

# Application of environmental DNA in the investigation of rare or introduced varieties with carps, bluegills, and frogbits

Jung, Choi

<https://orcid.org/0000-0003-3705-6211>

## Abstract

In this research project, I promote research for the application of environmental DNA to investigate rare or introduced varieties. In particular, I have focused on the development of estimating biomass by environmental DNA concentration in reservoirs and streams, the estimation of the exotic varieties' distribution and biomass, application of environmental DNA technique on introduced or rare water plants. In study A, I measured biomass at the whole reservoir by collection when the reservoir is fully dehydrated and compared the biomass and environmental DNA amount. As a result, there are explicit correlation between eDNA amount and biomass, and its behaviour was not related to where samples were collected such as shore or buffer. In study B, I have done the development of real-time PCR primer probe and outdoor investigation on *Hydrilla verticillate* of and *Egeria densa* which are submerged plants of Hydrocharitaceae to confirm usefulness of eDNA analysis as aquatic plant distribution estimation method. As consequence, it was found that there is a correlation between biomass and eDNA amount and there are more plant eDNAs in some particles where animal eDNAs aren't. The eDNA technique developed in this study is expected to be an effective mean to estimate biomass in various species, investigate organism distribution, determine the invasion scale of exotic genotype quickly.

본 연구 프로젝트에서는 외래종 및 희귀종 조사에 환경 DNA 적용을 위해 연구를 추진하였다. 특히 저수지나 하천에서 환경 DNA의 농도로 생물량을 추정하는 방법의 개발, 외래종의 분포나 생물량 추정, 외래 또는 희귀종인 수초에 대한 환경 DNA 기법 적용에 집중하였다. 연구 A에서는, 저수지에서 물을 건조시켰을 때에 채집 조사를 실시하여 저수지 전체의 생물량을 측정하여 환경 DNA량과 비교하였다. 그 결과, 잉어에서는 환경 DNA량과 생물량에 명료한 관계를 볼 수 있으며, 그 경향은 수변대나 완충대 등의 환경 DNA의 채집 장소와는 별로 관계없는 것을 알 수 있었다. 연구 B에서는, 환경 DNA 분석법의 수생 식물 분포 추정법으로서 그 유용성을 확인하기 위하여 자라풀과의 침수 식물(submerged plant)인 검정말(*Hydrilla verticillata*)과 아나카리스(*Egeria densa*)를 대상으로 실시간 PCR 프라이머 프로브 개발 및 야외 조사를 실시하였다. 그 결과 생물량과 환경 DNA량에 관계가 있다는 것, 동물과는 다른 입자 종류에 환경 DNA가 더 많이 존재한다는 사실이 밝혀졌다. 본 연구에서 개발한 환경 DNA 기법은 다양한 생물종에서의 생물량 추정, 생물 분포 조사, 외래유전자형의 침입 규모를 신속하게 파악하기 위한 효과적인 수단이 될 것으로 여겨진다.

## 0. 환경 DNA 분석법 연구 개발 프로젝트를 시작하며

한 생태계에 서식하는 생물의 종류나 여러 종으로 이루어진 생물 군집의 상황을 알기 위해서는, 먼저 거기에 어떤 생물종이 서식하고 있는지, 얼마나 살았는지에 대한 기본적인 정보가 필요하다. 이러한 정보는 생물 다양성이나 희귀종의 보전, 외래종의 구제 등을 검토하기 위한 기초적인 정보가 된다. 그러나, 실제로 그러한 데이터를 수집하는 것은 생물 포획 조사 등을 해야 하기 때문에, 많은 노력이 뒤따르는 경우가 많아 대규모 서식 조사를 수행하기에 어려움이 있었다.

근래에 들어 환경(물이나 토양 등)에 존재하는 대형 생물(어류 등)에서 유래한 DNA를 해석함으로써 생물의 서식 현황을

알 수 있는 획기적인 방법이 제안되고 있는데(Minamoto et al, 2012), 이 기법은 환경 DNA 분석(Miya et al., 2015)으로 불리고 있다.

실제로 채취한 물이나 토양의 샘플에 그 생물 자체가 존재하지 않아도, 그 생물 유래의 DNA가 포함되어 있으면, 그 DNA를 분석하는 것으로 생물의 생식 상황을 알 수 있는 것이 밝혀져 왔다. 따라서, 생물 분포를 알기 위한 새로운 방법으로 환경 DNA에 의한 생물 분포 모니터링 방법이 이용되기 시작하고 있다.

대형 생물의 환경 DNA 분석은 그 기법이 처음 보고된 지 15년도 지나지 않은 새로운 기술임에도 불구하고 눈부신 진보를 이룩하고 있다. 국내에서도 한 연구(Young-Keun et al., 2019)를 통해 환경 DNA 분석 기술이 시범 적용되고 광역 생태계 조사에서의 가능성을 인정받았다.

그러나, 그 현상의 세부 사항이나 메커니즘, 실제 이용 방법 등은 거의 밝혀지지 않았고, 공공 행정을 위한 조사에서 사용하기 어려운 바, 새로운 분석법 개발이 필요한 상태이다.

본 연구 프로젝트에서는 환경 DNA에 따른 신속하고 간편한 생물 분포 모니터링 방법을 개발할 수 있도록 연구에 임할 계획이다.

생물 종을 보호하고 관리하는 데 있어 가장 기본적이고 중요한 정보는 생물의 서식 분포, 개체 수, 그리고 생물량(biomass)이다. 분포나 개체수 추정에는 다양한 방법과 분포 예측 모형이 제안되어 왔으며, 지금도 그러한 논의가 계속되고 있다.

## 1. 시작하며

기존의 연구들은 생물의 서식 장소나 서식량을 알기 위해서는 채집을 하거나 그물을 치는 등 많은 노력과 시간을 들여 조사를 해야 했다. 이러한 조사 방법들은 신뢰성이 낮다는 점과 조사 대상을 넓힐 수 없다는 것과 같은 문제점이 있었다. 그러므로 생물의 분포나 생물량과 같은 정보를 빠르고 광역으로 추정할 수 있는 새로운 방법을 개발할 필요가 있다.

저수지를 비롯한 수역에서의 생물 분포조사는 지금까지는 그물이나 덫을 이용해서 생물을 포획하거나 육안으로 생식을 확인하는 등의 방법으로 행해져 왔다. 그러나 이들 조사방법은 많은 시간과 노력, 포획한 생물을 동정하는 전문지식 등이 필요하기 때문에 수많은 저수지 모두에서 이러한 조사를 하는 것은 인력이나 시간 확보, 비용 면에서도 곤란하다고 할 수 있다. 최근 이들 기존 방법을 보완하는 새로운 기술로서 환경 DNA를 이용한 생물 분포 및 생물량 조사법이 개발되고 있다. 본 프로젝트에서는 그 기술을 야외 생태계에 적용할 수 있도록 연구를 진행하였다. 특히 외래종과 토종 희귀종에 주목하여 다음 2가지에 대해 연구를 수행하였다.

A. 저수지에서의 생물량 정량: 연못 건조 조사와 환경 DNA 비교

B. 환경 DNA 기법을 이용한 수생 식물의 분포 추정법 개발

## 2. 연구개발 목적

### A. 저수지에서의 생물량 정량: 저수지 건조 시 조사와 환경 DNA 비교

건조 시의 저수지에서는 평상시의 저수지에서는 어려운 생물의 존재 여부 및 생물량 파악을 이전의 조사보다 정확하게 실시할 수 있다. 이를 통해 실제 생물량 데이터와 함께 환경 DNA 데이터를 고찰할 수 있을 것으로 판단하였다. 이에 본 연구에서는 환경 DNA 데이터가 실제 생물량을 어느 정도 반영하는지 밝히는 것을 목적으로 하였다.

## B. 환경 DNA 기법을 이용한 수생 식물 분포 추정법 개발

침수 식물의 환경 DNA 분석법을 이용한 분포 추정법을 개발하기 위해 침수 식물 조사 시 본 기법의 유용성 평가, 분석 정밀도 향상을 위한 기초 정보 수집, 본 기법의 환경 관리에 활용 가능성을 검토하는 것을 목적으로 하였다. 환경 DNA 분석법을 수생 식물에 적용한 연구 예시의 수는 아직 부족하고, 그 중 자연 상태의 집단에 적용한 예는 아직 발표되고 있지 않다. 환경 DNA 분석법의 수생 식물 분포 추정법으로서의 유용성을 확인하기 위해 자라풀과의 침수 식물 검정말(*Hydrilla verticillata*)을 대상으로 실시간 PCR 프라이머 프로브의 개발 및 야외 조사를 실시하였다. 검정말은 그 원산지인 한국이나 일본 등에서는 국소적으로 멸종 혹은 멸종 위기에 있는 재래종이면서, 미국 플로리다나 캘리포니아 등의 지역에서는 외래종으로서 분포를 확대해가고 있다. 따라서 검정말에 대한 분석법 개발은 지역에 따라 희귀종 보전과 외래종 관리에 활용될 수 있다. 또한, 근연종인 *Egeria densa*와 *Elodea nuttallii*는 침습성이 높은 외래종으로 알려져 있다. 따라서 여기서 얻은 지식을 이 두 종에 적용할 수도 있다. 또한 본 생물종은 수족관 용품점 등에서 쉽게 구입이 가능하며 실내 실험이 용이하다.

### 3. 연구개발방법

#### A. 저수지에서의 생물량 정량: 연못 건조 조사와 환경 DNA 비교

건조된 저수지에서 잉어와 특정 외래종인 블루길을 대상으로 환경 DNA 분석과 생물 채집 조사를 실시하여 두 데이터의 관계에 대해 검증하였다. 또한 연못의 부피 등도 분석 시 고려했다. 저수지 건조 시 조사는 G. Ross Lord Reservoir에서 2020년 9월부터 12월에 걸쳐 실시했다. 대상 생물은 잉어와 블루길 2종으로 하고 저수지를 말리기 전에 환경 DNA 채집을, 저수지를 말린 직후 생물 채집 조사를 실시했다. 환경 DNA의 채집은, 저수지를 말리기 10 일 전에 실시했다.

저지의 완충대 3개 지점과 수변(기슭)대 3개 지점 총 6개 지점으로부터 각각 1 L씩 채수한 표본을 냉장하여 가지고 돌아왔다. 저지의 완충대 3개 지점과 수변(기슭)대 3개 지점 총 6개 지점으로부터 각각 1 L씩 채수한 표본을 냉장하여 가지고 돌아왔다. 물은 실험실에서 여과(GF/F), DNA 추출(DNeasy blood and tissue kit protocol)을 실시하여 추출 DNA를 냉동하여 보존하였다. 추출 DNA 샘플은 잉어, 블루길의 미토콘드리아 DNA cytochrome b 영역에 각각 특이적인 PCR 프라이머와 TaqMan 형광 probe 법을 이용해 실시간 PCR(StepOnePlus)로 DNA량을 정량했다.

#### B. 환경 DNA 기법을 이용한 수생 식물 분포 추정법 개발

검정말에 특이적인 PCR 프라이머 TaqMan Probe 영역의 개발을 위해 검정말 및 근연종 7종(*Blyxa echinosperma*, *Blyxa japonica*, *Egeria densa*, *Elodea nuttallii*, *Hydrocharis dubia*, *Ottelia alismoides*, *Vallisneria denseserrulata*)으로 염기 서열이 이미 알려진 matK(엽록체 게놈에 포함)을 참조하였다. 그 결과를 바탕으로 소프트웨어 Primer Express를 이용해 검정말에 특이한 프라이머 프로브를 설계했다. 야외 조사에서는 기존 방법인 육안으로 수행하는 분포 조사와 환경 DNA 분석법 중 어느 쪽이 검정말의 검출력이 높은지를 비교하였다. 조사는 경기도 도내 저수지 6곳(검정말 분포 정보 있음: 2곳, 없음: 4곳)에서 실시했다. 검정말의 분포 정보는 서울대학교의 과거 조사결과로부터 제공받았다. 각 저수지로부터 1L를 채수하여 필터 여과를 통해 DNA를 추출하여 검정말 DNA가 검출되는지를 실시간 PCR로 확인했다.

수종의 환경 DNA량으로 이곳에서 자라는 수초의 생물량을 추정할 수 있는지를 밝히기 위해, 실내의 제어된 환경(Controlled Environment) 하에서 수조 실험을 실시하였다. 실험 대상 생물은 검정말과 아나카리스 2종으로 하였으며, 각 종에 대해 생물량을 3가지 조건(1cm, 4cm, 4cm x 2개)으로 나누어 물 2 L 안에서 10일간 생육했으며, 조건마다 각

각 6번 반복했다. 각종을 투입하고 1일 후, 2일 후, 3일 후, 5일 후, 7일 후, 10일 후에 각각 15mL씩 채수하여 에탄올 침전하고, 환경 DNA를 추출했다. 표본들을 TE로 용해한 후, Proteinase K 처리한 것을 템플릿으로 하고 실시간 PCR로 정량했다.

또한 수생식물 분포조사에서 본 기술의 유용성을 검토하기 위해 3가지 실험을 실시했다. 우선 본 기술을 분포 조사에 활용하는 데 중요한 기초정보가 되는 다음 2가지 사항을 규명하고자 하였다.

B-1 식물에서 환경 DNA로 검출되는 것은 어느 정도 크기이며 동물의 그것과 비교하여 어떠한 차이가 있는가. B-2 자연 조건 하의 집단에서 환경 DNA량은 계절에 따라 변화하는가?

또한, 본 기술이 실제 환경 관리 현장에서 사용가능한지 알아보기 위해, B-3 하천의 유량이 증가한 경우, 식물 환경 DNA의 유량도 변화하는지에 대한 검증도 수행하였다. 이는 자라풀과의 침수 식물종을 이용하여 검증하였다.

B-1의 검증을 위해 아나카리스와 잉어가 같은 곳에 사는 경기도의 하천 및 저수지에서 1 L 채수하여 7개 종류의 필터(100  $\mu\text{m}$ , 60  $\mu\text{m}$ , 30  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$ , 3  $\mu\text{m}$ , 0.8  $\mu\text{m}$ , 0.2  $\mu\text{m}$ )로 여과해 크기를 분획하였다. 각 필터 및 여과액에서 DNA를 추출하고 정량 PCR을 수행해 각 분획의 DNA량을 알아냈다.

다음으로 B-2의 검증을 위해 검정말(*Hydrilla verticillata*)이 분포하고 있는 경기도 저수지 2곳을 대상으로 환경 DNA 양의 계절 변화를 조사했다. 각 저수지에서는 봄부터 겨울에 걸쳐 총 5회 채수하였고 필터로 표본을 여과해 DNA를 추출하고 정량 PCR로 DNA량을 측정하였다.

B-3에서는, 용인시 신갈댐의 순간 대량 방류에 주목하였다. 이 댐에서는 일시적으로 방수량을 증가시켜 하천의 수초나 조류를 한 번에 제거하고 있다. 저자는 선행 조사를 통해 이러한 하천 유량의 증가에 따라 흘러가게 되는 아나카리스가 증가한다는 사실을 확인하였다. 본 연구에서는 이러한 증가에 따라 아나카리스의 환경 DNA량도 증가하는지를 검증하였다. 순간 대량 방류 중 하천 하류에서 1시간 간격으로 1 L씩 총 7회 채수하였다. 각 물 표본을 필터로 여과하여 DNA를 추출하고 정량 PCR로 DNA량을 측정해 아나카리스 DNA량의 변화를 찾아내었다.

## 4. 결과와 고찰

### A. 저수지에서의 생물량 정량: 연못 건조 조사와 환경 DNA 비교

잉어는 저수지 8개 중 7개에서, 블루길은 8개 중 3개에서 서식하는 것으로 확인되었다(표 1). 대상 생물 외에는 붕어속(*Carassius*), 큰입배스(*Micropterus salmoides*), 황소개구리(*Lithobates catesbeianus*), 일본갈겨니(*Nipponocypris sieboldii*), 남방동사리(*Odontobutis obscura*), 붉은귀거북(*Trachemys scripta*) 등이 포획되었다. 또 T4-XX저수지에서는 황소개구리가 압도적인 우점종으로 다른 생물은 거의 보이지 않았다. 채집 조사에 의한 생물량과 환경 DNA의 관계를 그림 6에 나타내었다.

저수지로부터 채취한 물 표본의 DNA량과 채집 조사를 통해 얻은 생물량을 비교한 결과를 그림 1과 2에 나타낸다. x축은 포획된 개체의 총량(kg), y축은 저수지 내 환경 DNA 량(1 L 당 copy 수 \* 각 저수지의 부피( $m^3$ ))을 대수 변환한 값을 이용했다. 또한 (a)는 수변대, (b)는 완충대, (c)는 수변대를 완충대로 평균한 DNA량을 나타낸다.

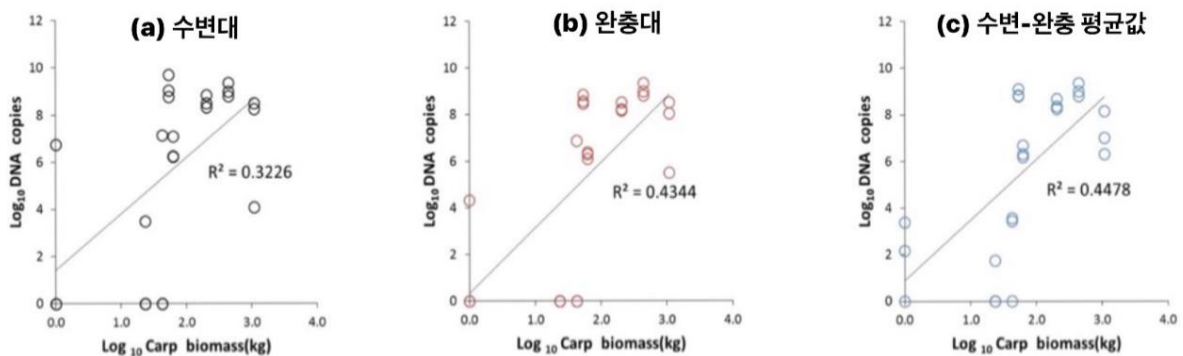
잉어에서는 환경 DNA 량이 생물량을 상당히 반영하는 결과가 나타났다(그림 1). 또한 (a) 수변대, (b) 완충대, (c) 수변-완충 평균값의 3개 그래프 사이에 큰 차이는 보이지 않았으나,  $R^2$ 값은 각각 (a) $R^2 = 0.3226$ , (b) $R^2 = 0.4344$ , (c) $R^2 = 0.4478$ 로 수변대보다는 완충대가, 완충대보다는 수변-완충 평균값이 약간 더 강한 상관관계를 보였다.

한편, 블루길에서는 생물량이 달라도 환경 DNA량은 거의 일정한 값을 나타내며, 환경 DNA량과 생물량 사이에 관계성은 나타나지 않았다(그림 2). 또한 (a), (b), (c)의 3개 그래프 사이에 큰 차이 없이 거의 동일한 결과가 얻어졌다. 게다가 블루길은 수변대에 서식하는 것을 선호하는 습성이 있음에도 불구하고, 수변대에 DNA량이 많다는 결과는 나타나지 않았다.

본 연구에서는 생물의 행동 범위 차이에 따른 환경 DNA 변화에 대해서도 고찰하기 위해 연구 대상을 잉어와 블루길 2종으로 하였으나, 명확한 차이는 나타나지 않았다. 환경 DNA를 통한 종 검출 및 정량과, 저수지 건조를 통한 기존의 채집 조사 데이터를 비교한 결과, 잉어에서는 환경 DNA량이 생물량을 상당히 반영한다는 결과를 얻었다(최대  $R^2 = 0.4478$ ). 그러나, 본 연구의 실험 결과는 선행연구[n]의 실험에 따른 결과(최대  $R^2 = 0.93$ )보다 잉어의 DNA 농도와 생물량 사이에 더 약한 상관관계를 보였다. 본 연구의 결과가 선행연구보다 약한 이유에 대해 생각할 수 있는 인자로는 본 연구가 자연 환경에서 진행되었기 때문에 진흙이 DNA를 흡착하거나 수중의 화학물질에 따른 농도 저해가 있을 수 있다. 또한 저수지는 주변 용수로와 연결되어 있기에, 채수와 채집 조사를 하지 않는 기간에 DNA가 다른 곳으로 이동하였을 가능성과 저수지에 따른 수중 미생물 등에 의한 물질 분해의 영향이 달랐을 가능성 또한 생각할 수 있다. 자연 환경 내 환경 DNA 추출을 저해하는 인자들을 확인하고 그에 대한 교란을 교정하는 것은 향후 환경 DNA 기술을 폭넓게 적용하기 위한 중요한 과제로서 검토될 필요가 있다.

**표 1** 각 지점에서의 대상 생물 채집량

조사지점	Carp (kg)	Bluegill (kg)
T1 서현저수지	22.5	0.0
T2 운중저수지	41.5	44.0
T3 분당저수지	61.9	0.0
T4 이매저수지	0.0	0.0
T5 낙생저수지	51.5	1.0
T6 신대저수지	439.1	0.0
T7 광고저수지	196.1	2.4
T8 원천저수지	391.5	0.0



**그림 1** 잉어에서 나타난 생물량과 환경 DNA량의 관계. 붉은 선과 검은 선은 각각 완충대와 수변대에서의 선형 회귀 모델의 결과를 나타낸다.

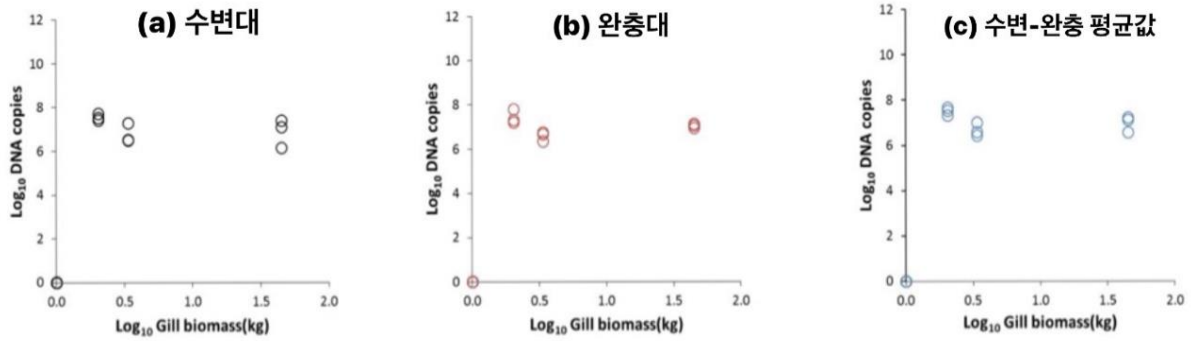


그림 2 블루길에서 나타난 생물량과 환경 DNA량의 관계.

### B. 환경DNA 기법을 이용한 수생식물의 분포추정법 개발

개발된 Primer Probe를 검정말 및 잘못 동정(同定)되기 쉬운 근연종인 아나카리스의 DNA 증폭을 확인한 결과, 검정말에서만 증폭이 확인되어 검정말에 대한 특이성이 확인되었다. 야외 조사 결과 육안으로 아나카리스의 분포를 확인할 수 있는 곳은 2곳뿐이었다. 한편, 환경 DNA 기술로는 육안으로 분포를 확인할 수 있었던 2곳에 더해 3개 저수지(분포 정보 있음: 2곳, 없음: 1곳)로부터 검정말 DNA가 검출되었다. 따라서 이번 결과에서는 환경 DNA 기술을 이용한 분포 조사가 기존의 육안을 통한조사보다 높은 검출력을 갖는 것으로 나타났다. 이러한 점에서 환경 DNA 기술은 수생 식물에서도 검출력이 높아 유용한 분포 추정법이 될 잠재력이 있다.

아나카리스에 대해서는, 생물량이 많아질수록 환경 DNA량도 증가하는 경향이 나타났다(그림 3 A-C). 한편, 검정말에서는 생물량이 적은 조건 하에서도 개체에 따라서 환경 DNA량의 증가가 나타났다(그림 3 D-F).

이번 실험에서 검정말은 아나카리스보다 생물량 자체가 작기 때문에, 생물량이 작은 조건 하에서는 생물량과 환경 DNA량의 상관관계를 보이기 어려움을 생각할 수 있다. 두 종 모두 가장 환경 DNA량이 많아지는 때는 식물체 투입 후 2~3일 후였다. 그 후 환경 DNA량은 감소하는 경향이 나타났으나 개체에 따라서는 증가하는 경우도 확인되었다.

모든 개체에서 환경 DNA량이 0이 되는 날을 확인할 수 있었는데, 이는 환경 DNA가 항상 방출되지 않는음을 시사한다. 이러한 점으로부터 환경 DNA량은 생물량 추정에 활용될 가능성이 있으면서도 그 방출되는 DNA량은 시간에 따라 변화함을 확인할 수 있었다.

환경 DNA 기술을 생물량 추정에 활용하기 위해서는 DNA 양의 시간에 따른 변동이 어떻게 일어나고 있는지에 대해 보다 상세하게 살펴야 할 필요가 있으며, 자연 환경에서는 계절 변동에 따라서도 환경 DNA량이 변화할 수 있으므로, 생물량을 추정함에 있어 주의가 필요하다. 이를 위해 다음 년도에는 자연 조건 하에서 환경 DNA량의 계절에 따른 변동을 조사해볼 예정이다.

실험 B-1의 결과, 아나카리스의 환경 DNA는 0.2  $\mu\text{m}$  미만의 분획에서 유래한 경우에 특히 고농도로 검출되었다(그림 4). 이러한 경향은 하천과 저수지로부터의 표본 모두에서 나타났다. 한편 잉어의 환경 DNA는 0.2  $\mu\text{m}$  미만에서 100  $\mu\text{m}$  이상의 다양한 크기의 분획에서 검출되었다. 이로부터 식물에서는 동물보다 사이즈가 작은 조직 조각에서 DNA가 방출되고 있음을 짐작할 수 있다. 따라서 식물 환경 DNA의 검출도를 증가시키기 위해서는 크기가 작은 조직 조각을 채집할 수 있는 DNA 추출법을 확립하는 것이 중요할 것이다.

또 실험 B-1의 결과 검정말의 환경 DNA량은 시간에 따라 변화하는 것으로 나타났다. DNA량은 여름이나 가을에 최대가

되어, 겨울에 감소하는 경향이 나타났다(그림 5). 검정말은 여름에는 성장하는 양이 증가하고, 겨울에는 지상에 드러난 부분이 소실되는 것으로 알려져 있다. 따라서 식물의 phenology에 의해 환경 DNA량이 변화함을 짐작할 수 있다. 이러한 점에서 환경 DNA 기술을 식물 분포 조사에 응용할 경우 대상 종의 phenology를 고려할 필요가 있다고 할 수 있다.

실험 B-3에서는 순간 대량 방류에 의해 댐 하류 하천의 유량이 증가할 경우, 아나카리스의 환경 DNA 유량도 증가하는 경향이 나타났다(그림 6). 방류 시작에 따라 수위가 상승하기 시작함에 따른 DNA 양의 증가는 다소 지연되어 나타났다. 방류 종료 후 수위가 낮아지자 DNA량도 감소했다. 이는 방류에 의해 떠내려가는 대상 종의 생물량 증가에 따라 환경 DNA량도 증가했음을 시사한다. 비록 이를 검증하기 위해서는 실제 생물량의 측정하는 등의 추가 조사가 필요하지만, 이번 결과는 환경 DNA 기술의 환경 관리에의 응용 가능성을 시사한다.

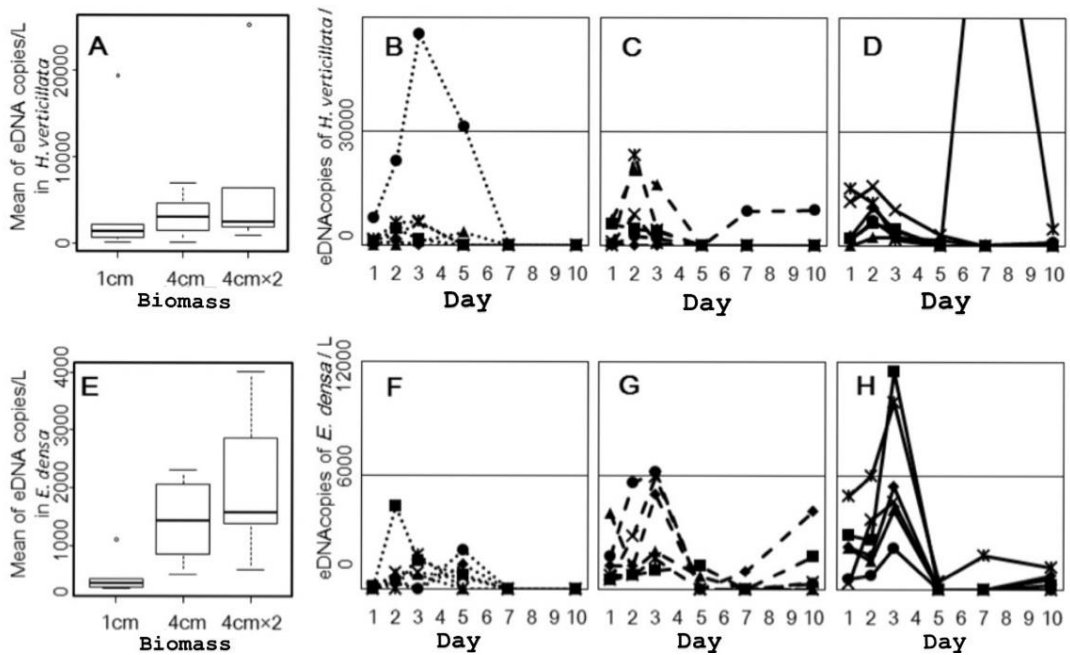


그림 3 검정말(A-D) 및 아나카리스(E-H), 생물량 조건에 따른 환경 DNA량의 평균값(A, E)과 각 생물량 조건 1cm(B, F), 4cm(C, G), 4cm x 2(D, H)에서의 환경 DNA량의 추이가 나타난다.

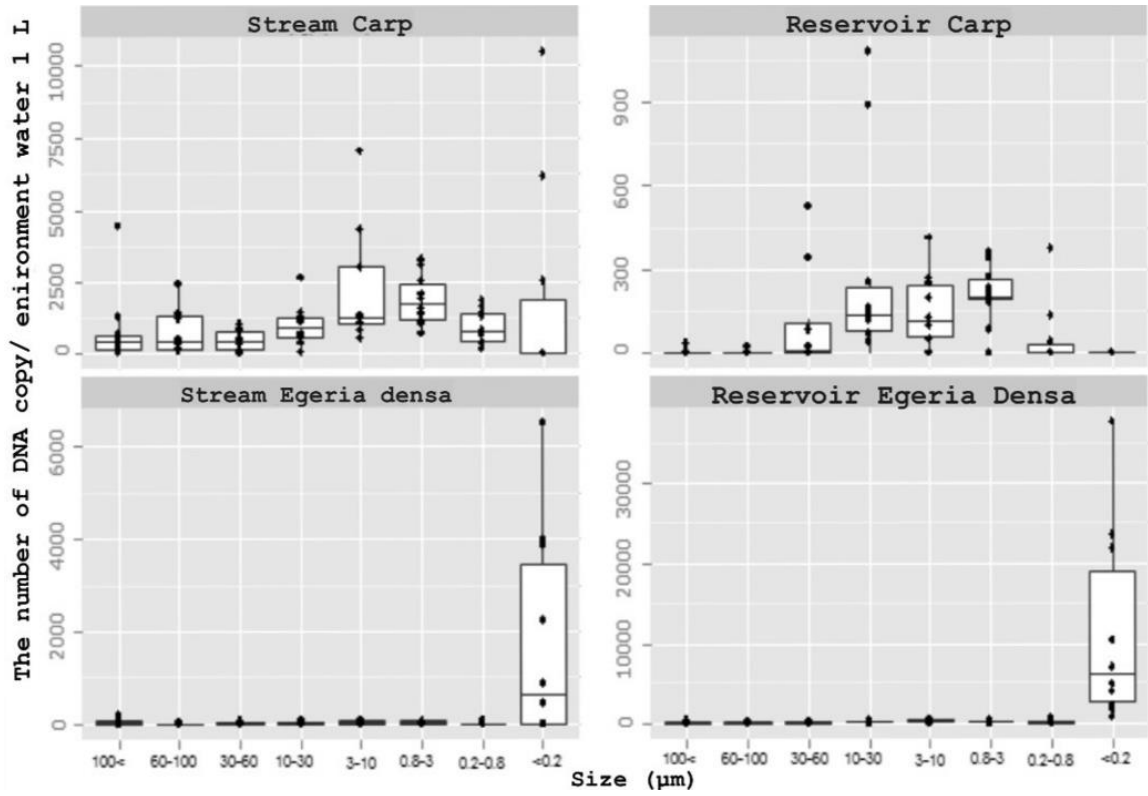


그림 4 잉어, 아나카리스 하천/저수지의 각 사이즈 분획에서 유래한 환경 DNA량.

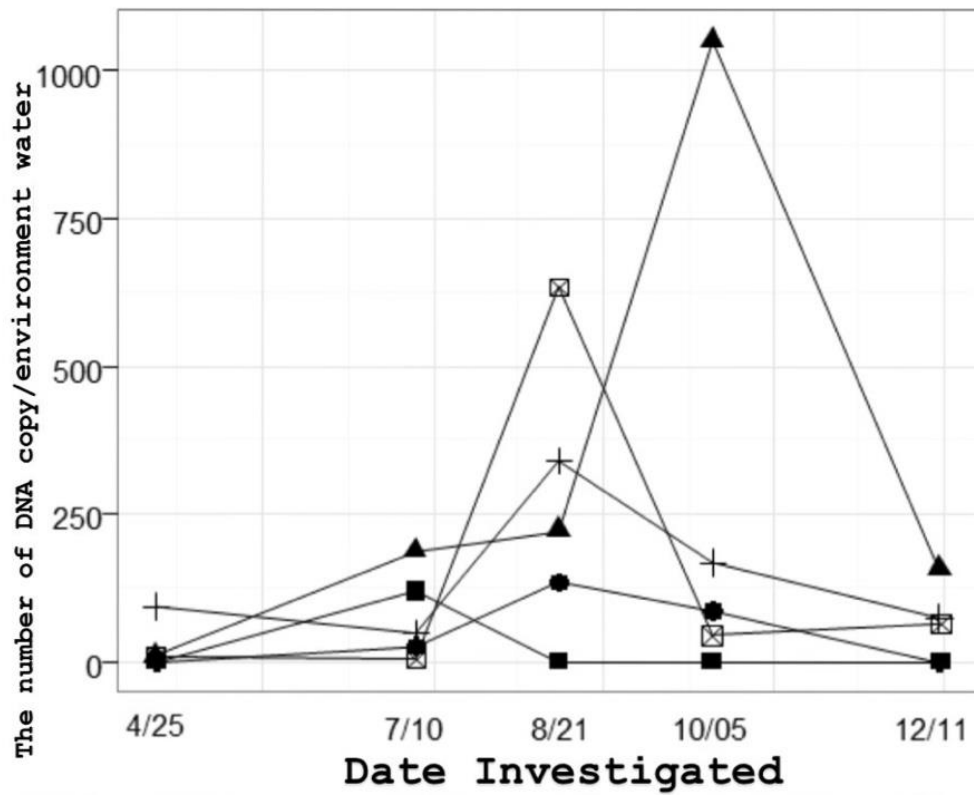


그림 5 5개의 저수지에서의 검정말 DNA 농도의 시간에 따른 변화.



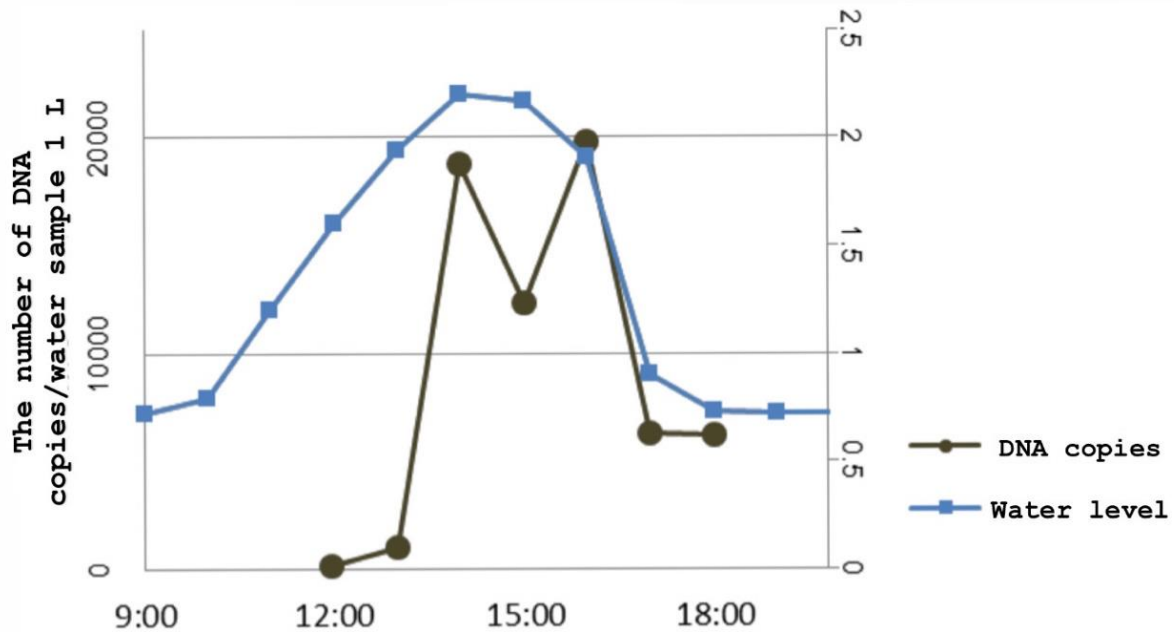


그림 6 순간 대량 방류에 의한 하천 수위와 아나카리스 환경 DNA량의 시간에 따른 변화.

## 5. 본 연구를 통해 얻은 성과

### 5.1 과학적 의의

본 연구 개발로 얻어진 성과의 중요한 과학적 의의로서는 다음의 3가지를 들 수 있다.

우선, 1. 지금까지 실험 생태계를 이용한 다른 연구에서 밝혀진 환경 DNA와 어류의 생물량 및 개체수 간의 관계를 이용해 비교적 면적이 크며 자연환경에 가까운 저수지 전체에 대해서도 어느 정도 적용할 수 있다는 점을 확인하고, 나아가 하천 등의 유수계에서도 적용할 수 있을 가능성을 찾아냈다.

2. 동종 내 외래종과 같은 종 내 유전자형 간 차이를 환경 DNA로 판별해 그 비율을 정량할 수 있는 가능성을 확인했다.

3. 수초(자라풀과)에 대해 환경 DNA로 서식 분포를 밝힐 수 있다는 점, 또한 그 DNA를 포집하는데 적합한 채집 방법이나 필터의 크기, 계절 환경 등을 밝혔다.

### 5.2 환경 정책에 대한 공헌

이러한 본 연구 개발을 통해 얻어진 환경 DNA 기술은 지역 환경 정책 입안에 참고하는 환경 관리 데이터 수집에 사용될 수 있다. 환경 DNA를 통해 척추동물에서 수초까지 다양한 생물종의 서식지와 생물량을 평가할 수 있다는 점에서, 본 기술은 신속하고 간편한 서식 분포 조사와 모니터링을 위해 이용될 것으로 예상된다. 또한 물이 흐르는 시스템인 하천에서의 어류나 수초의 생물 정량에도 적용 가능하며, 새로운 생물량 조사 방법으로 매우 효과적일 것으로 전망한다.

## References

Minamoto, T., Yamanaka, H., Takahara, T., Honjo, M. N. and Kawabata, Z. I. 2012. Surveillance of fish species composition using environmental DNA. *Limnology*. 13(2), 193-199

Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K. and Kondoh, M. 2015. MiFish, a set of u

niversal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society open science*. 2: 150088.

Song, Young-Keun, Kim, Jong-Hee, Won, Su-Yeon Park, Chan (2019) Possibility in identifying species composition of fish communities using the environmental DNA metabarcoding technique, *Journal of the Korea Society of Environmental Restoration Technology*. vol.22, no.6 pp.125-138. Available from: doi:<https://doi.org/10.13087/kosert.2019.22.6.125>

Takahara T, Minamoto T, Yamanaka H, Doi H, Kawabata Z (2012) Estimation of Fish Biomass Using Environmental DNA. *PLOS ONE* 7(4): e35868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035868>

### 감사의 글

통계 데이터 분석 및 해석, 방법론 조언에 도움을 준 Irene Chen, Soul Choi 께 감사드립니다.

### Copyright

The copyright holder for this preprint is the author. It is made available under a [CC-BY-NC-ND 4.0 International license](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).