

환경 DNA 메타바코딩을 활용한 멧돼지 및 육상 포유류 출현 모니터링*

- 경기도 양평군 일대를 중심으로 -

김용환¹⁾ · 한윤하¹⁾ · 박지윤¹⁾ · 김호걸²⁾ · 조수현³⁾ · 송영근⁴⁾

¹⁾ 서울대학교 환경대학원 환경조경학과 학생 · ²⁾ 청주대학교 휴먼환경디자인학부 조경도시계획전공 교수 ·
³⁾ 국립생물자원관 식물자원과 연구사 · ⁴⁾ 서울대학교 환경대학원 환경조경학과 교수

Monitoring the presence of wild boar and land mammals using environmental DNA metabarcoding*

- Case study in Yangpyeong-gun, Gyeonggi-do -

Kim, Yong-Hwan¹⁾ · Han, Youn-Ha¹⁾ · Park, Ji-Yun¹⁾ · Kim, Ho Gul²⁾ ·
Cho, Soo-Hyun³⁾ and Song, Young-Keun⁴⁾

¹⁾ Dept. of Landscape Architecture, Graduate School of Environmental Studies,
Seoul National University, Student,

²⁾ Dept. of Human Environment Design, Major in Landscape Urban Planning, Cheongju University, Professor,

³⁾ Plant Resources Division, National Institute of Biological Resources, Researcher,

⁴⁾ Dept. of Landscape Architecture, Graduate School of Environmental Studies,
Seoul National University, Professor.

ABSTRACT

This study aims to estimate location of land mammals habitat by analyzing spatial data and investigate how to apply environmental DNA monitoring methodology to lotic system in Yangpyeong-gun, Gyeonggi-do. Environmental DNA sampling points are selected through spatial analysis with QGIS open source program by overlaying Kernel density of wild boar(*Sus scrofa*), elevation, slope and land-cover map, and 81 samples are collected. After 240 mL of water was filtered in each sample, metabarcoding technique using MiMammal universal primer was applied in order to get a whole list of mammal species

* 본 논문은 정부(환경부)의 재원으로 국립생물자원관의 지원을 받아 수행하였습니다(NIBR202105102).

First author : Kim, Yong-Hwan, Dept. of Landscape Architecture, Graduate School of Environmental Studies,
Seoul National University, Student,
Tel : +82-2-880-8860, E-mail : kfshoi@snu.ac.kr

Corresponding author : Song, Young-Keun, Dept. of Landscape Architecture, Graduate School of Environmental Studies,
Seoul National University, Professor,
Tel : +82-2-880-8860, E-mail : songyoung@snu.ac.kr

Received : 14 November, 2021. **Revised** : 24 December, 2021. **Accepted** : 19 December, 2021.

whose DNA particles contained in filtered water. 8 and 22 samples showed DNA of wild boar and water deer, respectively. DNA of raccoon dog, Eurasian otter, and Siberian weasel are also detected through metabarcoding analysis. This study is valuable that conducted in outdoor lotic system. The study suggests a new wildlife monitoring methodology integrating overlaid geographic data and environmental DNA.

Key Words : *Harmful animal, Sus scrofa, Hydropotes inermis, MiMammal, Lotic ecosystem*

I. 서 론

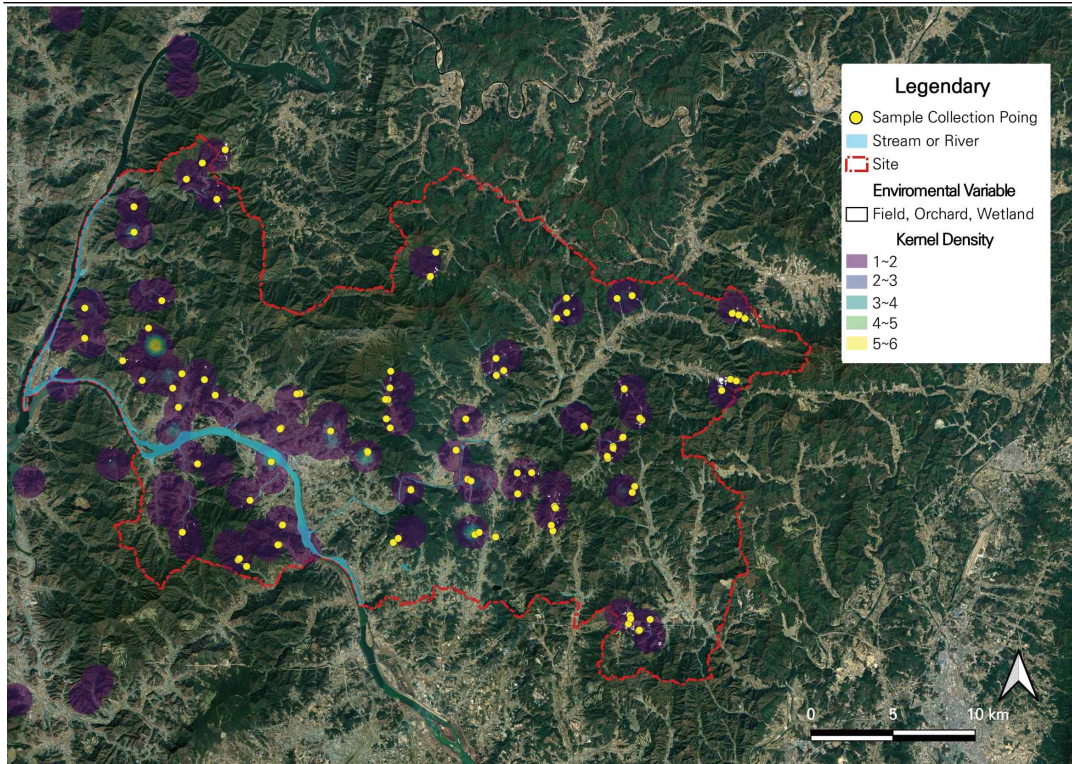
인간의 개발로 인하여 생태계와 서식지가 단편화되고 있으며(Penas et al., 2011), 도시지역의 급속한 확산과 대조적으로 기존의 산림, 경작지, 습지와 같은 자연경관은 소멸되고 있다(Kim et al., 1998). 서식에 위협을 느끼거나 먹이를 얻기 위해 인간의 활동영역으로 침입하는 경우가 발생한다. 야생동물과 사람의 접촉 기회가 증가하면 농작물 피해, 축산물 피해는 물론 인수공통감염병(Kang, 2017) 등의 여러 문제가 발생하기도 한다. 한편 국내에서는 「야생생물 보호 및 관리에 관한 법률」에 의거, 사람의 생명이나 재산에 피해를 주는 야생동물을 환경부령의 “유해야생동물”로 지정하여 관리하고 있다. 대표적인 유해야생동물 중 하나인 멧돼지(*Sus scrofa*)와 인간의 마찰, 예를 들어 야생동물의 도심 출몰로 인한 인명피해와 농작물 훼손과 관련된 마찰이 사회적인 문제가 될 만큼 심각한 상황이다(Lee et al., 2018).

이러한 자연환경 파괴와 야생동물 서식지의 감소를 줄이기 위해 장기적이고 지속적인 모니터링 프로그램으로 개체군 크기, 지리적 분포, 서식지 유형 등의 현황을 파악하고 관리 및 보호를 이어나갈 필요가 있다(An et al., 2018). 최근 생태학 연구의 생물종 조사를 보다 효율적이며 정확하게 수행하기 위해 환경 DNA를 활용한 새로운 방법론의 이해와 적용이 요구되고 있다(Minamoto et al., 2012). 환경 DNA 분석법의 발전과 더불어 여러 종을 한 번에 검출할 수 있

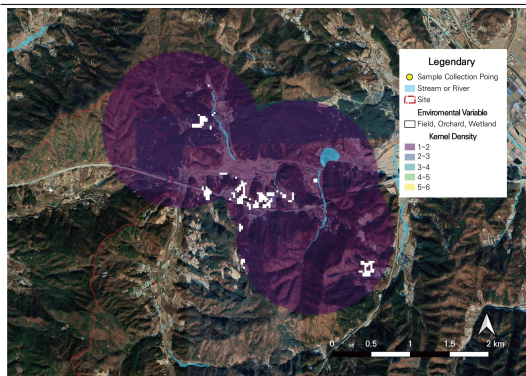
는 범용적 프라이머 개발은 생태학 분야에서 환경 DNA 연구를 증가시켰다(Drummond et al., 2015). 그리고 생물다양성협약(CBD) 및 국내·외에서는 생물자원의 효율적인 조사와 과학적인 모니터링을 위해 분자생물학(Molecular biology) 분야의 DNA 기반 생물종 조사 기법을 적극 권장하고 있는 실정이다(Krishnamurthy and Francis, 2012). 환경 DNA를 이용한 모니터링 연구는 포유류 확인에 있어서도 경제적인 방법(Lyet et al., 2021)이기 때문에 시·군 단위의 넓은 대상지 연구에 적합한 것으로 기대된다.

환경 DNA의 연구 동향을 살펴보면 산림 내 내륙 습지와 같은 환경에서 물 샘플을 통해 환경 DNA 분석을 하는 시도(Ushio et al., 2017)가 있었지만 다양한 육상생태계에서의 환경 DNA 분석은 시도하지 않았다는 한계점을 갖는다. 토양으로부터의 환경 DNA 분석은 많은 양의 토양 확보에 어려움이 있어 공간적인 규모에 한계가 있다(Valentin R. E. et al., 2020). 국내의 환경 DNA 연구는 김휘문 외(2020)가 도시 내 육상 생물종을 대상으로 경기도 광교 신도시 일대에서 인공수조를 설치하여 진행한 것과 같이 정수생태계에서 샘플을 취득하는 것이 대부분이고, 흐르는 하천 및 계곡에서 취득한 샘플에 대한 분석 연구는 대표적으로 김정희 외(2020) 및 송영근 외(2019)가 진행한 선례 등이 있으나, 모니터링을 위한 유수생태계에서의 환경 DNA 채집 및 분석 연구는 미비한 실정이다.

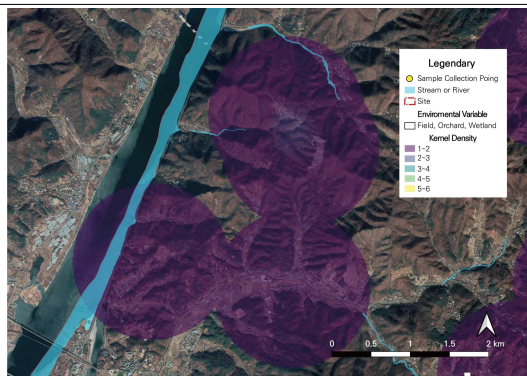
본 연구의 목적은 1) 환경 DNA 분석 방법 검증에 위한 기존 자료와의 비교이고, 2) 유해야생



A. Kernel density analysis based on the presence of wild boar(*Sus scrofa*) and Sample Collection Point



B. High likelihood of Presence



C. Low likelihood of presence

Figure 1. Rater analysis on the presence of wild boars(*Sus scrofa*)

동물 출현지점 조사의 효율화를 위해 환경 DNA 분석 방법 적용 가능성을 확인하는 것이다. 이를 통해 기존 야생동물 출현 자료와 환경 DNA 메타바코딩을 활용하여 야생동물 조사 방법의 효율화 방안을 제시하고자 한다.

II. 연구방법

1. 연구 대상지

본 연구의 대상지는 경기도 양평군 전체이다 (Figure 1). 양평군은 경기도 중동부에 위치한다. 동쪽은 횡성군과 원주시, 서쪽은 북한강을 사이

로 남양주시와 광주시, 남쪽은 여주시, 북쪽은 가평군과 홍천군이 접해있다. 면적은 877.65km² 정도로 양평군이 차지하는 경·위도상의 위치는 동경 127°18'46" ~ 127°51'02", 북위 37°21'33" ~ 37°40'07"이다. 대부분의 시가지 건조지역, 논과 밭이 한강과 산림까지 밀접하게 연계되어 있어 야생동물의 피해가 존재하고 경기도 동부 지역 중 유해야생동물인 멧돼지(*Sus scrofa*)의 서식밀도가 평균 (1.7마리/km²)보다 높은 곳 (2.2마리/km²)이다(National Institute of Biological Resources, 2020).

2. 활용 데이터

멧돼지(*Sus scrofa*)가 출현하거나 서식지로 적합하다고 여겨지는 지역을 도출하기 위하여 토지피복도, 제4차 전국자연환경조사, 지자체 민원자료, 국립생물자원관 조사 자료를 활용하였다. 토지피복도는 2018년 중분류 토지피복도를 환경공간정보서비스 (<http://egis.me.go.kr>)로부터 자료를 받아 사용하였다. 전국자연환경조사는 1986년부터 수질, 토지이용, 식생, 동·식물 분포, 토양을 육수역과 해역으로 구분하여 조사하는 자료로 에코뱅크 (<https://www.nie-ecobank.kr>)로부터 자료를 받아 사용하였다. 그 외 경기도청의 '2020년 유해야생동물 피해실태' 중 양평군 민원자료와 국립생물자원관의 '야생동물 실태조사' 연구사업의 고정조사구 지점 중 멧돼지 출현 지역의 자료를 활용하였다. 산림과 밭에 인접한 수생태계로부터의 환경 DNA를 채취를 위해 하천/용도구역, 소하천/소하천구역에 대한 자료를 국가공간정보포털 (<http://data.nsd.go.kr>)에서 자료를 받아 활용하였다.

3. 환경 DNA 샘플링을 위한 래스터 분석

래스터 분석을 위해 GIS분석 오픈소프트웨어인 QGIS를 활용하였다. 제4차 전국자연환경조사, 양평군 민원자료, 국립생물자원관의 내부자료를 활용하여 양평군의 멧돼지(*Sus scrofa*)가

서식 가능성 있는 반경을 커널밀도로 도출하였다(Figure 1에서 A). 각 해당 지점을 기준으로 반경 1km를 설정하였으며(Alexander et al., 2016), 커널밀도의 순서척도 범위는 등간격 5등분을 하였다. 그리고 1 km의 해당 반경이 멧돼지(*Sus scrofa*)가 서식할 수 있는 반경으로 판단하였다. 해당 범위 안에 경사도 20도 이하이면서 고도가 200m 이상이라는 공통된 조건(Meriggi et al., 2016; Acevedo et al., 2007)을 설정하고 이러한 조건 안에서 멧돼지(*Sus scrofa*)가 출현할 수 있는 요인인 밭, 과수원, 내륙습지 중 하나라도 해당하면 래스터로 도출될 수 있도록 하였다. 위 설정한 요건이 모두 충족되거나 하나라도 복수로 충족되는 지역을 서식 가능성이 있는 높은 지점으로 두었으며 (Figure 1에서 B), 요인 도출이 없고 커널의 반경만 존재할 시에는 낮은 출현 가능성 지역으로 설정하였다 (Figure 1에서 C).

4. 환경 DNA 분석

환경 DNA는 흙, 퇴적물, 수체 등 다양한 환경에 잔존하는 생물의 유전자를 의미하며, 배설물, 땀, 침, 피부조직, 털 등 다양한 형태를 띠고 있다(Taberlet et al., 2012; Thomsen and Willerslev, 2015). 최초의 환경 DNA 연구는 Ogram et al.(1987)이 퇴적물에서 발견한 DNA에 대한 추출 프로토콜을 제안하면서 시작하였다. 현재는 특정 목표종에 대한 단일종 검출법과 환경 DNA 메타바코딩 법으로 불리는 특정 분류군의 차세대 염기서열분석 (Next Generation Sequencing)을 통한 다중 동시 검출법 등이 사용된다(Kim et al., 2020). 본 연구에서는 차세대 염기서열분석의 검출법을 사용하여 환경 DNA를 분석하였다.

2021년 6월 17일과 22일, 23일 총 3회에 걸쳐 양평군의 81개 지점에 대한 81개의 물 샘플 분석을 진행하였다. 각 조사구에서 30 mL 일회용 주사기를 이용하여 8회의 필터링을 통해 240 mL의 시료를 0.45 μ m pore size 카트리지가 필터

(Sterivex, Millipore, Germany)에 샘플링하였으며, 시료 채취 과정에서 환경 시료와 연구자의 접촉, 시료 간의 혼합 등으로 인해 발생할 수 있는 오염 문제를 최소화하기 위하여 매 회 다른 일회용 주사기와 멸균 장갑, 멸균 보관팩을 이용하여 샘플링을 실시하였다. 원활한 결과 비교를 위하여 각 조사구에서 시료의 양을 동일하게 샘플링하였으나, 녹조 등으로 인한 각 지점의 수질 상태에 따라 채집된 물의 양에는 일부 차이가 있었다. 채취가 완료된 시료들은 각각 따로 밀봉하여 아이스박스를 통해 운반 후, DNA의 분해 등 분석 결과에 영향을 미칠 수 있는 외부의 영향을 최소화하기 위해 DNA 추출 전까지 -20 °C 냉동고에 보관하였다. DNA 추출에서부터 NGS 분석까지의 과정은 서울대학교 농생명과학공동기기원 (NICEM)과 테라젠바이오(theragenbio)에 분석 의뢰하여 진행되었다. 채취한 시료는 DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 DNA 추출을 진행하였다. 추출한 DNA를 증폭하기 위해 (Ushio et al., 2017)에서 제안한 범용 프라이머인 MiMammal와 Illumina사의 Nextera index kit를 사용하여 2단계 PCR을 진행하였다. 프라이머는 Ushio et al.(2017) 연구에서 사용한 것과 같이 Miseq 시퀀싱 분석과 low density 개선을 위해 6개의 랜덤 염기(N)가 결합된 MiMammal- mix 프라이머를 사용하였다. 표적 영역을 증폭시키기 위한 1차 PCR은 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix (KAPABiosystems, USA) 6.0 μ l와 MiMammal-mix 프라이머 (5 pM primer F/R) 각각 0.7 μ l, 멸균된 증류수 2.6 μ l, 시료에서 추출한 DNA 2.0 μ l의 혼합물 12 μ l로 진행하였다. 94 °C에서 3분 동안 초기 DNA 변성을 진행한 후, 98 °C에서 10초 동안 DNA 변성, 50°C에서 10초 동안 Annealing, 68 °C에서 10초 동안 프라이머 신장 과정을 30회 반복 수행한 후, 68 °C를 5분 동안 유지하고 4 °C에서 보관하였다. 1차 PCR 산물을 정제하여 진행한 2차 Index PCR은

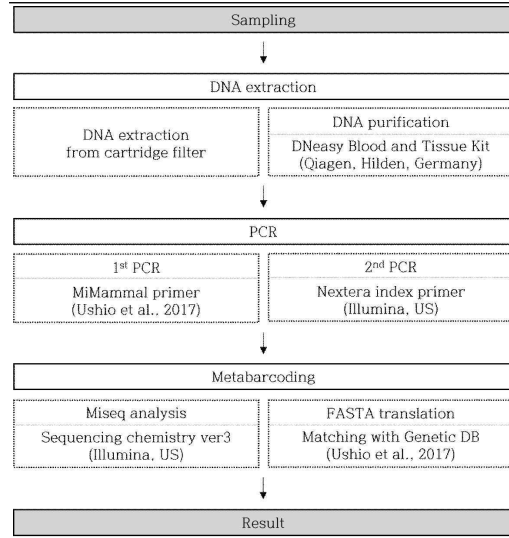


Figure 2. Progress of eDNA metabarcoding Analysis using cartridge filter

2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix 12.5 μ l와 Nextera Index primer 1 (N7XX) 2.5 μ l, Nextera Index primer 2 (S5XX) 2.5 μ l, 멸균된 증류수 5.0 μ l, 1차 PCR 산물 2.5 μ l의 혼합물 25 μ l로 진행하였다. 96 °C에서 3분 동안 초기 DNA 변성을 진행한 후, 96 °C에서 30초 동안 DNA 변성, 55 °C에서 30초 동안 Annealing, 72 °C에서 30초 동안 프라이머 신장 과정을 30회 반복 수행한 후, 72 °C를 5분 동안 유지하고 4 °C에서 보관하였다. 2차 PCR 산물을 정제하여 염기서열분석을 실시하였는데, 이때 분석은 Illumina사의 sequencing chemistry ver3을 사용하여, Illumina사의 Miseq 장비의 600 cycle mode로 진행하였다. Miseq 분석 결과로 도출된 FASTA 파일에 기재된 염기서열은 Ushio et al.(2017)의 방법을 이용하여 생물종 유전자 정보 DB와의 매칭을 수행하였다. 기존 생물종 유전자 정보 DB와의 비교를 통해 각 시료별 생물종 목록과 리드수 (total read)등이 도출되는데, 본 연구에서는 보다 정확한 생물종 목록의 도출을 위하여 기존 DB와 98.5% 이상의 유사도를 보이는 분류군에 한하여 결과를 활용하였다.

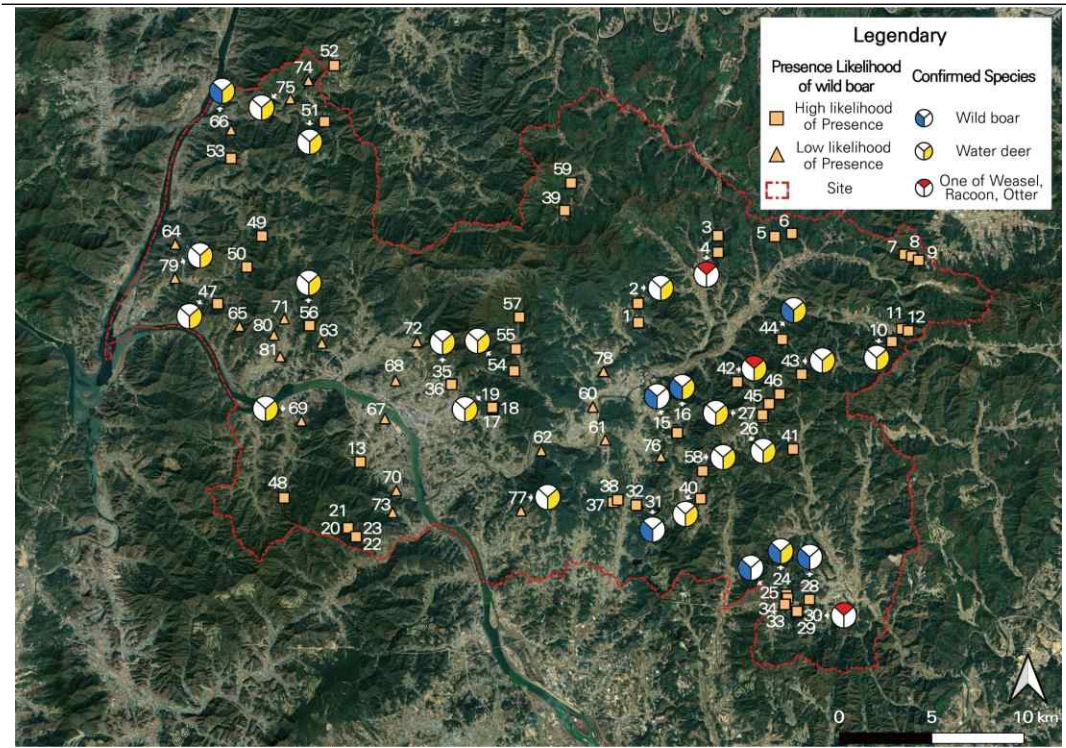


Figure 3. Results of Mammal Metabarcoding in Yangpyeong-gun

III. 연구결과 및 고찰

1. 환경 DNA를 활용한 양평군 내 포유류 출현종 분석 결과

환경시료에 남아있는 유전자 정보량을 나타내는 리드수와 유사도 98.5 % 이상의 identity를 검증을 통해 메타바코딩 정보를 확인하였다. 해당 확인된 출현종 중에서 인간, 개, 고양이와 같이 육상 포유류의 핵심종에 해당하지 않는 종은 제외하여 결과를 도출하였다. 3회의 현장조사를 통해 환경 DNA 기법을 활용하여 취득한 양평군의 소하천 (Stream), 계곡 (Valley), 저수지 (Reservoir), 농수로 (Agricultural Canal)에서의 육상 포유류의 출현을 분석한 결과, 멧돼지(*Sus scrofa*), 고라니(*Hydropotes inermis*)와 너구리(*Nyctereutes procyonoides*), 수달(*Lutra lutra*), 족제비(*Mustela sibirica*) 총 2목 4과 5종이 검출되었다 (Figure 3).

1) 환경 DNA를 활용한 멧돼지(*Sus scrofa*) 검출 결과

멧돼지(*Sus scrofa*) 환경 DNA를 검출한 결과는 다음과 같다 (Table 1). 멧돼지(*Sus scrofa*)는 총 8개 지점에서 검출되었으며, 리드수의 총합은 208로 나왔다. 멧돼지(*Sus scrofa*)가 확인된 지점 중 가장 높은 리드수를 보인 지점은 25번으로 래스터 분석 시, 출현 가능성이 높은 지점에 해당된다. 리드수가 가장 낮은 지점인 66번은 출현 가능성이 낮은 지점이며 계곡 유형에 해당된다. 멧돼지가 검출된 8개 샘플 중 각 지점별로 수환경(Types of Aquatic Ecosystems)을 비교하면 소하천 2지점 (24번, 25번), 계곡 2지점 (44번, 66번), 저수지 1지점 (28번), 농수로 3지점 (15번, 16번, 31번)으로 나타났다. 지평면, 양동면, 청운면에서는 같은 산림의 패치를 공유하는 지점의 경우, 멧돼지 검출 거리가 상대적으로

Table 1. Explanation of samples of wild boars(*Sus scrofa*)

*Sample Number	Address(myeon)	Detected or Not	Weather Condition	Types of Aquatic Ecosystems	Total Read
15 (□)	Jipyong-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Agricultural Canal	7
16 (□)	Jipyong-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Agricultural Canal	9
24 (□)	Yangdong-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Stream	20
25 (□)	Yangdong-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Stream	88
28 (□)	Yangdong-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Reservoir	57
31 (□)	Jipyong-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Agricultural Canal	17
44 (□)	Cheongwoon-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Valley	6
66 (△)	Seojong-myeon	Yes	Cloudy or Rainy	Valley	4
13 (□)	Gangsang-myeon	No	Cloudy or Rainy	Stream	-
20 (□)	Gangsang-myeon	No	Cloudy or Rainy	Stream	-

* □ : High likelihood of Presence / △ : low likelihood of Presence

로 인접한 것을 확인할 수 있었다 (Figure 3, Table 1). 채수 당시, 흐림 또는 비가 오는 기상 환경이었지만 다양한 유수생태계에 해당하는 지점들에서 멧돼지가 검출되는 것을 확인했다.

2) 멧돼지(*Sus scrofa*) 이외 종 검출 결과 고라니(*Hydropotes inermis*)와 너구리(*Nyctereutes procyonoides*), 수달(*Lutra lutra*), 족제비(*Mustela sibirica*)에 대한 환경 DNA를 검출한 결과는 다음과 같다 (Table 2).

고라니(*Hydropotes inermis*)가 검출된 지점은 총 22개 지점으로, 리드수의 총 합은 2,613로 나왔다. 고라니(*Hydropotes inermis*)가 확인된 지점 중 가장 높은 리드수를 보인 지점은 58번으로 멧돼지(*Sus scrofa*) 출현 가능성이 높은 지점에도 해당되었다. 리드수가 가장 낮은 지점은 75번 지점으로 멧돼지(*Sus scrofa*) 출현 가능성이 낮은 지점이었다. 고라니(*Hydropotes inermis*)가 검출된 수환경은 총 22개 지점 중 소하천이 9개 (19번, 24번, 26번, 27번, 35번, 47번, 51번, 77번, 79번), 계곡 11개 (1번, 2번, 10번, 40번, 42번, 43번, 54번, 56번, 58번, 66번, 75번), 저수지 1개 (69번), 농수로 1개 (16번) 지점으로 나타났다. 고라니가 검출된 22개 지점 중 19개 지점이 멧돼지 출현 가능성이 높은 지점이었으며, 3개 지점이 낮은 지점이었다. 이외,

너구리(*Nyctereutes procyonoides*)는 총 2개 지점에서 리드수 합은 132가 나왔으며 4번 지점에서 127로 가장 높게 나타났다. 족제비(*Mustela sibirica*)와 수달(*Lutra lutra*) 또한 검출되었는데 두 종 모두 각각 1개의 지점에서 확인되었다. 족제비(*Mustela sibirica*)는 농수로 유형, 수달(*Lutra lutra*)은 소하천 유형에서 검출되었다. 너구리(*Nyctereutes procyonoides*)와 수달(*Lutra lutra*), 족제비(*Mustela sibirica*) 모두 멧돼지(*Sus scrofa*) 출현 가능성이 높은 지점에서 검출되었다.

2. 경기도 양평군 관련 환경 DNA 분석 고찰

1) 유수생태계와 환경 DNA 간 고찰

본 결과는 기존 환경 DNA 샘플링 방법을 정수생태계가 아닌 계곡, 소하천과 같이 산림과 인접하고 유수가 흐르는 환경에서 샘플을 채취한 후 결과를 분석하였다는 것에 의의가 있다. 하지만 환경 DNA는 태양 복사열, 온도, 수온, 강우량에 영향을 받게 되는데(Pilliod et al., 2014; Sales et al., 2019; Staley et al., 2018; Hauger et al., 2020), 채수 당일과 이전의 날씨가 강우로 인한 악조건임을 고려하면 현장조건에 따라 낮은 리드수와 검출률의 한계점을 보인다.

그 외 양평군 현지 주민 인터뷰 결과, 멧돼지

Table 2. A Part of Results of metabarcoding

*Sample Number	Address (myeon)	Species	Weather Condition	Types of Aquatic Ecosystems	Total Read
58 (□)	Jipyong-myeon	Water deer	Cloudy or Rainy	Valley	1128
51 (□)	Seojong-myeon	Water deer	Cloudy or Rainy	Stream	338
75 (△)	Seojong-myeon	Water deer	Cloudy or Rainy	Valley	4
4 (□)	Danwol-myeon	Raccoon dog	Cloudy	Stream	127
30 (□)	Yangdong-myeon	Raccoon dog	Cloudy or Rainy	Stream	5
15 (□)	Jipyong-myeon	Siberian weasel	Cloudy or Rainy	Agricultural Canal	14
42 (□)	Yangdong-myeon	Eurasian otter	Cloudy or Rainy	Stream	9

* □ : High likelihood of Wild boar Presence / △ : low likelihood of Wild boar Presence

(*Sus scrofa*)로 인한 구황작물 피해 시기는 8월~9월 사이로, 현장 조사가 이루어진 6월은 비교적 피해가 적은 시기임을 고려하면 적게 검출된 멧돼지(*Sus scrofa*) 리드수와 연관 지을 수 있다. 고라니(*Hydropotes inermis*)의 경우, 6월에도 지속적으로 밭에 내려와 깃잎과 고구마 잎에 피해를 입히는 점을 고려하면 멧돼지보다 많은 지점에서 높은 리드수가 검출된 것을 연관 지을 수 있다.

2) 멧돼지(*Sus scrofa*) 및 고라니(*Hydropotes inermis*)에 대한 환경 DNA 검출

멧돼지(*Sus scrofa*)의 경우, 양평군 유해야생동물 피해실태 자료와 연관된 지점들이 검출 결과와 높은 연관성을 보이는 것으로 나타났다. 멧돼지(*Sus scrofa*)가 검출된 8개의 지점 중 7개의 지점은 양평군의 멧돼지 피해실태 (2020년도 기준) 발생 지역과 연관이 있었으며, 8개 지점 중 5개의 지점은 국립생물자원관의 조사지점 (2020년도)과도 연관이 있었다. 제4차 전국자연환경조사 지점과 연관 있는 지점은 8개 중 1개의 지점으로 확인되었다.

IV. 결 론

본 연구에서는 멧돼지와 육상 포유류 관련 출현지점 조사의 효율화를 위해 환경 DNA 분석, 메타바코딩 방법을 시도하였다. 국내에서는 정수생태계, 실험수조 중심으로 환경 DNA의 메타바코딩과 PCR 분석을 진행하였으나 본 연구에서는 실제 현장조사 환경인 계곡, 소하천, 농수로, 저수지와 같은 다양한 유수생태계에서 시도하였으며, 특히 강우 후 안정되지 않는 수환경에서도 환경 DNA 분석 방법을 적용하고 검출이 가능하였다. 경기도 양평군의 시·군 스케일에서 메타바코딩을 활용한 모니터링을 시도하였으며, 소량의 240ml 샘플로 환경 DNA를 분석을 진행하여 환경 DNA의 효율성을 보여주었다. 멧돼지가 검출된 8개의 지점 중 7개의 지점이 경기도청의 2020년 유해야생동물 피해실태 자료와 연관이 있었으며, 8개의 지점 중 5개의 지점은 국립생물자원관의 야생동물 실태조사 자료상의 기존 조사지점과 연관이 있었다. 이를 통해 환경 DNA를 통한 멧돼지 및 야생동물의 출현 확인을 위해서는 최근 시점을 기준으로 된 자료를 참고하여 조사할수록 환경 DNA의 높은 검출률을 기대할 수 있음을 시사한다. 본 연구

는 환경 DNA 분석을 통한 모니터링 방법의 검증과 효율성을 제시할 수 있었다. 또한 환경 DNA를 활용한 메타바코딩 활용 방법은 생태계의 생물종 조사에 있어서 야생동물의 모니터링 과정과 정보 구축 방법에 효율성을 기대할 수 있다.

하지만 자연환경에서 강수량, 수온과 같은 환경 DNA에 영향을 미치는 부분들을 고려하지 못했기 때문에 환경 DNA가 검출되었으나 리드 수가 낮게 나타났다는 한계점을 가진다.

마지막으로 향후 야생동물에 대한 다양한 환경 DNA 분석을 통한 모니터링 방법은 세부적인 스케일과 격자, 구간 단위에서 환경 DNA를 확인하고 물 샘플 이외 퇴적물 샘플과 같은 다양한 샘플 유형도 동시에 비교하는 시도가 요구된다.

References

- Acevedo P., Vicente J., Höfle U., Cassinello J., Ruiz-Fons F. and Gortazar C. 2007. Estimation of European wild boar relative abundance and aggregation: a novel method in epidemiological risk assessment. *Epidemiology & Infection* 135(3): 519-527.
- Alexander, N. S., Massei, G., & Wint, W. (2016). The European distribution of *Sus scrofa*. Model outputs from the project described within the poster - where are all the boars? An attempt to gain a continental perspective. *Open Health Data*, 4(1).
- An DM and Kim MS. 2003. Environment Friendly Urban Open Space Planning - Enhancing the Connectivity of Habitats in Seoul, Korea. *Journal of the Korean Institute of Landscape Architecture*. 31(1): 34-41. (in Korean with English summary)
- An SP, Lee JM and Kim DS. 2018. Design and Implementation of Mobile Platform for Wildlife Monitoring System. *Proceedings of Symposium of the Korean Institute of communications and Information Sciences*. 765-766. (in Korean with English summary)
- Baldassarre G. A. and E. G. Bolen. . 1994. . *Waterfowl Ecology and Management*. New York: John Wiley, New York.
- Choi YS, Hur WH, Kim SH, Kang SG, Kim JH, Kim HJ, Son JS, Park JY, Yi JY, Kim CH, Kang JH and Han SH. 2012. Population Trends of Wintering Ducks in Korea.. *The Korean Journal of Ornithology*. 19(3): 185-200.
- Fischer J. and Lindenmayer D. B. 2007. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecology and Biogeography*. 16(3): 265-280.
- Gibson L. A., Wilson B. A., Cahil D.M. and Hil J. 2014. Modeling habitat suitability of the swamp antechinus (*Antechinus minimus maritimus*) in the coastal heathlands of southern Victoria, Australia.. *Biological Conservation*. 17(2): 143-150.
- Gonzalez L. F., Montes G. A., Puig E., Johnson S., Mengersen K. and Gaston K. 2016. Unmanned Aerial Vehicles (UAVs) and Artificial Intelligence Revolutionizing Wildlife Monitoring and Conservation. *Sensors*. 16(1): 97.
- Gray M. J., Chamberlain M. J., Buehler D. A. and Sutton W. B. 2013. Wetland Wildlife Monitoring and Assessment. *Wetland Techniques*. 2: 265-318.
- Hauger A. N., Hollis-Etter K. M., Etter E. R., Roloff G. J. and Mahon A. R. 2020. Use of environmental DNA(eDNA) in streams to detect feral swine(*Sus scrofa*). *PeerJ* 8: 1-15.

- Jo T., Arimoto M., Murakami H., Masuda R. and Minamoto T. 2019. Particle size distribution of environmental DNA from the nuclei of marine fish. *Environ. Sci. Technol.* 53(16): 9947 - 9956.
- Kang BC. 2017. Zoonosis and the Future of Mankind. *Health and Social.* 7: 12-21. (in Korean with English summary)
- Kim GW and Song YK. 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): 1~12. (in Korean with English summary)
- Kim JH, Jo HB, Chang MH, Woo SH, Cho YH and Yoon JD. 2020. Application of Environmental DNA for Monitoring of Freshwater Fish in Korea. *KJEE* 53(1): 63-72. (in Korean with English summary)
- Kim KD, Kil JH, Choi BJ, Suh MH, Koh KS and Choi DI. 1998. The conditions of Fragmentation of Ecosystem and Ecological corridor building through the analysis of Environmental Impact Statements. *Journal of Environmental Impact Assessment.* 7(2): 15-26.
- Kim WM, Kim SY, Park IS, Lee HJ, Kim KT, Kim Y, Kim HJ, Kwak MH, Lim TY, Park C and Song WK. 2020. Review and application of environmental DNA (eDNA) investigation of terrestrial species in urban ecosystem. *J. Korean Env. Res. Tech.* 23(2): 69-89. (in Korean with English summary)
- Kim WR, An HC, Song JC and Lee JH. 2001. The roadkill Damage of Wild animal by fragmentation of Habitat in Gyeongsangnam-do province. *J. Agric. Tech. Res. Inst.* 14: 97-110. (in Korean with English summary)
- Kim YJ, Han BH and Park SC. 2015. A Study on the monitoring and management for Alternative Habitats of *Kaloula borealis* at the University of Seoul. *Proceedings of the Korean Institute of Landscape Architecture Conference.* 2015(1): 121-122. (in Korean with English summary)
- Korea National Park Research Institute. 2014. . Investigation on Natural Resources(Terrestrial) in Hallyeohaesang National Park. *Research Report of Korea National Park.*
- Lee DK, Yi HY and Kim EY. 2007. Analysis of Fragmentation and Heterogeneity of Tancheon Watershed by Land Development Projects. *J. Korean Env. Res. & Reveg. Tech.* 10(6): 120-129. (in Korean with English summary)
- Lee KJ and Han BH. 2002. Planting Plan of Ecological Corridor at Destroyed Mountain Area as a Result of Road Construction. *Kor. J. Env. Eco.* 16(3): 321-337. (in Korean with English summary)
- Lee MH. 2011. Present and Future of R&D Responding to Domestic Animal Disease to Reinforce Korean Social Infrastructure. (in "SCIENCE & TECHNOLOGY POLICY(182)"). *Science and Technology Policy Institute.* pp. 3-16. (in Korean)
- Lee SG, Kim NC and Shin JH. 2014. Population Change of Each Ardeidae Species in Damaged Habitats of Development Area. *J. Korean Env. Res. Tech.* 17(1): 147~162. (in Korean with English summary)
- Lee SM, Lee EJ, Park HB and Seo CW. 2018. Factors affecting Crop Damage by the Wild

- Boar (*Sus scrofa*): A case study in Geochang County, Gyeongnam Province, Korea. *Korean J. Environ. Ecol.* 32(2): 140-146. (in Korean with English summary)
- Leempoel K., Hebert T. and Hadly E. A. 2020. comparison of eDNA to camera trapping for assessment of terrestrial mammal diversity. *Proceedings of the Royal Society. B, Biological sciences.* 287(1918): 20192353-20192353.
- Lyet A., Pellissier L., Valentini A., Dejean T., Hehmeyer A. and Naidoo R. 2021. eDNA sampled from stream networks correlates with camera trap detection rates of terrestrial mammals. *Scientific Reports.* 11(11362).
- Meriggi A., Lombardini M., Milanesi P., Brangi A., Lamberti P. and Giannini F. 2016. Management of wild boar in protected areas: the case of Elba Island. *Problematic Wildlife:* 229-251.
- Ministry of Environment. 2020. Enforcement Regulation of the Wildlife Protection and Management Act
- Munnangi S. K. and Paruchuri P. 2020. Improving Wildlife Monitoring using a Multi-criteria Cooperative Target Observation Approach. *The Hawaii International Conference on System Sciences.*
- National Institute of Biological Resources. 2019. A study for efficient management of native wild boars (first year). (in Korean)
- National Institute of Biological Resources. 2020. *Wildlife Survey (2020).* (in Korean)
- Peñas J., Benito B., Lorite J., Ballesteros M., Cañadas E. M. and Martinez-Ortega M. 2011. Habitat Fragmentation in Arid Zones: A Case Study of *Linaria nigricans* Under Land Use Changes (SE Spain). *Environmental Management* (2011) 48: 168 - 176.
- Pilliod, D.S., Goldberg, C.S., Arkle, R.S. and Waits, L.P. 2014. Factors influencing detection of eDNA from a stream dwelling amphibian. *Molecular Ecology Resources,* 14(1), pp.109-116.
- Sales, N. G., Wangensteen, O. S., Carvalho, D. C., & Mariani, S. 2019. Influence of preservation methods, sample medium and sampling time on eDNA recovery in a neotropical river. *Environmental DNA,* 1(2).
- Seo HM. 2020. Bird collision with transparent structures in the Republic of Korea: current status and annual mortality estimates. Master dissertation, Seoul National University. (in Korean)
- Sin SA. 2015. A Certificate system for Animal Well-being Poultry Farm. (in "Korean Poultry journal"). Seoul: Korea Poultry Association. 47(3). pp. 144-147. (in Korean)
- Song YK, Kim JH, Won SY and Park C. 2019. Possibility in identifying species composition of fish communities using the environmental DNA metabarcoding technique - with the preliminary results at urban ecological streams. *J. Korean Env. Res. Tech.* 22(6): 125-138. (in Korean with English summary)
- Staley, Z. R., Chuong, J. D., Hill, S. J., Grabuski, J., Shokralla, S., Hajibabaei, M., & Edge, T. A. 2018. Fecal source tracking and eDNA profiling in an urban creek following an extreme rain event. *Scientific reports,* 8(1), 1-12.
- Theobaldd D. M., Miller J. R. and Hobbs N. T. 1997. Estimating the cumulative effects of development on wildlife habitat. *Landscape and Urban Planning.* 39: 25-36.
- Ushio M., Fukuda H., Inoue F., Makoto K., Kishida

- O., Sato K., Murata K., Mikaido M., Sado M, Sato Y., Takeshita M., Iwasaki W., Yamanaka H., Kondoh M. and Miya M. 2017. Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water. *Molecular ecology resources*. 17(6): 63-75.
- Valentin R. E., Fonseca D. M., Gable S., Kyle K. E., Hamilton G. C., Nielsen A. L. and Lockwood J. L. 2020. Moving eDNA surveys onto land: Strategies for active eDNA aggregation to detect invasive forest insects. *Molecular ecology resources*. 20(3): 746-n/a.
- XIAO WH, ZHOU QS, ZHU CD, WU DH and XIAO ZS. 2020. Advances in techniques and methods of wildlife monitoring. *Chinese Journal of Plant Ecology* 44 (4): 409 - 417.
- <http://data.nsd.gov.kr/>
- <http://egis.me.gov.kr>
- <http://jr1000ecocenter.nowon.kr>
- <https://www.naturing.net>
- <https://www.nie-ecobank.kr>
- <https://www.snu-wildlife.org/%EC%A7%80%EC%9B%90%EA%B3%B5%EA%B3%A0>