 따른 베타 다양성 결과의 분할. (A) 존재 유무 (presence-absence) 데이터에서 도출된 결과. (B) 풍부도 (abundance) 데이터에서 도출된 결과.

3.4 베타 다양성과 환경 변수 간의 관계

풍부도 데이터를 기반으로 한 베타 다양성 지수와 환경 요인 간의 다중 회귀 분석 결과, 생물적 및 비생물적 요인이 베타 다양성 값에 유의미한 영향을 미쳤다 (Table 2.2). 또한, 베타 다양성에 영향을 미치는 환경 요인이 계절에 따라 달라지는 것으로 나타났다. 7월에는 도시 지역 비율(RUr)이 베타 다양성 지수 (LCBD, LCBDRapl, LCBDRich)와 유의한 상관관계를 보인 반면, 10월에는 풍부도 (Abundance)와 하천 폭 (Width)이 이들 지수와 유의한 상관관계를 보이며 베타 다양성 변화의 주요 요인으로 작용했다.

LCBD 값은 하천 폭 (양의 상관관계, $p < 0.05$)과 도시 지역 비율 (음의 상관관계, $p < 0.01$)에 공통적으로 영향을 받았다. 반면, 용존 산소(DO)와 농업 지역 비율(RAg)은 설명 변수로 고려되지 않았다. LCBDRapl은 하천 폭 (양의 상관관계, $p < 0.01$)과 RUr (음의 상관관계, $p < 0.05$)에 유의미한 영향을 받았으나, 계절에 따라 상관관계가 반대 방향으로 나타났다. 7월에는 LCBDRapl이 하천 폭과 양의 상관관계를, RUr과 음의 상관관계를 보였으나 ($p < 0.001$), 10월에는 이러한 관계가 반대로 나타났다. 즉, 하천 폭 증가가 여름철 종 교체 (species turnover)를 촉진하여 LCBDRapl을 증가시키는 데 기여했으나, RUr가 높은 지역에서는 이러한 효과가 관찰되지 않았다. 반대로, 가을에는 좁고 도시화된 하천에서 종 교체가 더 활발히 발생하는 경향을 보였다.

7월에 LCBDRich는 종 풍부도(richness)와 음의 상관관계($p < 0.05$)를, 도시 지역 비율 (RUr)과 양의 상관관계 ($p < 0.05$)를 보였다. 반면, 10월에는 LCBDRich가 하천 폭과 종 풍부도와 양의 상관관계 ($p < 0.05$)를, 온도와 풍부도 (Abundance)와는 음의 상관관계 ($p < 0.05$)를 보였다. 이는 여름철에 종이 적은 지점 (낮은 풍부도)이 더 독특한 종 구성을 가지며, 종이 많은 지점보다 베타 다양성에 더 크게 기여했음을 시사한다. 또한, 도시화된 지역에서는 특정 종의 우점이 풍부도 차이를 증가시켰음을 암시한다. 가을에는 종 풍부도가 높은 지점과 하천 폭이 넓은 지점에서 풍부도 차이가 증가했으며, 온도가 낮고 풍부도가 낮은 지점에

서는 풍부도 차이가 감소했다. 이는 따뜻하고 풍부도가 높은 지점에서 종 구성이 더 균질화된 패턴을 나타냄을 의미한다.

Table 2.2 계절에 따른 베타 다양성과 환경 변수 간의 다중 회귀 모델 결과

	July				October				
	Estimate	Std. Error	t value	P-value	Estimate	Std. Error	t value	P-value	
LCBD									
(Intercept)	6.4.E-02	2.8.E-02	2.31	0.030*	(Intercept)	4.5E-02	3.2E-02	1.40	0.175
Width	3.0.E-04	6.7.E-05	4.39	0.000***	Width	2.0E-04	7.3E-05	2.66	0.014*
DEM	3.8.E-04	1.6.E-04	2.34	0.028*	Temp	-1.3E-03	7.5E-04	-1.73	0.097
Temp	-3.1.E-03	1.0.E-03	-3.02	0.006**	pH	5.6E-03	3.8E-03	1.45	0.159
pH	6.9.E-03	3.4.E-03	2.05	0.051	Cond	-9.6E-06	7.3E-06	-1.31	0.202
Richness	-6.7.E-04	5.2.E-04	-1.30	0.207	Abundance	-1.6E-04	6.6E-05	-2.42	0.024*
RUr	-3.1.E-02	9.5.E-03	-3.23	0.004**	RUr	-3.5E-02	9.4E-03	-3.73	0.001**
LCBDRapl									
(Intercept)	5.5.E-02	2.4.E-02	2.30	0.030*	(Intercept)	7.5E-02	3.0E-02	2.52	0.018*
Width	3.5.E-04	7.4.E-05	4.67	0.000***	Width	-2.4E-04	8.7E-05	-2.80	0.010**
Temp	-2.6.E-03	9.7.E-04	-2.65	0.014*	pH	-6.0E-03	3.7E-03	-1.64	0.115
pH	7.0.E-03	3.6.E-03	1.94	0.064	Richness	2.8E-03	1.5E-03	1.86	0.075
Richness	-6.2.E-04	2.9.E-04	-2.13	0.043*	RUr	6.5E-02	1.1E-02	5.93	0.000***
RUr	-2.5.E-02	1.0.E-02	-2.42	0.023*	Abundance	-6.1E-04	2.5E-04	-2.42	0.023*
LCBDRich									
(Intercept)	2.1.E-02	6.1.E-03	3.43	0.002**	(Intercept)	6.E-02	7.3E-03	8.50	0.000***
Width	-1.7.E-04	9.0.E-05	-1.88	0.070	Width	3.E-04	5.6E-05	4.56	0.000***
Richness	-1.3.E-03	3.9.E-04	-3.32	0.003**	Temp	-2.E-03	5.3E-04	-3.30	0.003**
RUr	6.8.E-02	1.1.E-02	6.07	0.000***	Richness	3.E-03	9.8E-04	3.09	0.005**
					RUr	-2.E-02	7.8E-03	-1.94	0.063
					Abundance	-5.E-04	1.7E-04	-2.92	0.007**

4. 논의

4.1 안양천 수계에서 베타 다양성에 미치는 환경 변수의 영향

본 연구에서는 안양천 수계의 베타 다양성이 종 풍부도 차이(RichDiff)와 종 교체(Repl)의 조합에 의해 결정된다는 것을 확인하였다. 계절 비교 결과, RichDiff 비율은 가을보다 여름에 더 크게 영향을 받았다. 베타 다양성의 계절적 변화는 하천 폭, 도시화 지역 비율, 종 풍부도와 같은 요인에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다. 그러나 베타 다양성의 계절적 변화를 평가할 때, 물리화학적 환경 변화뿐만 아니라 어류의 생활 주기와 기후 특성도 고려해야 한다.

첫째, 국내 담수에 서식하는 대부분의 어류는 봄과 여름 동안 산란기를 가지며, 가을은

부화한 유어가 성장하는 시기이다(Munro et al., 2019). eDNA는 특정 지점 내 생물의 풍부도를 반영하므로, 산란이나 유어 성장으로 인해 서식지 조건이 변화하는 것을 평가할 필요가 있다. 예를 들어, 한국 하천에서 흔히 발견되는 *Zacco platypus*는 오염에 강하며 환경 변화에 적응력이 높은 우점종이다. 그러나 이 종의 산란은 유속이 느리고(3.3 ± 3.7 cm/sec), 수심이 얕으며(5-15 cm), 모래 바닥의 환경에서 이루어진다(Baek et al., 2006). 한편, *Micropterus salmoides*는 먹이를 섭취하거나 휴식을 위해 얕은 물과 깊은 물을 오가며, 하루에 100m 이상 이동한다. 하지만 산란 시에는 얕은 물(수심 수 cm~수 m)로 이동하며, 잠긴 수초나 수생 식물 뿌리에 알을 낳는 경향을 보인다(DeWoody et al., 2000; J. G. Kang et al., 2024; Lorenzoni et al., 2002). 따라서 번식을 위해 상류에서 하류로 어류가 분산되거나 집중되는 현상이 안양천 수계의 어류 베타 다양성에 영향을 미쳤을 가능성이 있다.

둘째, 한국은 연 강수량의 64%(909.7mm)가 여름철에 집중되는 몬순 기후이다(<https://www.weather.go.kr/w/index.do>). 강수로 인해 수위 상승, 유속 증가, 수질 변화가 생물의 이동 범위를 확장하거나 제한하며, 이는 수계의 생물다양성에 영향을 미칠 수 있다(Kwak, 1988). 본 연구에서는 7월에는 하천 폭이 증가함에 따라 종 교체가 촉진되고, 10월에는 하천 폭이 감소하면서 종 교체가 억제되는 현상이 확인되었다. 여름철 강수로 하천 폭이 넓어지면서 주변 수생 환경과의 합류 및 서식지 다양성이 증가하였고, 이로 인해 주변 지역에서 새로운 종이 유입되었을 가능성이 있다. 반면, 가을에는 안정된 수체 내에서 특정 종의 분포가 증가하면서, 종 간 경쟁으로 인해 다른 종의 이동이 억제되며 종 교체가 감소한 것으로 보인다. 이를 뒷받침하는 가을의 회귀 분석 결과, LCBDRich와 종 풍부도 간에 유의미한 양의 상관관계가 나타났다.

베타 다양성은 계절적인 보전 전략 수립에 활용될 수 있다. 안양천의 경우 여름에는 고품질 서식지와 안정적인 수질을 보존하기 위해 상류 지역의 특정 지점에 초점을 맞춘 생물다양성 관리가 요구된다. 반대로, 가을 보전 노력은 전체 하천 시스템을 포함하여 다양한 서식지와 종을 보호하는 데 중점을 두어야 할 것이다. 또한, 상류와 하류 지역의 공간적 특성과 이에 따른 생물학적 변화를 고려하는 것이 베타 다양성 관리를 위한 주요 요소로 확인되었다. 안양천 생물다양성 보전 전략은 오염에 민감한 종이 서식하는 상류 지역과 외래종이 발견되는 하류 지역을 모두 포함해야 하는 것으로 판단된다(Kang et al., 2024).

4.2 계절별 생물다양성 평가를 위한 eDNA 조사 방법의 효과와 고려사항

환경 DNA는 공간적 요인과 관찰자의 생물다양성 탐지 능력과 관련된 한계를 최소화하면서 계절별 생물다양성을 모니터링하는 방법을 제공한다. 본 연구에서는 계절적 변화가 종별 DNA 증폭 정도에 영향을 미쳤으나, 검출된 종 목록은 계절별로 크게 달라지지 않았다. 군집 분석과 ANOSIM 검정 결과, 7월과 10월 사이 안양천 수계에서 척추동물 종 구성과 지점 간 변동에 유의미한 차이가 없는 것으로 나타났다(ANOSIM 통계 $R = 0.1654$) (Figure 2.4). ANOSIM 통계 R 값은 0~1 범위로, 0에 가까울수록 군집 간 차이가 적음을 나타낸다. 반면, 계절별 풍부도에는 유의미한 차이가 있었으며, DNA 증폭이 가을에 현저히 증가했는데 이는 어류 성장의 피크 시기와 일치한다. 또한, 특정 지점 내에서의 종 구성에도 계절적 변동이 나타났다. 이 방법은 종 풍부도와 군집 구성에 대한 필수적인 계절별 데이터를 제공할 뿐만 아

나라, 군집 내 우점 또는 희귀 정도를 강조한다. 이를 통해 생태계에 대한 이해의 깊이와 정확성을 높이고, 보다 효과적인 생태계 관리를 가능하게 한다.

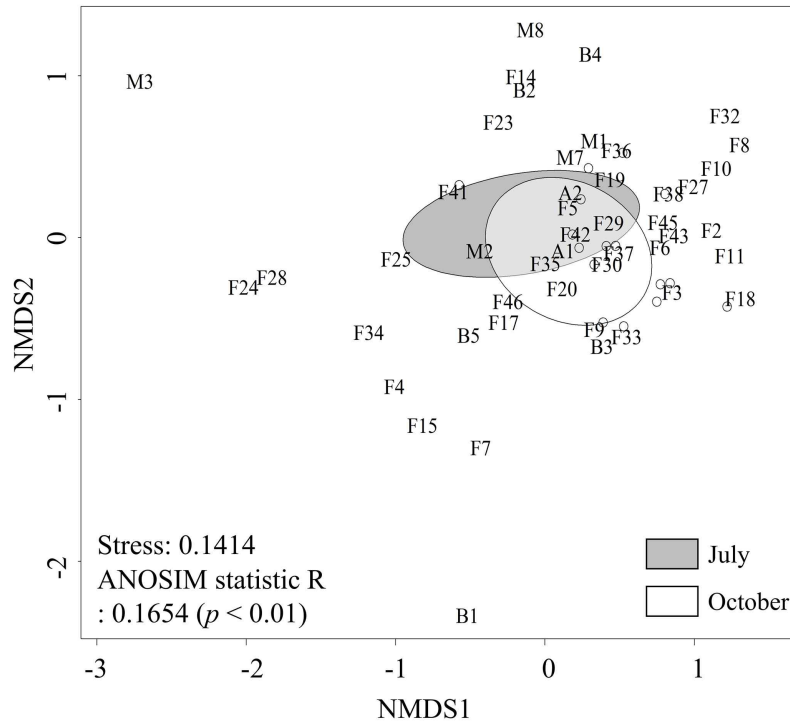


Figure 2.4 7월과 10월 계절별 안양천 검출 생물 종의 비계량 다차원 스케일링 (NMDS, Nonmetric Multidimensional Scaling) 분석 (F, 어류, M, 포유류, B, 조류를 나타냄)

eDNA를 사용한 생물군집 평가와 이를 지수에 적용하는 데에는 몇 가지 한계가 존재한다. 첫째, 종의 검출 확률은 종별로 수체 접근성의 차이에 따라 달라질 수 있다. 본 연구에서는 도시 하천 환경의 어류를 대상으로 국내 담수에서 검증된 유니버설 어류 프라이머를 활용하였으며, 다른 생물 분류군의 존재는 제한적일 것이라고 가정하였다 (Y. Kang et al., 2024; Kim and Song, 2021). 이러한 가정은 계절적 생물군집 변동 없이, 지점 및 종별 베타 다양성 기여도를 검증하는 데 기여하였다. 특정 그룹을 대상으로 한 연구는 프라이머로 인한 편향 때문에 검출된 종 목록에 큰 영향을 미칠 수 있으며, 일부 조사 결과 DNA 산출량이 70% 이상 변경될 수 있다 (O'donnell et al., 2016; Schenekar et al., 2020). 따라서 연구 목적에 적합한 프라이머를 선택하는 것이 필수적이다 (Bustin and Huggett, 2017; Krehenwinkel et al., 2017).

종 다양성 평가는 일반적으로 존재-부재 데이터를 기반으로 하지만, DNA 증폭 지표 (예: eDNA 리드)를 통해 개체군 풍부도를 반영한 생물다양성 계산이 이루어진다. 몇몇 연구는 제한된 환경에서 eDNA 풍부도를 커뮤니티 크기와 비교하여 생물의 상대적 풍부도를 경험적으로 추정하였다(Di Muri et al., 2020; Sard et al., 2019). 그러나 이러한 접근법은 샘플 수나 환경 유형에 따라 특정 종이 과대 평가될 가능성이 있으며, 낮은 풍부도의 종은 검출되지 않을 수 있다. 이를 해결하기 위해 PCR 증폭 편향을 추정하여 오류가 발생하기 쉬운 분류군 또는 대상 종에 보정 계수를 적용할 수 있다(Nichols et al., 2018). 대안으로, 멀티플렉스

PCR을 사용하여 증폭 결과를 균형 있게 조정함으로써 잠재적 부정확성을 줄일 수 있다(Sint et al., 2012). 또한, Pont et al. (2023)에서 언급한 바와 같이 동일한 유니버설 프라이머를 사용하여 qPCR 분석과 메타바코딩을 결합하면 어류 종의 절대적 풍부도를 추정하는 데 활용할 수 있다. 그러나 보다 강력한 생물다양성 평가를 위해서는 전통적인 샘플링 또는 관찰 기반 조사를 통합하고, 특정 환경에서의 eDNA 검출을 정확히 평가하기 위해 반복적인 샘플링 및 모니터링이 필요하다.

Ⅲ. 환경 DNA를 활용한 도심 수달 서식지 적합성 평가 및 핵심 서식지 연결성 분석

1. 서론

도시생태계 내 자연환경의 기능은 구조적 연결성과 기능적 연결성을 통해 평가할 수 있다 (Kadoya, 2009). 구조적 연결성은 경관 구조와 관련되며, 저항 값(투과성)과 기하학적 거리를 기반으로 종의 특성과 토지 이용을 고려한 서식지 이동 경로를 예측하여 잠재적 서식지 이용 가능성을 평가한다 (Taylor et al., 2006). 최소비용경로 (Least Cost Path, LCP) 분석은 저항 기반의 단순 모델로, 주요 서식지 패치 간 이동이 선호될 가능성이 있는 지역을 식별하는 데 사용된다 (Adriaensen et al., 2003). 그러나 구조적 연결성 평가는 종 특유의 행동 특성과 실제 서식지 이용 정보를 충분히 반영하지 못해 생물의 실제 이동 경로와 서식지 사용에 대한 현실적인 정보를 제공하는 데 한계가 있다 (Licznar et al., 2024). 이에 반해, 기능적 연결성(functional connectivity) 평가는 종의 이동과 이주와 같은 관찰된 생태학적 과정을 반영하며, 공간적 및 시간적 규모와 생태적 과정을 연결성 평가에 통합하여 고려한다 (Taylor et al., 2006). 기능적 연결성은 일반적으로 종 출현 데이터를 기반으로 한 종 분포 모델 (species distribution models)이나 확산 모델(dispersal models)을 통해 평가할 수 있다 (Foltête et al., 2012; Vasudev et al., 2015). 도시생태계에서 높은 수준의 연결성 평가 정보를 얻기 위해서는 종 데이터를 고려하여 구조적 연결성과 기능적 연결성을 통합적으로 평가할 필요가 있다.

도시의 그린 인프라(green infrastructure; 공원, 녹지)와 블루 인프라(blue infrastructure; 하천, 강)는 생물다양성 보전을 위한 필수적인 생태학적 통로로 기능한다. 특히 강, 하천, 연못과 같은 수생 생태계는 먹이 공급원과 서식지를 제공하며, 생물의 안정적인 정착과 확산을 가능하게 한다 (Paul and Meyer, 2001). 자연환경의 생태적 역할에 관한 연구는 광범위하게 이루어지고 있으며, 특히 강과 하천과 같은 자연환경에서 주요 종(깃대종, 우산종 등)을 대상으로 한 지속적인 모니터링이 이루어지고 있다 (Siddig et al., 2016). 반면, 도시 내 저수지와 도시공원 내 연못 같은 인공적인 수 환경에 관한 연구는 상대적으로 부족하다. 또한, 도시생태계에서 인공적인 환경의 역할과 기능에 대한 평가가 제한적으로 이루어져 생물다양성 보전 연구 및 관리를 위한 도시 환경 활용에 한계가 발생하고 있다.

인간 활동이 밀집된 도시생태계에서는 건물 밀도, 도로 및 교통 인프라, 녹지 분포와 같은 요소가 생물의 미소서식처 구성에 영향을 미치므로, 세밀한 조사 규모에서 생물 조사를 수행하는 것이 필수적이다 (Mayer and Cameron, 2003). 세밀한 공간 규모에서 주요종을 모니터링함으로써 새로운 잠재적 서식지를 식별하고 체계적으로 기능적 연결성을 개선할 수 있다. 환경 샘플 내 유전 물질을 이용하여 종을 식별하는 환경 DNA(Environmental DNA, eDNA) 조사는 비교적 간단한 검출 방법으로 서식지 수준(수 미터)에서부터 경관 수준(수십 킬로미터)에 이르기까지 광범위한 지역에서 생물 출현 여부를 평가할 수 있다 (Mize et al., 2019; Da Silva Neto et al., 2020; Kang et al., 2024b). 또한, eDNA는 높은 민감도를 가져 밀도가 낮은 종을 검출할 수 있어 희귀종 모니터링에 활발히 활용되고 있다

(Lintermans, 2016; Martin et al., 2007; Thomsen et al., 2012). 특히, 단일 환경 샘플에서 다수의 종을 동시에 검출할 수 있는 메타바코딩은 연구 대상지 내 생물상을 평가하는데 적합하며, 단일 생물 종 검출을 목표로 하는 표적 PCR을 이용한 eDNA 분석은 목표 생물의 증폭 확률을 높여 출현 패턴을 파악하는데 활용될 수 있다 (Harper et al., 2020).

본 연구는 한국의 멸종위기 야생생물이자 천연기념물인 수달(Eurasian otter, *Lutra lutra*)을 대상으로 한다. 수달은 도시생태계 먹이사슬의 최상위 포식자로서 넓은 서식지를 필요로 하고 ~15km의 높은 이동성을 보이기 때문에, 수생 생태계의 안정성을 평가하는 데 있어 지표종으로 활용되고 있다 (Erlinge, 1967). 수달의 출현 데이터를 활용하면 지역 생태계에서의 연결성과 생물다양성을 평가할 수 있어 국내 다수의 도시가 수달을 하천복원 대상 종으로 고려하고 있다 (한국환경부, 2016). 도심에서 수달의 서식 가능성을 높이기 위해서는 수달의 높은 이동성을 수용할 수 있도록 연결성을 평가하여 잠재적 서식지를 발굴할 필요가 있다. 수달은 넓은 행동반경을 가지는 야행성 동물로 충분한 데이터를 수집하기 위해 장기간 반복적인 조사가 필요하며 이때 eDNA 효율적으로 대체적인 수달 출현 자료를 제공할 수 있다. 수달 관련 eDNA 연구는 주로 검출 가능성과 먹이 추정에 초점을 맞추었으며, 도시생태계에서 다양한 수 환경 유형을 포괄적으로 반영할 수 있는 2km 미만의 밀집된 공간 규모에서의 연구는 제한적으로 이루어졌다 (Harper et al., 2020; Singh Jamal et al., 2022; Jamwal et al., 2023). 본 연구는 eDNA를 활용하여 대구광역시 내 수달의 분포를 확인하고 수달 출현에 영향을 미치는 생물학적, 비생물학적 환경 요인을 평가하고자 했다. 또한 출현 자료를 기반으로 구동된 종 분포 모델링(species distribution modeling)과 LCP 분석을 통해 수달 선호 서식지를 기반으로 주요 서식지 연결성 분석을 통해 복원 우선 지역을 식별하고자 했다.

2. 재료 및 방법

2.1 eDNA 분석: 수달(*L. lutra*) 및 어류 군집 도출

32개의 샘플링 지점을 대구광역시의 강 (금호강 10개 지점), 하천(신천 7개 지점, 지류 8개 지점), 저수지 (연못 및 저수지 7개 지점)에서 선정하였다 (Figure 3.1). 샘플링은 4월 8일부터 10일까지 진행되었다. 각 지점에서 990ml의 물을 3개의 Sterivex 필터(0.45um)와 30ml 주사기를 사용해 필터링하였다. 분석 중 오염 여부를 확인하기 위해 1개의 음성 샘플을 포함하여 총 97개의 샘플을 수집하였다. 필터링된 샘플은 아이스박스에 보관 후 실험실로 운반하였으며, -20°C에서 보관한 후 eDNA를 추출하였다. eDNA 샘플은 Qiagen DNeasy Blood and Tissue Kit를 사용해 추출하였으며, 추출물은 Nanodrop 분광광도계(Nanodrop 2000c; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용해 정량화하였다.

2.1.1 정량 PCR을 통한 수달 검출

수달은 낮은 서식 밀도를 가지는 종으로, 효과적인 검출을 위해 qPCR을 사용하였다. 수달 eDNA 검출을 위해 Park et al. (2011)과 Kang et al. (2024)의 연구를 기반으로 한 종 특이적 프라이머를 활용하였다. qPCR 반응 혼합물은 5 µl SYBR Green (Enzynomics), 1 µl eDNA 템플릿, 0.5 µl 포워드 프라이머, 0.5 µl 리버스 프라이머, 3 µl 초순수 물을 포함한

총 10 μ 로 구성되었다. PCR 조건은 초기 변성 단계(94°C, 5분), 변성(94°C, 30초), 결합(50°C, 30초), 신장(72°C, 30초)을 35회 반복하였다. 증폭 결과를 평가하기 위해 양성 및 음성 대조 샘플을 포함하였으며, 29.7 사이클 (0.02 ng/ μ l) 이상의 증폭 결과를 음성으로 간주하였다.

2.1.2 메타바코딩 기반 어류 군집 평가

대구 지역 수생 환경 내 어류 군집 분석을 위해 MiFish 유니버설 프라이머를 사용하여 메타바코딩을 수행하였다(Miya et al., 2015). 시퀀싱 결과는 MitoFish 파이프라인 (<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/mifish>)을 사용해 분석되었으며, BLASTN 유사도가 97% 이상인 종의 목록을 생성하였다. PCR 결과에서 50,000 이상의 시퀀싱 depth를 달성하지 못한 샘플은 음성으로 간주하였다. 국내에서 서식이 확인되지 않은 종이나 해양 환경에 서식하는 종은 연구 대상지를 고려해 목록에서 제외하였다. 또한, 어류 군집과 수달 검출 농도와의 상관관계 평가를 위해 종에 따른 증폭 수는 자연로그를 취하여 Shannon 다양성 분석 및 군등도 분석에 활용하였다. 두 변수 간 상관관계 평가에는 직관적인 평가를 위해 선형회귀분석을 이용하였다.



Figure 3.1 대구광역시 수달 분포 평가를 위한 지점 선정

2.2 MaxEnt 모델을 통한 수달 서식지 예측

MaxEnt 모델은 qPCR로 얻은 수달 발생 데이터를 기반으로 9개의 환경 변수와 함께 실행되었다. 모든 환경 변수는 100미터 그리드 해상도로 래스터화하여 분석에 사용하였다. 발생 데이터 포인트 수의 제한을 고려하여, 모델은 50회 부트스트랩 복제를 통해 실행되었다. 최종 모델의 성능은 AUC 곡선을 사용하여 평가되었으며, 0.8에서 1.0 사이의 값은 모델 적합성이 우수하다고 간주되었다. 또한, 환경 요인이 서식지 적합성에 미치는 영향을 평가하기 위해 각 변수의 기여도와 예측 확률 간의 관계를 분석하였다.

Table 3.1 수달 서식 결정 요인 및 서식지 적합성 평가를 위한 환경 변수 목록

Environmental factor		Description	Reference
Ecosystem type	Ecosystem type	2021 Urban ecological status maps	Daegu Metropolitan city (https://www.daegu.go.kr)
	Dist_Forest	Distance from forest (0.5km, 1km, 1.5km, 2km, 2.5km)	
	Dist_Road	Distance from road (0.1km, 0.3km, 0.5km, 0.7km, 1km)	
	Dist_Water	Distance from water (0.5km, 1km, 1.5km, 2km, 2.5km)	
Precipitation	Precip	Average precipitation of 2022	Korea Meteorological Administration (https://www.kma.go.kr)
Temperature	AvrLowTemp	Average lowest temperature of 2022	
	AvrTemp	Average temperature of 2022	
	AvrHighTemp	Average highest temperature of 2022	
Population	Popul	Population size	National Geographic Information Institute (https://www.ngii.go.kr)
DEM	DEM	Digital elevation model	
Slope	Slope	Gradient based on a digital elevation model	

2.3 최소 비용 경로 기반 핵심 서식지 연결성 분석

핵심 서식지 영역을 식별하기 위해 두 단계의 과정을 적용하였다. 첫 번째 단계에서는 MaxEnt 분포 모델의 cloglog 임계값을 초과하는 예측 값 상위 25%의 지역을 식별하였다 (예측 값 > 0.21). 또한 식별된 지역 중 상위 25%의 넓이를 지닌 지역을 계산한 결과 최소 크기가 50,000m² 이상인 지역을 핵심 서식지 패치로 선정하였다. 이후, ArcGIS에서 Linkage Mapper v3.1.0 소프트웨어를 사용해 연결성 분석을 수행하였다. 핵심 서식지 패치는 MaxEnt 모델에서 식별된 "핵심 지역"으로 지정되었으며, 대구광역시의 2021 도시 생태 현황 지도를 기반으로 저항 래스터 맵을 생성하였다. 저항값은 수달의 생태학적 특성과 Kwon (2020)의 연구 결과를 기반으로 1에서 30 사이의 범위로 할당되었다 (Figure 3.2). Linkage Mapper의 연결 경로와 연결 우선순위 도구를 사용하여 비용 가중 거리 (cost-weighted distance, CWD), 핵심 지역 간의 인접성, 최소 비용 경로 수를 고려한 우선 통로를 식별하였다. 비용 가중 거리는 핵심 서식지 간 이동에 필요한 최소 누적 비용을 나타내며, 상대적 접근성을 추정하는 데 사용되었다 (Kwon et al., 2021). 또한, 연결 경로를 기반으로 Circuitscape를 사용해 연결 네트워크 전반의 전류 흐름 중심성 (current flow centrality)을 계산하였다 (McRae, 2012). Centrality Mapper 도구는 각 핵심 서식지 지역의 연결 경로를 기반으로 중심성을 평가하는데 활용하였으며, 결과를 종합하여 전반적인 중심성 점수로 나타냈다.

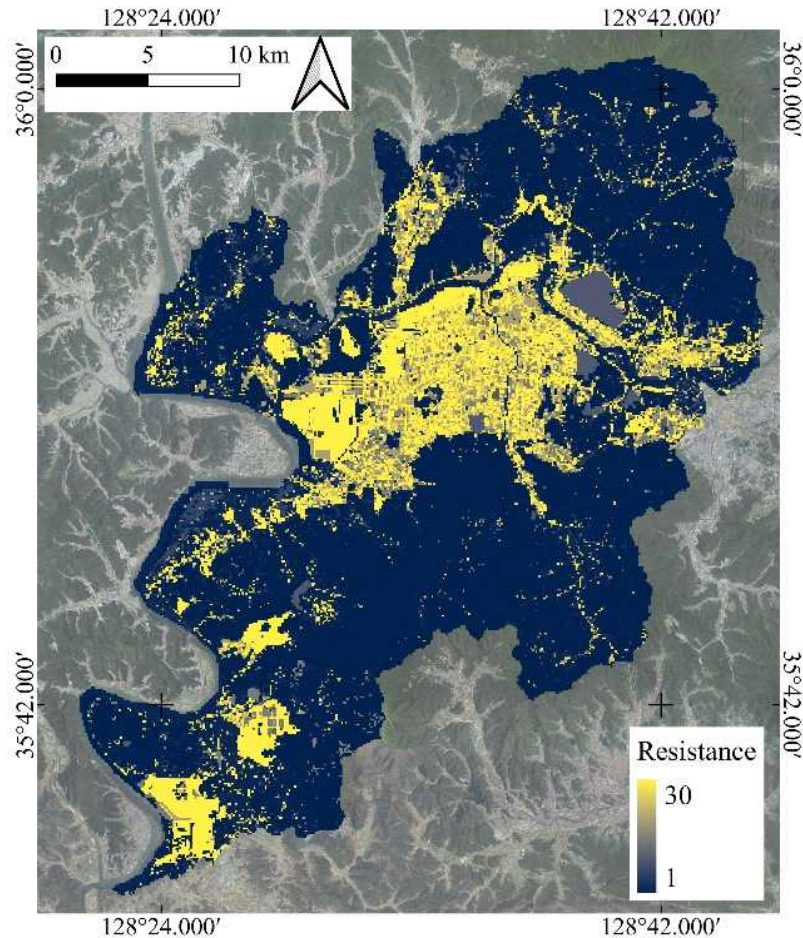


Figure 3.2 대구광역시 도시생태현황지도 기반 저항성 지도

3. 연구 결과

3.1 eDNA qPCR 분석 결과 기반 수달 분포 확인

qPCR 분석 결과, 32개의 샘플링 지점 중 25개 지점에서 수달 DNA가 검출되었다. 검출된 지점 중 가장 높은 농도는 주기 역치 값 (Ct, Cycle threshold) 24.7을 나타냈고, 가장 낮은 농도는 Ct 값 29.7에서 관찰되었다. Ct 값은 PCR 과정에서 양성을 확인할 수 있는 최소 사이클 수로 낮을수록 높은 농도를 나타낸다. 수달은 대구광역시의 수계 전반에 걸쳐 발견되었으며, 특히 인공 호수 (P_ 지점, 7개 중 6개)와 신천 (SC_ 지점, 7개 중 7개)에서 높은 DNA 농도가 관찰되었다 (평균 Ct 값 ± 표준편차 = 27.4 ± 1.4). 반면, 금호강(KH_ 지점, 10개 중 7개) 및 지류 (_S 지점, 8개 중 5개)에서는 상대적으로 낮은 농도가 기록되었다 (평균 Ct 값 ± 표준편차 = 28.6 ± 0.7). 이러한 결과는 수달이 강과 하천과 같은 자연 수생 환경뿐만 아니라, 저수지와 호수 공원과 같은 인간 활동이 집중된 인공적인 환경에서도 서식할 수 있음을 시사한다.

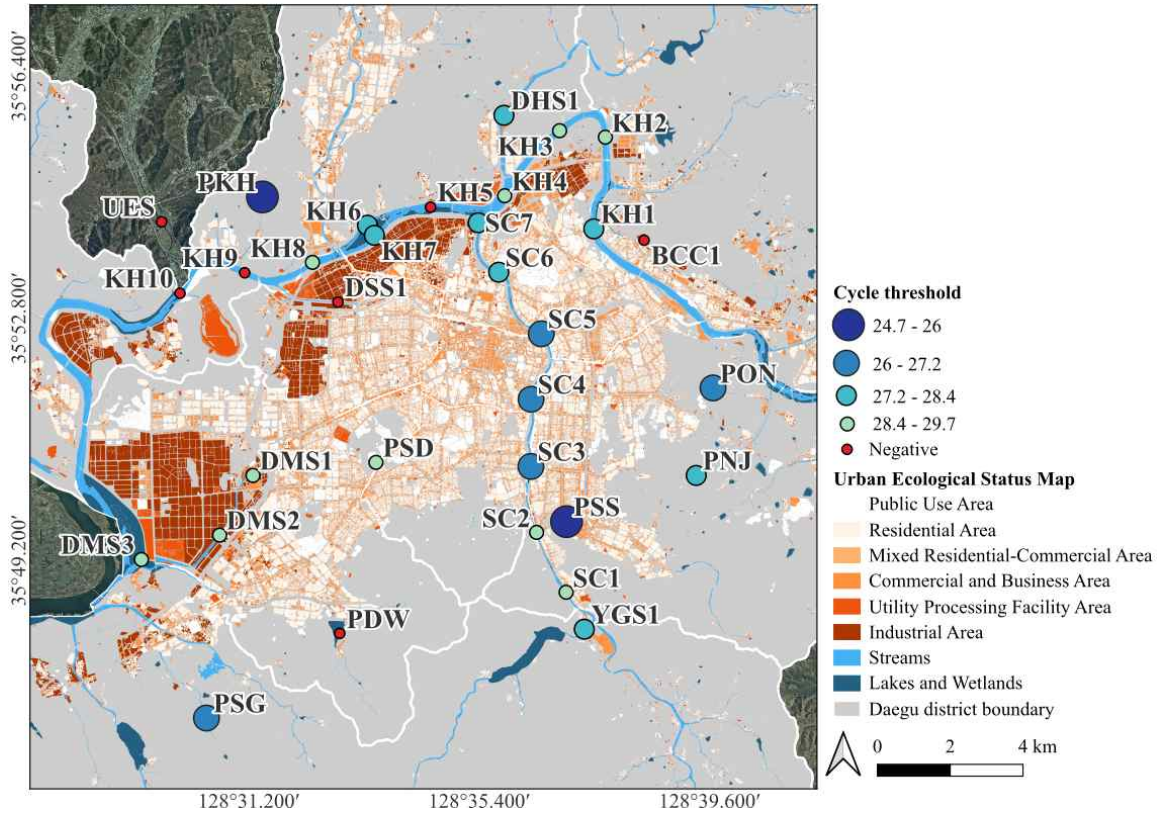


Figure 3.3 qPCR 기반 수질 검출 결과 및 Cycle threshold 결과

3.2 비생물적 및 생물적 요인이 수질 분포에 미치는 영향

eDNA 검출 결과를 기반으로 한 종 분포 모델링(MaxEnt) 분석에서, 모델 적합도는 AUC 값이 0.992로 높은 수준을 보였다. 주요 환경 변수 중에서 생태계 유형이 모델에 가장 큰 영향을 미쳤으며, 기여도는 46.2%로 나타났다 (Table 3.2). 그다음으로는 도로와의 거리 (12.5%)와 강수량 (11.4%)이 영향을 미쳤다. 적합 서식지로 평가된 지역은 자연환경인 산림(14.9%)과 강 (10.5%)뿐만 아니라, 교통 지대 (16.9%)와 주거지 (11.5%) 같은 인공환경도 포함되었다 (Figure 3.4). 그러나 이러한 인공환경은 실제 서식지로 활용되기 어렵고, 서식지 간 이동에 장벽으로 작용하거나 인간 활동과의 갈등 지역으로 기능할 가능성이 크다. 예를 들어, 녹지대가 없는 도로 (19.24km²)와 공항 주차장 (0.52km²) 인근에서 로드킬과 같은 사고 위험이 우려되며, 고층 아파트 단지 (4.08km²) 및 도심형 주거지 (5.49km²)에서는 인간과 수달의 잠재적 충돌이 예상된다.

Table 3.2 모델 결정 환경 변수 percent contribution 및 permutation importance

Variable	Percent contribution (%)	Permutation importance
Ecosystem type	46.2	12.6
Dist_road	12.5	47.4
Precip	11.4	1.9
Dist_water	9.2	33.2
Slope	9.1	0.9
AvrTemp	7.8	2.3
AvrLowTemp	1.5	0.2
AvrHighTemp	0.7	0.1
Dist_forest	0.7	0.1
DEM	0.7	0.9
Population	0.3	0.3

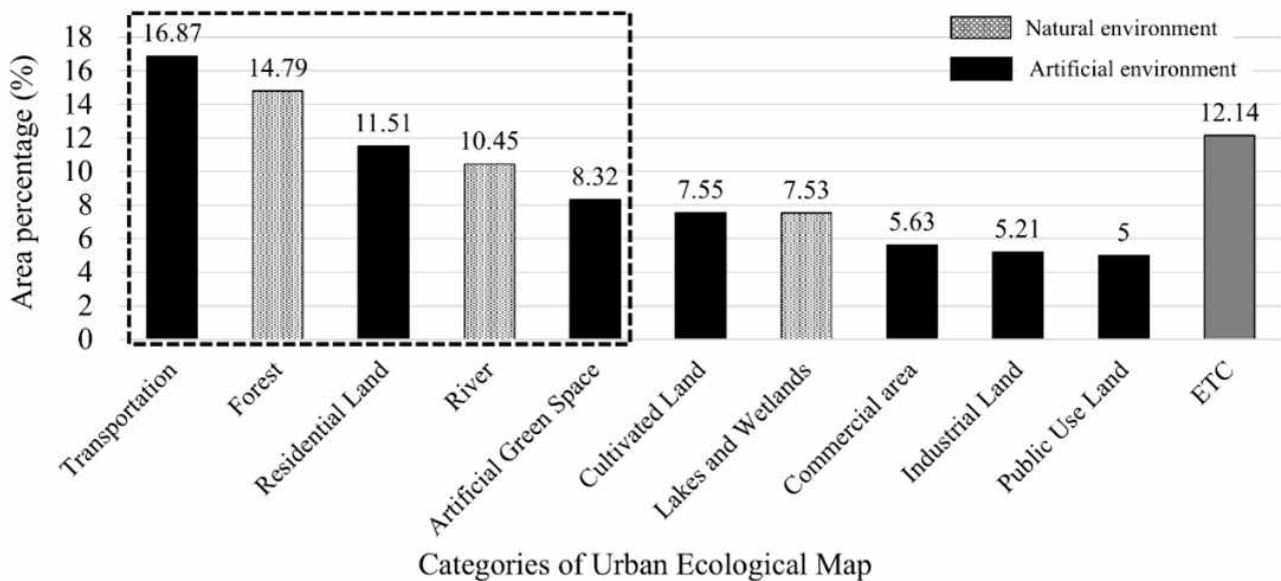


Figure 3.4 수달 서식 적합 지역으로 평가된 지역의 도시생태현황지도 유형별 비율

수달의 주요 먹이원인 어류의 분포와 수달 검출 결과 간의 상관관계를 평가한 결과, 종 다양성이나 특정 종의 우점도와 수달 검출 간에 유의미한 상관관계는 관찰되지 않았다. 대구광역시의 연구 지역에서는 총 50종의 어류 (18과)가 확인되었으며, 모든 지점에서의 평균 다양성은 3.1 ± 0.1 로 나타났다. 하천 (3.2 ± 0.1), 강 (3.1 ± 0.1), 저수지 (3.0 ± 0.1)의 어류 다양성은 큰 차이가 없었다. 수달의 DNA 검출 농도와 어류 다양성을 분석한 결과, 유의미한 차이가 없는 것으로 나타났다 ($y = -0.4169x + 29.544$, $R^2 = 0.0018$). 지배적인 어류 종은 버들치 (*Phoxinus oxycephalus*, 16개 지점), 참붕어 (*Pseudorasbora parva*, 13개 지점), 돌고기(*Pungtungia herzi*, 2개 지점), 미꾸라지 (*Misgurnus mizolepis*, 1개 지점)로 나타났다. 그러나 DNA 농도와 우점도 간의 상관관계도 유의미하지 않았다 ($y = -0.0027x + 1.0044$, $R^2 = 0.0053$). 이러한 결과는 수달이 서식지에 충분한 먹이가 존재하는 경우, 먹이 다양성과 관계없이 서식할 가능성이 높음을 시사한다.

Table 3.3 지점 별 어류군집 다양도 및 우점 어종

Study sites	Diversity(H)	Dominant sp.	Study sites	Diversity(H)	Dominant sp.
PDW*	3.07	<i>P. oxycephalic</i>	SC1	3.16	<i>P. oxycephalic</i>
PKH	3.19	<i>P. oxycephalic</i>	SC2	3.14	<i>P. oxycephalic</i>
PNJ	2.77	<i>P. parva</i>	SC3	3.24	<i>P. oxycephalic</i>
PON	3.01	<i>P. oxycephalic</i>	SC4	3.22	<i>P. herzi</i>
PSD	3.14	<i>P. oxycephalic</i>	SC5	3.1	<i>P. herzi</i>
PSG	3.1	<i>P. oxycephalic</i>	SC6	3.3	<i>P. parva</i>
PSS	3.01	<i>P. oxycephalic</i>	SC7	3.11	<i>P. parva</i>
KH1	3.19	<i>P. oxycephalic</i>	BCC1*	2.99	<i>P. parva</i>
KH2	3.3	<i>P. parva</i>	DHS1	3.16	<i>P. oxycephalic</i>
KH3	3.24	<i>P. oxycephalic</i>	DMS1	3.07	<i>P. oxycephalic</i>
KH4	2.96	<i>P. oxycephalic</i>	DMS2	2.79	<i>M. mizolepis</i>
KH5*	3.37	<i>P. parva</i>	DMS3	3.27	<i>P. parva</i>
KH6	2.95	<i>P. parva</i>	DSS1*	3.11	<i>P. parva</i>
KH7	3.36	<i>P. parva</i>	UES*	3.21	<i>P. parva</i>
KH8*	3.27	<i>P. oxycephalic</i>	YGS	3.22	<i>P. oxycephalic</i>
KH9*	3.25	<i>P. parva</i>			
KH10	3.27	<i>P. parva</i>			

*, Eurasian otter non-detection sites

3.3 핵심 서식지 도출 및 서식지 연결성 분석

MaxEnt 분포 모델의 cloglog 임계값을 0.026으로 설정한 결과, 대구 전체 면적 중 14.2% (125.17km²)가 적합 서식지로, 나머지 85.8% (753.22km²)가 부적합 지역으로 분류되었다. 서식지 적합성 예측값 상위 25% (예측값 > 0.21)에 해당하는 지역 중 최소 면적이 50,000m² 이상인 지역을 핵심 서식지 패치로 선정하였으며, 총 77개의 핵심 서식지 패치가 식별되었다 (Figure 3.5).

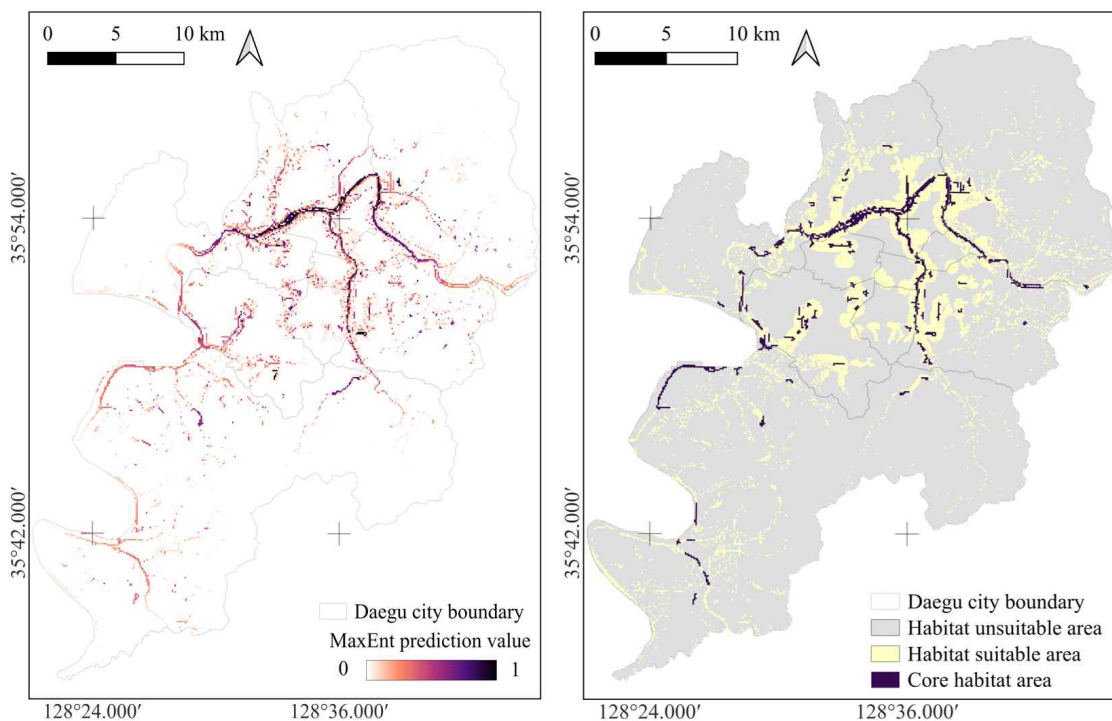


Figure 3.5 (좌) 잠재적 서식지 적합성 예측 값. 값이 높을수록 서식 적합 지역임 (우) 임계 값에 따라 지역을 적합-부적합으로 분류한 서식지 적합성 바이너리 맵.

핵심 서식지 간의 연결성을 분석한 결과, 신천과 금호강의 합류부 (패치 번호: 10, 13, 15, 17)가 가장 높은 중심성을 가지는 핵심 지역으로 나타났다. 금호강을 따라 위치한 패치 12, 16, 20 및 신천 상류 저수지에 위치한 패치 68도 핵심 지역으로 확인되었다. 이들 핵심 지역 주변의 하천 및 저수지는 서식지 패치 간 연결성을 강화할 가능성이 높은 지역으로 평가되었다 (Figure 3.6).

산림과 녹지 지역이 많은 지역, 또는 큰 수계 환경을 포함하는 지역은 핵심 서식지로 가능하며 높은 중심성과 연결성을 보였다. 반면, 대구 도심에 해당하는 중구 전체와 교통 시설 밀집 지역인 북구, 남구, 동구 일부는 고립된 지역으로 나타났다. 그러나 중구를 제외한 주변 산림과 강은 수달 이동 경로로 충분히 기능할 수 있는 것으로 평가되었다. 또한, 고립된 지역에 위치한 학교, 도서관, 공원, 체육시설 등 공공용지는 생태적 역할을 강조한 활용 계획을 통해 연결성을 개선하는 데 기여할 수 있다 (Appendix Figure 3.2).

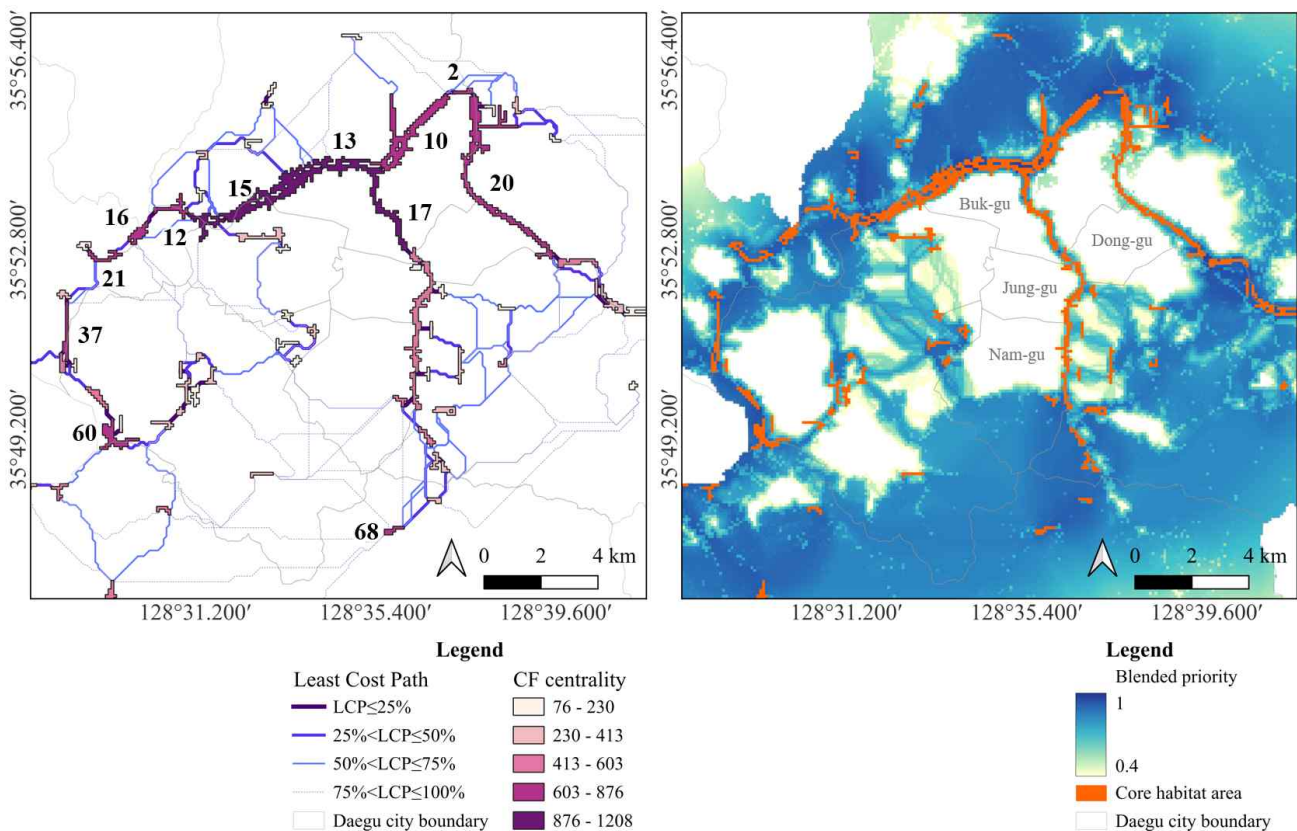


Figure 3.6 (좌) 핵심 서식지 지역 간의 최소 비용 경로와 전류 흐름(CF) 중심성. LCP 선의 굵기는 사이트 간의 근접성을 나타냄. (우) 연구 지역의 혼합 우선순위 코리더와 핵심 서식지.

4. 논의

4.1 관찰 데이터와 eDNA 분석을 통한 유라시아 수달 분포 비교

도심 환경에서 수달의 출현 빈도가 증가한 이유는 하천 생태계와 수질 개선으로 인해 수달의 주요 먹이 자원인 어류가 증가하고, 수달 보전 활동에 대한 인식이 높아졌기 때문으로 보인다. 본 연구는 수달이 대구광역시 전역에서 자연 및 인공 환경을 폭넓게 활용하고 있음을

확인하였다.

대구광역시가 2022년 7월부터 2023년 4월까지 독립적으로 진행한 ‘유라시아 수달 서식지 모니터링 조사’와 본 연구의 결과를 비교한 결과, 수달은 도심 전역에 고르게 분포하고 있었다. 특히 두 조사의 봄철 조사 기간 (2023년 4월 7일10일과 19일24일)이 겹치는 구간에서 동일한 조사 지점 7곳 (금호강, 신천, 성당못, 동화천, 용계천, 도원 저수지)이 선택되었다. 이들 지점의 eDNA 분석 결과는 전통적인 흔적 분석 결과와 대체로 일치했으며, 성당못처럼 흔적이 발견되지 않은 지점에서도 수달 DNA가 검출되었다.

eDNA 기반 생물학적 조사는 완벽한 검출을 보장하지는 않으며, 이는 PDW(도원 저수지)와 같이 수달 흔적이 존재하지만 DNA 검출이 이루어지지 않은 사례에서 확인되었다. 신뢰도 높은 양성 샘플을 확보하려면 조사 대상 지역의 크기와 목표 종에 따라 적절한 샘플 수를 설정해야 한다. 일반적인 종의 경우 15개 이하의 샘플로도 검출이 가능하지만, 희귀종의 경우 검출 확률을 높이기 위해 45~50개의 샘플이 필요하다 (Erickson et al., 2019; Smith et al., 2024).

이러한 한계에도 불구하고 eDNA 조사는 주요 종의 존재, 생물다양성, 생태계 건강 상태를 이해하는 데 효과적이며, 전통적인 관찰 방법을 보완할 수 있다. 예를 들어, 전통적 조사는 36개 지점에서 카메라 설치 및 현장 조사를 위해 2명 이상의 인력이 9~13일간 6회 방문해야 하는 반면, eDNA 조사는 32개 지점을 3일 간 3명이 조사할 수 있었다. 이와 같은 간단한 eDNA 샘플링은 비용과 노동력의 제약으로 간과되기 쉬운 도심의 이질적인 환경과 인공 서식지에서 종의 존재를 효과적으로 확인할 수 있었다.

4.2 도시 생태계의 인공 환경이 서식지로서 가지는 잠재력과 개선 필요성

유라시아 수달의 서식 강도는 다양한 자연적 요소, 예를 들어 하천의 이질적 구조, 큰 나무 조각의 풍부함, 지류 및 습지의 존재와 느린 유속 등에 긍정적인 영향을 받는다(Tolrà et al., 2024). 본 연구는 폭 넓은 강이나 녹지가 분포한 지역이 수달 서식지로서 필수적이라는 점을 강조하며, 이러한 지역에서 높은 중심성이 관찰되었다. 특히 도시 수생 생태계 복원 프로젝트에서 여울과 소, 범람원을 포함한 하천 구조 개선과 어류 복원 및 기타 생물 서식지 조성이 수달 서식 가능성을 높이는 데 기여한 것으로 보인다 (한국 환경부, 2023).

2015년 이후, 남한의 주요 도시에서는 강과 녹지의 균형 있는 개발이 이루어지며 수달 서식이 크게 증가한 사례가 관찰되었다 (Hong and Joo, 2021). 이전에는 도시화로 인해 강과 자연 녹지가 훼손되었지만, 최근에는 도시화와 보전 간의 균형을 맞춘 결과로 평가된다. 또한, 본 연구는 높은 수준의 인간 활동이 있는 저수지와 공원에서도 수달이 분포하고 있음을 확인하였다. 이는 인간이 거주하는 지역에서도 수달 서식이 가능하며, 인공 환경이 휴식처나 먹이 서식지로 활용될 수 있음을 나타낸다 (Lee et al., 2023). 작고 생태적 특성을 고려한 인공 서식지는 핵심 서식지 간 연결성을 개선하는 디딤돌 역할을 할 수 있다. 특히, 크고 지속 가능한 녹지나 수생 패치는 서식지 네트워크 연결성을 20% 이상 향상시키고, 핵심 서식지의 안정성을 높일 수 있다 (Chen et al., 2017; Richmond et al., 2024). 대구 도심 중심부의 녹지와 수변 공간 조성은 수달 이동성을 높이고, 핵심 서식지 간 연결성을 강화하는데 중요한 기여 할 수 있을 것이다.

IV. 연구 결론

본 연구는 도시 수생태계의 생물다양성 보전을 위해 eDNA 기반 생물 모니터링을 활용한 효과적인 방법론을 제시하고자 하였다. 이를 위해 안양천 수계를 대상으로 한 도시하천의 베타 다양성 모니터링과 대구광역시를 중심으로 수달의 서식지 적합성과 연결성 분석을 수행하였다.

‘도시하천 생물다양성 평가를 위한 메타바코딩 기반 베타다양성 모니터링’ 연구에서는 안양천 수계에서 여름과 가을 두 계절에 걸쳐 메타바코딩을 통해 어류 군집의 계절별 베타다양성 패턴을 평가하였다. 분석 결과, 여름에는 풍부도 차이(Richness Difference)가 베타다양성을 변화시키는데 더 큰 영향을 미쳤으며, 가을에는 종 대체(Replacement)가 상대적으로 중요하게 작용하였다. 주요 생물다양성 기여 종은 여름과 가을에 걸쳐 달라졌으며, 이는 계절별 환경 변화와 생물다양성이 밀접하게 연관되어 있음을 시사했다. 또한, 안양천 수계의 상류 지역과 상류 지역에 서식하는 버들치와 같은 특정 종이 베타다양성에 중요한 기여를 하는 것으로 나타나, 이러한 공간과 종을 보전의 우선순위로 삼아야 함을 확인하였다. 10월과 같이 환경이 안정화되는 시기에는 광범위하게 확산되는 침입종 관리가 중요하다는 점도 강조되었다. eDNA 검출 결과는 안양천 수계의 생물다양성을 계절의 영향을 받지 않고 균일하게 검출해냈다. 하지만 eDNA는 절대적인 풍부도를 추정하는 데 한계가 있으며 생태적 특성에 따른 위양성-위음성 오류와 연속적인 환경에서 DNA 이동에 따라 발생할 수 있는 오류 가능성을 배제하지 못했다는 점에서 연구 한계가 발생한다. 또한 베타다양성 변화에 미치는 환경 요인을 선정하는데 있어 생물 분포에 주요한 영향을 미치는 강우의 영향을 고려하지 못하는 점에서 연구 결과를 해석하는데 제한이 있다. 그럼에도 불구하고 본 연구는 메타바코딩을 활용한 eDNA 기반 모니터링이 도시하천 생물다양성 평가에 있어 도구로 작용할 수 있음을 보여주었으며, 계절적 생물다양성 변화 및 주요 기여 종과 공간의 확인을 통해 도시생태계 보전과 관리 전략 수립에 실질적인 기초 자료를 제공했다. ‘환경 DNA를 활용한 도심 수달 서식지 적합성 평가 및 핵심 서식지 연결성 분석’ 연구는 대구광역시를 대상으로 진행되어 멸종위기종인 수달의 출현 데이터를 기반으로 서식지 적합성과 서식지 간 연결성을 평가하였다. 수달의 DNA는 총 32개 지점 중 25개 지점에서 확인되며 대상지 전역에 걸쳐 수달이 서식하는 것으로 추정되었다. 서식지 적합성 분석 결과, 자연 환경 뿐만 아니라 인공적인 환경에서도 수달의 서식이 가능함을 확인하였으며, 서식지에 분포하는 어류의 다양도와 우점 어종에 영향없이 서식이 가능한 것으로 추정되었다. 상류 지역과 신천-금호강 합류부가 다수의 코리더를 보유하며 핵심 서식지로 기능하는 것으로 나타났다. 또한 인공적으로 조성된 저수지나 연못이 핵심 서식지 간 연결성을 높이는 중간 연결점 역할을 하는 것으로 판단되었다. 한편 상업 지역으로 개발된 대구광역시 중구와 같은 도심지는 수달의 이동을 저해하는 이동 취약 지역으로 확인되었으며 일부 서식 적합 지역으로 평가된 시가화 지역은 인간과 수달의 충돌 지점이 될 것이라 판단되었다. 즉, 충돌이 예상되는 지역 및 낮은 연결성을 나타내는 지역에서의 서식지 복원과 보전 활동이 우선적으로 이루어져야함을 시사한다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 환경 DNA는 생물다양성 변화에 영향을 미치는 환경 요인을 규명하고 잠재적 서식지를 예측하는데 효율적이고 선제적인 정보를 제공할 수 있는 도구임을 확인할 수 있다.

참고문헌

- Adriaensen, F., Chardon, J.P., De Blust, G., Swinnen, E., Villalba, S., Gulinck, H., Matthysen, E., 2003. The application of 'least-cost' modelling as a functional landscape model. *Landsc Urban Plan* 64, 233-247. [https://doi.org/10.1016/S0169-2046\(02\)00242-6](https://doi.org/10.1016/S0169-2046(02)00242-6)
- Anyang city, 2022. Business performance- Anyang's ecological organizations [WWW Document]. URL <https://www.anyang.go.kr/river/contents.do?key=1972> (accessed 1.27.22).
- Baek, H.-M., Song, H.-B., Cho, D.-H., 2006. Reproductive Ecology of the Pale Chub, *Zacco platypus* in a Tributary to the Han River. *Korean Journal of Ichthyology* 18, 193-201.
- Baselga, A., 2010. Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography* 19, 134-143. <https://doi.org/10.1111/J.1466-8238.2009.00490.X>
- Borden, J.B., Flory, S.I., 2021. Urban evolution of invasive species. *Front Ecol Environ* 19, 184-191. <https://doi.org/10.1002/FEE.2295>
- Breton, B.A.A., Beaty, L., Bennett, A.M., Kyle, C.J., Lesbarrères, D., Vilaça, S.T., Wikston, M.J.H., Wilson, C.C., Murray, D.L., 2022. Testing the effectiveness of environmental DNA (eDNA) to quantify larval amphibian abundance. *Environmental DNA* 00, 1-12. <https://doi.org/10.1002/EDN3.332>
- Bustin, S., Huggett, J., 2017. qPCR primer design revisited. *Biomol Detect Quantif* 14, 19-28. <https://doi.org/10.1016/J.BDQ.2017.11.001>
- Buxton, A.S., Groombridge, J.J., Zakaria, N.B., Griffiths, R.A., 2017. Seasonal variation in environmental DNA in relation to population size and environmental factors. *Sci Rep* 7, 1-10. <https://doi.org/10.1038/srep46294>
- Chen, C., Meurk, C.D., Jia, Z., Lv, M., Wu, S., Jia, J., 2017. Incorporating landscape connectivity into household pond configuration in a hilly agricultural landscape. *Landscape and Ecological Engineering* 13, 189-204. <https://doi.org/10.1007/S11355-016-0317-3/FIGURES/8>
- Da Silva Neto, J.G., Sutton, W.B., Spear, S.F., Freake, M.J., Kéry, M., Schmidt, B.R., 2020. Integrating species distribution and occupancy modeling to study hellbender (*Cryptobranchus alleganiensis*) occurrence based on eDNA surveys. *Biol Conserv* 251, 108787. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108787>
- Daegu Metropolitan City, 2023. Daegu Metropolitan City Otter Habitat Monitoring Survey. Daegu.
- DeWoody, J.A., Fletcher, D.E., Wilkins, S.D., Nelson, W.S., Avise, J.C., 2000. Genetic monogamy and biparental care in an externally fertilizing fish, the largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267, 2431. <https://doi.org/10.1098/RSPB.2000.1302>
- Di Muri, C., Handley, L.L., Bean, C.W., Li, J., Peirson, G., Sellers, G.S., Walsh, K., Watson, H. V., Winfield, I.J., Hänfling, B., 2020. Read counts from environmental DNA (eDNA) metabarcoding reflect fish abundance and biomass in drained ponds. *Metabarcoding Metagenom* 4, 97-112. <https://doi.org/10.3897/MBMG.4.56959>
- Ekroos, J., ödman, A.M., Andersson, G.K.S., Birkhofer, K., Herbertsson, L., Klatt, B.K., Olsson, O., Olsson, P.A., Persson, A.S., Prentice, H.C., Rundlöf, M., Smith, H.G., 2016. Sparing land for biodiversity at multiple spatial scales. *Front Ecol Evol*. <https://doi.org/10.3389/fevo.2015.00145>
- Erickson, R.A., Merkes, C.M., Mize, E.L., 2019. Sampling Designs for Landscape-level eDNA Monitoring Programs. *Integr Environ Assess Manag* 15, 760-771. <https://doi.org/10.1002/IEAM.4155>
- Erlinge, S., 1967. Home Range of the Otter *Lutra lutra* L. in Southern Sweden. *Oikos* 18, 186. <https://doi.org/10.2307/3565098>
- Everts, T., Van Driessche, C., Neyrinck, S., De Regge, N., Descamps, S., De Vocht, A., Jacquemyn, H., Brys, R., 2022. Using quantitative eDNA analyses to accurately estimate American bullfrog abundance and to evaluate management efficacy. *Environmental DNA* 4, 1052-1064. <https://doi.org/10.1002/EDN3.301>
- Foltête, J.C., Clauzel, C., Vuidel, G., Tournant, P., 2012. Integrating graph-based connectivity metrics into species distribution models. *Landsc Ecol* 27, 557-569. <https://doi.org/10.1007/S10980-012-9709-4/FIGURES/4>
- Francis, R.A., Chadwick, M.A., 2015. Urban invasions: non-native and invasive species in cities. *Geography* 100, 144-151. <https://doi.org/10.1080/00167487.2015.12093969>
- Fukumoto, S., Ushimaru, A., Minamoto, T., 2015. A basin-scale application of environmental DNA

- assessment for rare endemic species and closely related exotic species in rivers: A case study of giant salamanders in Japan. *Journal of Applied Ecology* 52, 358-365.
<https://doi.org/10.1111/1365-2664.12392>
- Gallo, J.A., R. Greene, 2018. Connectivity Analysis Software for Estimating Linkage Priority. OR.
<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5673715>
- Harper, L.R., Watson, H. V., Donnelly, R., Hampshire, R., Sayer, C.D., Breithaupt, T., Hänfling, B., 2020. Using DNA metabarcoding to investigate diet and niche partitioning in the native European otter (*Lutra lutra*) and invasive American mink (*Neovison vison*). *Metabarcoding and Metagenomics* 4: e56087 4, e56087-. <https://doi.org/10.3897/MBMG.4.56087>
- Hertwig, D., Grimmond, S., Hendry, M.A., Saunders, B., Wang, Z., Jeoffrion, M., Vidale, P.L., McGuire, P.C., Bohnenstengel, S.I., Ward, H.C., Kotthaus, S., 2020. Urban signals in high-resolution weather and climate simulations: role of urban land-surface characterisation. *Theor Appl Climatol* 142, 701-728. <https://doi.org/10.1007/S00704-020-03294-1>
- Hong, S., Joo, G.J., 2021. Secondary forest development during urbanization sustains apex carnivore populations of Eurasian otters (*Lutra lutra*). *Landsc Urban Plan* 208, 104021.
<https://doi.org/10.1016/J.LANDURBPLAN.2020.104021>
- Hubert, W., Pope, K., Dettmers, J., 2012. Passive Capture Techniques. Nebraska Cooperative Fish & Wildlife Research Unit -- Staff Publications.
- Jamwal, P.S., Bruno, A., Galimberti, A., Magnani, D., Casiraghi, M., Loy, A., 2023. Environmental DNA revealed high accuracy in detection of the Eurasian otter in Himalaya. *Aquat Conserv* 33, 1309-1320. <https://doi.org/10.1002/AQC.4010>
- Jia, Y.T., Chen, Y.F., 2013. River health assessment in a large river: Bioindicators of fish population. *Ecol Indic* 26, 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.10.011>
- Kadoya, T., 2009. Assessing functional connectivity using empirical data. *Popul Ecol* 51, 5-15.
<https://doi.org/10.1007/S10144-008-0120-6/FIGURES/4>
- Kang, J.G., Hong, I., Nam, D.H., 2024. Monitoring Study on Major Movement Route of Bass for the Management of Exotic Fishes in Nakdong-Daieo Ecological Park. *Ecology and Resilient Infrastructure* 2024 11:1 11, 1-10. <https://doi.org/10.17820/ERI.2024.11.1.001>
- Kang, Y., Han, S., Song, Y., 2024a. Optimising eDNA analysis for urban otter monitoring: seasonal patterns, detection strategies and prey availability. *Metabarcoding and Metagenomics* 8: e115512 8, e115512-. <https://doi.org/10.3897/MBMG.8.115512>
- Kang, Y., Shin, W., Kim, Y., Song, Y., 2024. Land use characteristics affect the sub-basinal scale urban fish community identified by environmental DNA metabarcoding. *Landscape and Ecological Engineering* 20, 163-185. <https://doi.org/10.1007/S11355-023-00587-1/TABLES/4>
- Kang, Y., Shin, W., Kim, Y., Song, Y., 2024b. Land use characteristics affect the sub-basinal scale urban fish community identified by environmental DNA metabarcoding. *Landscape and Ecological Engineering* 20, 163-185. <https://doi.org/10.1007/S11355-023-00587-1/TABLES/4>
- Karr, J.R., 1981. Assessment of Biotic Integrity Using Fish Communities. *Fisheries (Bethesda)* 6, 21-27.
[https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1981\)006<0021:aobiuf>2.0.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1981)006<0021:aobiuf>2.0.co;2)
- Kim, G., Song, Y., 2021. Identification of Freshwater Fish Species in Korea Using Environmental DNA Technique-From the Experiment at the Freshwater Fish Ecological Learning Center in Yangpyeong, Gyeonggi Do. *J. Environ. Impact Assess* 30, 1-12. <https://doi.org/10.14249/eia.2021.30.1.1>
- Korea Ministry of Environment, 2016. Best Practices for Ecological Rivers Visitor Experience and Education Programs.
- Korea Ministry of Environment, 2023. Urban Ecological Corridor Restoration Project Guidelines.
- Krehenwinkel, H., Wolf, M., Lim, J.Y., Rominger, A.J., Simison, W.B., Gillespie, R.G., 2017. Estimating and mitigating amplification bias in qualitative and quantitative arthropod metabarcoding. *Scientific Reports* 2017 7:1 7, 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17333-x>
- Kwak, T.J., 1988. Lateral movement and use of floodplain habitat by fishes of the Kankakee River, Illinois. *American Midland Naturalist* 120, 241-249. <https://doi.org/10.2307/2425995>
- Kwon, O., 2020. The Improvement of Green Network for Environmental Conservation in Metropolitan City-using Circuit Theory and API Information- (Ph.D thesis). Graduate School of Kyungpook National University, Daegu.
- Kwon, O.S., Kim, J.H., Ra, J.H., 2021. Landscape Ecological Analysis of Green Network in Urban Area Using Circuit Theory and Least-Cost Path. *Land* 2021, Vol. 10, Page 847 10, 847.
<https://doi.org/10.3390/LAND10080847>

- Lee, G.-J., Cho, H.J., Cheon, S.J., Lee, H.Y., 2023. Habitat selection of Eurasian otters (*Lutra lutra*) in urban rivers: the effects of urbanization, water quality, and river structure. <https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-3595561/V1>
- Legendre, P., 2014. Interpreting the replacement and richness difference components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography* 23, 1324-1334. <https://doi.org/10.1111/GEB.12207/SUPPINFO>
- Legendre, P., Borcard, D., Peres-Neto, P.R., 2005. ANALYZING BETA DIVERSITY: PARTITIONING THE SPATIAL VARIATION OF COMMUNITY COMPOSITION DATA. *Ecol Monogr* 75, 435-450. <https://doi.org/10.1890/05-0549>
- Legendre, P., De Cáceres, M., 2013. Beta diversity as the variance of community data: dissimilarity coefficients and partitioning. *Ecol Lett* 16, 951-963. <https://doi.org/10.1111/ELE.12141>
- Liczner, A.R., Pither, R., Bennett, J.R., Bowman, J., Hall, K.R., Fletcher, R.J., Ford, A.T., Michalak, J.L., Rayfield, B., Wittische, J., Pither, J., 2024. Advances and challenges in ecological connectivity science. *Ecol Evol* 14, e70231. <https://doi.org/10.1002/ECE3.70231>
- Lintermans, M., 2016. Finding the needle in the haystack: Comparing sampling methods for detecting an endangered freshwater fish. *Mar Freshw Res* 67, 1740-1749. <https://doi.org/10.1071/MF14346>
- Lorenzoni, M., Martin Dörr, A.J., Erra, R., Giovinazzo, G., Mearelli, M., Selvi, S., 2002. Growth and reproduction of largemouth bass (*Micropterus salmoides* Lacépède, 1802) in Lake Trasimeno (Umbria, Italy). *Fish Res* 56, 89-95. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(01\)00309-5](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(01)00309-5)
- Martin, J., Kitchens, W.M., Hines, J.E., 2007. Importance of well-designed monitoring programs for the conservation of endangered species: case study of the snail kite. *Conserv Biol* 21, 472-481. <https://doi.org/10.1111/J.1523-1739.2006.00613.X>
- Martínez-Abraín, A., Marí-Mena, N., Vizcaíno, A., Vierna, J., Veloy, C., Amboage, M., Guitián-Caamaño, A., Key, C., Vila, M., 2020. Determinants of Eurasian otter (*Lutra lutra*) diet in a seasonally changing reservoir. *Hydrobiologia* 847, 1803-1816. <https://doi.org/10.1007/S10750-020-04208-Y/FIGURES/3>
- Mayer, A.L., Cameron, G.N., 2003. Consideration of grain and extent in landscape studies of terrestrial vertebrate ecology. *Landsc Urban Plan* 65, 201-217. [https://doi.org/10.1016/S0169-2046\(03\)00057-4](https://doi.org/10.1016/S0169-2046(03)00057-4)
- McRae, B., 2012. Centrality Mapper Connectivity Analysis Software. Seattle WA.
- Ministry of Environment, 2017a. 4th National Natural Environment Survey: Ichthyofauna from midstream catchment of Anyang stream.
- Ministry of Environment, 2017b. 4th National Natural Environment Survey: Ichthyofauna from upstream catchment of Anyang stream.
- Miya, M., Gotoh, R.O., Sado, T., 2020. MiFish metabarcoding: a high-throughput approach for simultaneous detection of multiple fish species from environmental DNA and other samples. *Fisheries Science* 2020 86:6 86, 939-970. <https://doi.org/10.1007/S12562-020-01461-X>
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J.Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., Iwasaki, W., 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R Soc Open Sci* 2, 150088. <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>
- Mize, E.L., Erickson, R.A., Merkes, C.M., Berndt, N., Bockrath, K., Credico, J., Grueneis, N., Merry, J., Mosel, K., Tuttle-Lau, M., Von Ruden, K., Woiak, Z., Amberg, J.J., Baerwaldt, K., Finney, S., Monroe, E., 2019. Refinement of eDNA as an early monitoring tool at the landscape-level: study design considerations. *Ecological Applications* 29, e01951. <https://doi.org/10.1002/EAP.1951>
- Munro, A.D., Scott, A.P., Lam, T.J., 2019. Reproductive Seasonality in Teleosts. *Reproductive Seasonality in Teleosts*. <https://doi.org/10.1201/9780367811372/REPRODUCTIVE-SEASONALITY-TELEOSTS-LAM-ANGUS-MUNRO-ALEXANDER-SCOTT>
- National Institute of Biological Resources, 2018. Endangered species at a glance. Hwangyeongbu Gungnip Saengmul Jawongwan.
- National Institute of Biological Resources, 2021. Red Data Book of Republic of Korea (second edition) Volume 4. Mammals. Incheon.
- Nichols, R. V., Vollmers, C., Newsom, L.A., Wang, Y., Heintzman, P.D., Leighton, M., Green, R.E., Shapiro, B., Ruth Nichols, C. V., 2018. Minimizing polymerase biases in metabarcoding. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12895>
- O'donnell, J.L., Kelly, R.P., Lowell, N.C., Port, J.A., 2016. Indexed PCR Primers Induce Template-Specific

- Bias in Large-Scale DNA Sequencing Studies. *PLoS One* 11, e0148698. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0148698>
- Park, H.C., Han, T.Y., Kim, D.C., Min, M.S., Han, S.Y., Kim, K.S., Lee, H., 2011. Individual identification and sex determination of Eurasian otters (*Lutra lutra*) in Daegu city based on genetic analysis of otter spraint. *Genes Genomics* 33, 653-657. <https://doi.org/10.1007/s13258-011-0051-z>
- Paul, M.J., Meyer, J.L., 2001. Streams in the Urban Landscape. *Annu Rev Ecol Syst* 32, 333-365. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114040>
- Pont, D., Meulenbroek, P., Bammer, V., Dejean, T., Erős, T., Jean, P., Lenhardt, M., Nagel, C., Pekarik, L., Schabuss, M., Stoeckle, B.C., Stoica, E., Zornig, H., Weigand, A., Valentini, A., 2023. Quantitative monitoring of diverse fish communities on a large scale combining eDNA metabarcoding and qPCR. *Mol Ecol Resour* 23, 396-409. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13715>
- Ranta, E., Vidal-Abarca, M.R., Calapez, A.R., Feio, M.J., 2021. Urban stream assessment system (UsAs): An integrative tool to assess biodiversity, ecosystem functions and services. *Ecol Indic* 121. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106980>
- Raphae, R., Pé Lissier, R., Couteron, P., Dray, S.P., Sabatier, D., 2003. CONSISTENCY BETWEEN ORDINATION TECHNIQUES AND DIVERSITY MEASUREMENTS: TWO STRATEGIES FOR SPECIES OCCURRENCE DATA. *Ecology* 84, 242-251. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2003\)084](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2003)084)
- Richmond, I.C., Perron, M.C., Boyle, S.P., Pick, F.R., 2024. Connectivity of stormwater ponds impacts Odonata abundance and species richness. *Landsc Ecol* 39, 1-16. <https://doi.org/10.1007/S10980-024-01817-Z/FIGURES/5>
- Rodrigue, J.P., 2024. The geography of transport systems. *The Geography of Transport Systems* 1-402. <https://doi.org/10.4324/9781003343196>
- Roy, A.H., Capps, K.A., El-Sabaawi, R.W., Jones, K.L., Parr, T.B., Ramírez, A., Smith, R.F., Walsh, C.J., Wenger, S.J., 2016. Urbanization and stream ecology: diverse mechanisms of change. University of Chicago Press. <https://doi.org/10.1086/685097>
- Ruiz-Olmo, J., Jiménez, J., 2009. Diet diversity and breeding of top predators are determined by habitat stability and structure: A case study with the Eurasian otter (*Lutra lutra* L.). *Eur J Wildl Res* 55, 133-144. <https://doi.org/10.1007/S10344-008-0226-3/FIGURES/6>
- Sard, N.M., Herbst, S.J., Nathan, L., Uhrig, G., Kanefsky, J., Robinson, J.D., Scribner, K.T., 2019. Comparison of fish detections, community diversity, and relative abundance using environmental DNA metabarcoding and traditional gears. *Environmental DNA* 1, 368-384. <https://doi.org/10.1002/edn3.38>
- Sato, Y., Miya, M., Fukunaga, T., Sado, T., Iwasaki, W., 2018. MitoFish and MiFish Pipeline: A Mitochondrial Genome Database of Fish with an Analysis Pipeline for Environmental DNA Metabarcoding. *Mol Biol Evol* 35, 1553-1555. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSY074>
- Schenekar, T., Schletterer, M., Lecaudey, L.A., Weiss, S.J., 2020. Reference databases, primer choice, and assay sensitivity for environmental metabarcoding: Lessons learnt from a re-evaluation of an eDNA fish assessment in the Volga headwaters. *River Res Appl* 36, 1004-1013. <https://doi.org/10.1002/RRA.3610>
- Shannon, C.E., 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell system technical* 379-423.
- Siddig, A.A.H., Ellison, A.M., Ochs, A., Villar-Leeman, C., Lau, M.K., 2016. How do ecologists select and use indicator species to monitor ecological change? Insights from 14 years of publication in *Ecological Indicators*. *Ecol Indic* 60, 223-230. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2015.06.036>
- Simpson, E.H., 1949. Measurement of Diversity. *Nature* 163, 688-688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Singh Jamal, P., Bruno, A., Galimberti, A., Magnani, D., Kpura, H., Ccasiraghi, M., Loy, A., 2022. First assessment of eDNA-based detection approach to monitor the presence of Eurasian otter in Southern Italy. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 32, 176-181. <https://doi.org/10.4404/HYSTRIX-00401-2020>
- Sint, D., Raso, L., Traugott, M., 2012. Advances in multiplex PCR: balancing primer efficiencies and improving detection success. *Methods Ecol Evol* 3, 898-905. <https://doi.org/10.1111/J.2041-210X.2012.00215.X>
- Skelton, J., Cauvin, A., Hunter, M.E., 2022. Environmental DNA metabarcoding read numbers and their variability predict species abundance, but weakly in non-dominant species. *Environmental DNA* 00, 1-13. <https://doi.org/10.1002/EDN3.355>
- Smiroldo, G., Balestrieri, A., Remonti, L., Prigioni, C., n.d. Seasonal and habitat-related variation of

- otter *Lutra lutra* diet in a Mediterranean river catchment (Italy).
- Smith, J., David, B., Hicks, A., Wilkinson, S., Ling, N., Fake, D., Suren, A., Gault, A., 2024. Optimizing eDNA Replication for Standardized Application in Lotic Systems in Aotearoa, New Zealand. *Environmental DNA* 6, e70017. <https://doi.org/10.1002/EDN3.70017>
- Socolar, J.B., Gilroy, J.J., Kunin, W.E., Edwards, D.P., 2016. How Should Beta-Diversity Inform Biodiversity Conservation? *Trends Ecol Evol* 31, 67-80. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2015.11.005>
- Sohn, H., Song, Y., 2024. Monitoring of mammal and bird species in an urban ecological park using environmental DNA metabarcoding. *Urban Ecosyst* 1-14. <https://doi.org/10.1007/S11252-024-01557-7/TABLES/2>
- Sreekar, R., Katabuchi, M., Nakamura, A., Corlett, R.T., Slik, J.W.F., Fletcher, C., He, F., Weiblen, G.D., Shen, G., Xu, H., Sun, I.F., Cao, K., Ma, K., Chang, L.W., Cao, M., Jiang, M., Gunatilleke, I.A.U.N., Ong, P., Yap, S., Gunatilleke, C.V.S., Novotny, V., Brockelman, W.Y., Xiang, W., Mi, X., Li, X., Wang, X., Qiao, X., Li, Y., Tan, S., Condit, R., Harrison, R.D., Pin Koh, L., 2018. Spatial scale changes the relationship between beta diversity, species richness and latitude. *R Soc Open Sci* 5. <https://doi.org/10.1098/RSOS.181168>
- Stoner, A.W., 2004. Effects of environmental variables on fish feeding ecology: implications for the performance of baited fishing gear and stock assessment. *J Fish Biol* 65, 1445-1471. <https://doi.org/10.1111/J.0022-1112.2004.00593.X>
- Taylor, P.D., Fahrig, L., With, K.A., 2006. Landscape connectivity: a return to the basics. *Connectivity Conservation* 29-43. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511754821.003>
- THOMSEN, P.F., KIELGAST, J., IVERSEN, L.L., WIJF, C., RASMUSSEN, M., GILBERT, M.T.P., ORLANDO, L., WILLERSLEV, E., 2012. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Mol Ecol* 21, 2565-2573. <https://doi.org/10.1111/J.1365-294X.2011.05418.X>
- Tolrà, A., Ruiz-Olmo, J., Riera, J.L., 2024. Human disturbance and habitat structure drive eurasian otter habitat selection in heavily anthropized river basins. *Biodiversity and Conservation* 2024 33:5 33, 1683-1710. <https://doi.org/10.1007/S10531-024-02826-9>
- Ushio, M., Murata, K., Sado, T., Nishiumi, I., Takeshita, M., Iwasaki, W., Miya, M., 2018. Demonstration of the potential of environmental DNA as a tool for the detection of avian species. *Sci Rep* 8, 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22817-5>
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P.F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E., Boyer, F., Gaboriaud, C., Jean, P., Poulet, N., Roset, N., Copp, G.H., Geniez, P., Pont, D., Argillier, C., Baudoin, J.M., Peroux, T., Crivelli, A.J., Olivier, A., Acqueberge, M., Le Brun, M., Møller, P.R., Willerslev, E., Dejean, T., 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol Ecol* 25, 929-942. <https://doi.org/10.1111/mec.13428>
- Vasudev, D., Fletcher, R.J., Goswami, V.R., Krishnadas, M., 2015. From dispersal constraints to landscape connectivity: lessons from species distribution modeling. *Ecography* 38, 967-978. <https://doi.org/10.1111/ECOG.01306>
- Whittaker, R.H., 1972. EVOLUTION AND MEASUREMENT OF SPECIES DIVERSITY. *Taxon* 21, 213-251. <https://doi.org/10.2307/1218190>
- Zhang, H., Yoshizawa, S., Iwasaki, W., Xian, W., 2019. Seasonal Fish Assemblage Structure Using Environmental DNA in the Yangtze Estuary and Its Adjacent Waters. *Front Mar Sci* 6, 515. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00515>
- Zhang, Y., Ma, K., Anand, M., Ye, W., Fu, B., 2015. Scale dependence of the beta diversity-scale relationship. *Community Ecology* 16, 39-47. <https://doi.org/10.1556/168.2015.16.1.5>

부록

II. 도시하천 생물다양성 평가를 위한 메타바코딩 기반 베타다양성 모니터링

Appendix Table 2.1 Species list from eDNA metabarcoding used in diversity analysis

: https://drive.google.com/drive/folders/1rs_mYVgj9Galcp9FgxBT5dd8iCeXEEi-?usp=drive_link

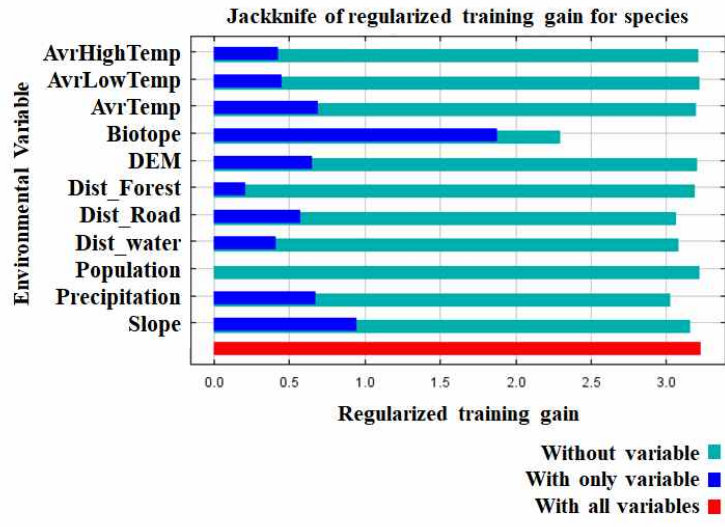
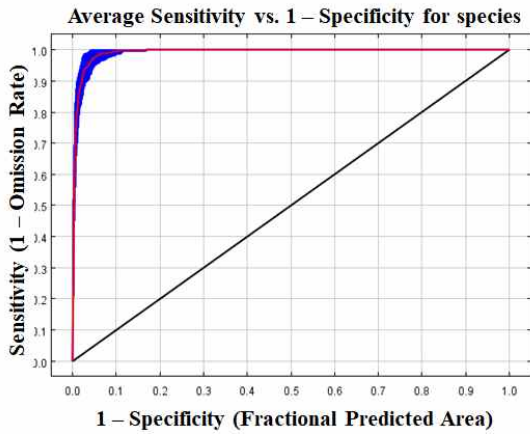
Appendix Table 2.2 Species excluded from eDNA metabarcoding analysis

: https://drive.google.com/drive/folders/1rs_mYVgj9Galcp9FgxBT5dd8iCeXEEi-?usp=drive_link

Appendix Table 2.3 Species excluded from eDNA metabarcoding analysis

July		
	Variable	AUC
LCBD	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg + Abundance	-290.28
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + Abundance	-292
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr	-293.73
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Richness + RUr	-294.3
	Width + DEM + Temp + pH + Richness + RUr	-294.36
LCBDRapl	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg + Abundance	-280.79
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + Abundance	-282.77
	Width + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + Abundance	-284.66
	Width + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr	-286.45
	Width + Temp + DO + pH + Richness + RUr	-287.65
LCBDRich	Width + Temp + pH + Richness + RUr	-289.14
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg + Abundance	-258.33
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg	-260.31
	Width + DEM + Temp + DO + Cond + Richness + RUr + RAg	-262.3
	Width + DEM + Cond + Richness + RUr + RAg	-266.24
	Width + DEM + Cond + Richness + Rur	-268.09
	Width + DEM + Richness + RUr	-270.01
Width + Richness + Rur	-271.75	
October		
	Variable	AUC
LCBD	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg + Abundance	-276.24
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + RUr + RAg + Abundance	-278.18
	Width + DEM + Temp + pH + Cond + RUr + RAg + Abundance	-280.13
	Width + Temp + pH + Cond + RUr + RAg + Abundance	-281.99
	Width + Temp + pH + Cond + RUr + Abundance	-283.05
LCBDRapl	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg + Abundance	-265.51
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Richness + RUr + RAg + Abundance	-267.51
	Width + Temp + DO + pH + Richness + RUr + RAg + Abundance	-269.51
	Width + Temp + pH + Richness + RUr + RAg + Abundance	-271.37
	Width + pH + Richness + RUr + RAg + Abundance	-272.57
LCBDRich	Width + pH + Richness + RUr + Abundance	-273.57
	Width + DEM + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg + Abundance	-292.74
	Width + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + RAg + Abundance	-294.74
	Width + Temp + DO + pH + Cond + Richness + RUr + Abundance	-295.93
	Width + Temp + DO + pH + Richness + RUr + Abundance	-297.74
Width + Temp + DO + Richness + RUr + Abundance	-298.55	
	Width + Temp + Richness + RUr + Abundance	-298.62

III. 환경 DNA를 활용한 도심 수달 서식지 적합성 평가 및 핵심 서식지 연결성 분석



Appendix Figure 3.1 *L.lutra*에 서식지 적합성 모델에 대한 상대적 민감도(relative sensitivity)와 특이도(specificity)를 설명하는 50개 모델 실행의 average receiver operating curve. (우) Jackknife 정규 훈련 이득

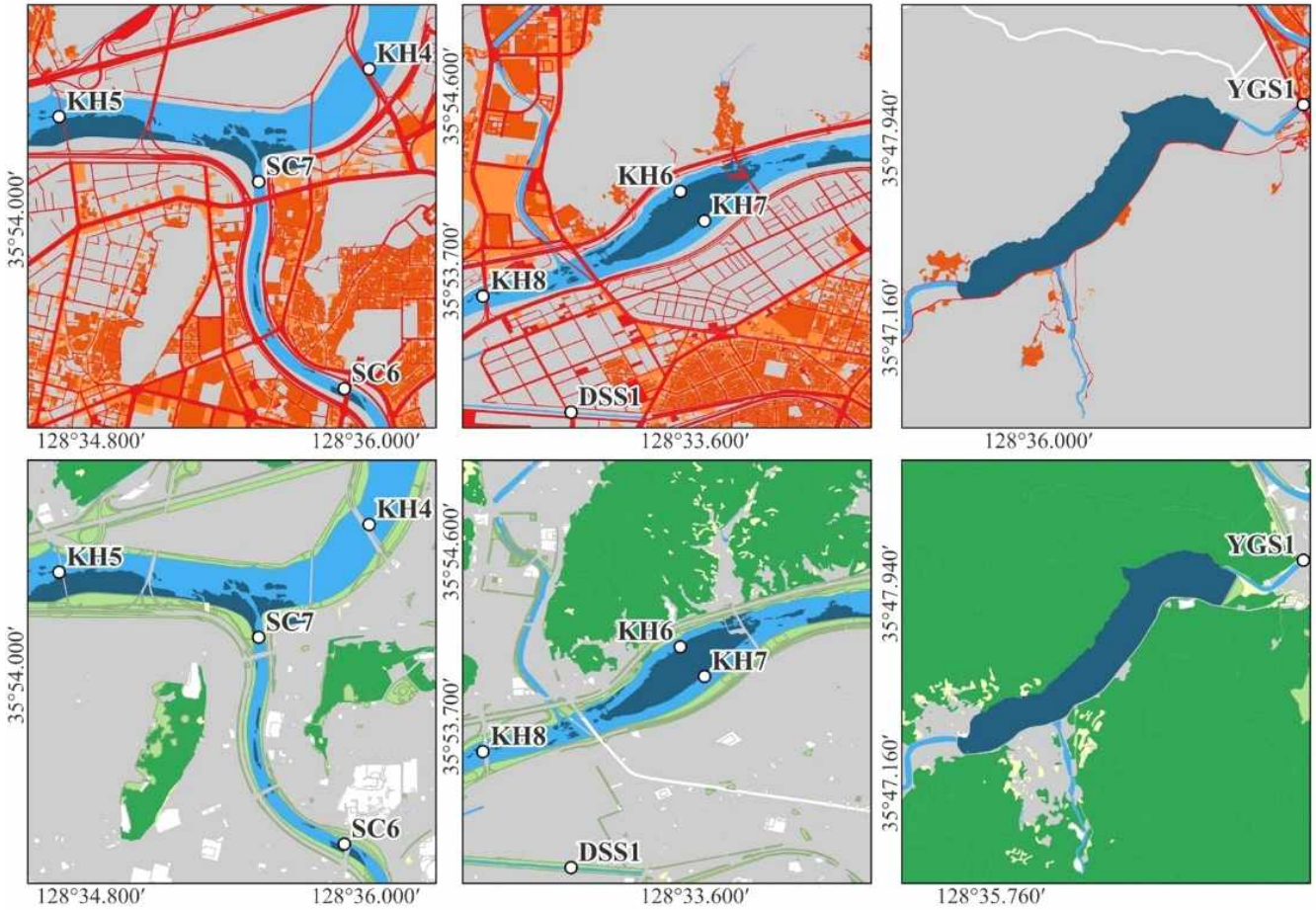
Appendix Table 3.1 수달 서식 환경을 고려한 비오톱 유형별 저항값 설정

분류	코드	저항값	분류	코드	저항값
녹지율 낮은 도시단독 주택(10% 미만)	10102	30	자연하천	90101	1
녹지율 높은 도시단독 주택(10% 이상)	10101	15	자연형하천	90201	1
녹지율 낮은 농촌형 단독주택(30% 미만)	10202	20	인공형하천	90301	2
녹지율 높은 농촌형 단독주택(30% 이상)	10201	10	소하천	90401	1
저층공동주택지	10301	20	농수로	90501	2
중층공동주택지	10401	20	하도습지	100101	1
고층공동주택지	10501	15	배후습지	100102	1
저층상업업무지	20101	25	하도습지	100101	1
중층상업업무지	20201	30	인공연못	100202	3
고층상업업무지	20301	30	저수지	100201	1
저층주상혼합지	30101	25	자연혼효림	120103	1
중층주상혼합지	30201	30	침엽수림(자연림)	120101	1
고층주상혼합지	30301	30	활엽수림(자연림)	120102	1
녹지율이 낮은 초중고등학교(30% 미만)	40102	20	인공-자연혼효림	120202	1
녹지율이 높은 초중고등학교(30% 이상)	40101	10	자연-인공혼효림	120201	1
녹지율이 높은 대학캠퍼스(30% 이상)	40103	10	인공혼효림	120303	1
녹지율이 낮은 대학캠퍼스(30% 미만)	40104	20	침엽수림(인공림)	120301	1
녹지율이 낮은 행정·공공 연구기관(15% 미만)	40202	25	활엽수림(인공림)	120302	1
녹지율이 높은 행정·공공 연구기관(15% 이상)	40201	15	조경식재림	120304	2
녹지율이 낮은 병원 및 요양기관(15% 미만)	40302	25	대나무림	120305	1
녹지율이 높은 병원 및 요양기관(15% 이상)	40301	15	인공관목림	120402	2
녹지율이 높은 운동시설지(15% 이상)	40401	15	자연관목림	120401	1
녹지율이 낮은 운동시설지(15% 미만)	40402	25	산화지	120502	10
어린이집	40504	20	암석노출지	120701	15
광장	40502	30	자연초지	130101	3
기타공공시설	40503	30	기타초지	130202	3
종교시설	40501	25	묘지	130201	5
기타교육기관	40505	30	논	140101	2
대규모 공업지(1ha이상)	50101	30	밭	140201	2
대규모 농공단지(1ha이상)	50102	30	과수원	140202	2
소규모 공업지(1ha미만)	50201	30	묘목장	140203	2
소규모 농공단지(1ha미만)	50202	30	축사	140301	15
창고	50301	30	시가지텃밭	140401	3
물관련 시설지	60101	20	시설재배지	140402	7
폐기물 관련시설지	60201	30	도시자연공원구역	150103	5
에너지 관련시설지	60301	30	녹지 비율 많은 근린공원(60% 이상)	150101	1
통신 관련시설지	60401	30	녹지 비율 적은 근린공원(60% 미만)	150102	5
띠녹지 조성되지 않은 폭 8m 미만 도로	70104	30	기타 조경수목식재지	150204	3
띠녹지 조성되지 않은 농로	70106	25	식물원(수목원)	150202	3
띠녹지 조성되지 않은 폭 8m 이상 도로	70102	30	시설녹지(완충·경관·연결녹지)	150201	3
녹지가 조성된 불투수포장 주차장	70201	25	둔치	150304	3
녹지가 조성되지 않은 불투수포장 주차장	70202	30	골프장	150301	10
녹지가 조성된 투수포장 주차장	70203	20	사면녹지	150303	3
녹지가 조성되지 않은 투수포장 주차장	70204	25	교통섬	150302	15
기타 철도관련 시설	70303	30	기타 문화유적지	150402	15
식생이 없는 철로	70302	30	서원·향교	150401	15
공항시설	70501	30	기타 관광시설	150501	20
기타 교통관련 시설	70601	30	유원지	150502	5
군사시설	80101	10	휴양림	150503	1
공사현장	80201	30	도시유희지	160101	20
야적장	80301	20	농촌유희지	160201	10
			채석장	160302	25

(A) Patch: 10, 17

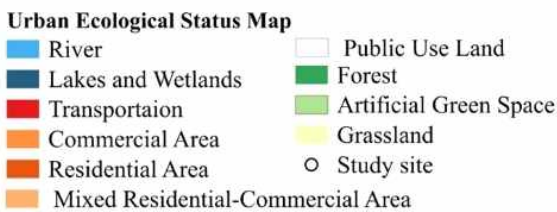
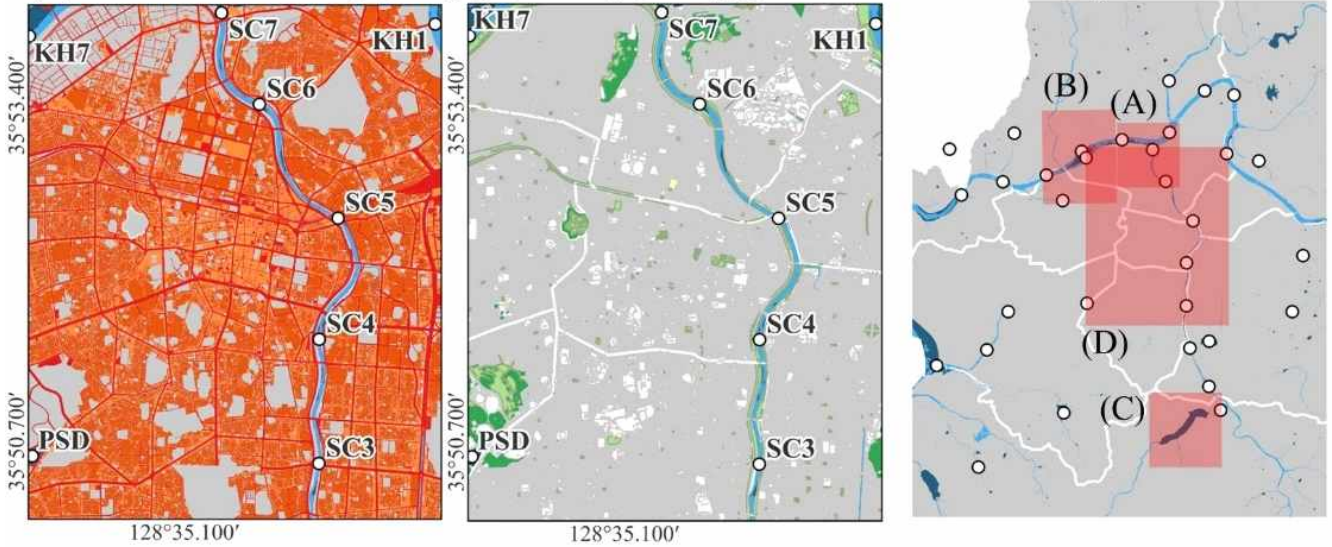
(B) Patch: 13, 17

(C) Patch: 68



(D) Isolated area: Buk-gu, Jung-gu, Nam-gu, Dong-gu

< Study area >



Appendix Figure 3.2 핵심서식지 (A-C), 고립지 (D) 도시생태현황지도 비교

본 연구보고서의 내용은 연구자의 의견이며,
(재)숲과나눔의 공식적인 견해와는 다를 수 있습니다.