

## 방사선 촬영 기법을 이용한 양서류 신체상태 평가: 골밀도와 먹이 자원 가용성 간의 상관 관계

박준규 · 도윤호\*

공주대학교 생명과학과

**Assessment of Body Condition in Amphibians Using Radiography: Relationship between Bone Mineral Density and Food Resource Availability.** Jun Kyu Park (0000-0002-1922-1466) and Yuno Do\* (0000-0001-8235-1645) (Department of Biological Science, Kongju National University, 56, Gongjudaehak-ro, Gongju-si, Chungcheongnam-do 32588, Republic of Korea)

**Abstract** We measured the body composition, including bone mineral density (BMD) and food resource availability using dual energy X-ray absorptiometry and the carbon and nitrogen stable isotope ratios of body condition of 4 anuran species (*Hyla japonica*, *Glandirana rugosa*, *Pelophylax nigromaculatus*, *Lithobates catesbeianus*) in South Korea. Additionally, the carbon and nitrogen stable isotope ratios were employed to determine the food resource availability of anurans. We figured out the relationship between the body composition, including BMDs and food resource availability. The body composition and BMDs did not differ between male and female while there was difference among the species. Food resource availability and BMDs were the highest in *L. catesbeianus*, the lowest in *H. japonica*. BMDs tended to increase with higher food resource availability. Body composition and BMDs, which represent the body condition of an individual, can be used as an ecological indicator to assess the stability of the habitat of anurans.

**Key words:** radiography, body composition, bone mineral density, food resource availability, ecological indicator

### 서 론

양서류의 지역 집단과 개체군은 현재 생물다양성 위기를 전형적으로 설명할 수 있을 만큼 빠르게 쇠퇴하고 있다 (Stuart *et al.*, 2004). 양서류의 멸절 또는 개체군 감소를 저지하기 위해 위협요인을 파악하고 저감 또는 제거하기 위해 노력이 필요하다 (Sodhi *et al.*, 2008). 하지만 우선 되어야 할 작업은 각 집단 내 개체와 종내의 에너지 저장 상태를 나타내는 신체 상태(또는 건강 상태)를 정확하게 진단하는

것이다(Dodd, 2010). 이를 기반으로 환경 스트레스, 먹이자원, 물리화학적 교란 등에 따른 개체의 생리 반응을 이해할 수 있다(Castellano *et al.*, 2004; Sztatecsny and Schabetsberger, 2005).

무미양서류의 신체 상태를 측정하는 대표적인 방법은 길이-무게를 기반으로 계산된 지수들이다(Green, 2001). 이들 지수는 비만도를 추측하고 에너지원의 저장 상태를 대략적으로 파악할 수 있게 해준다. 최근에는 Micro-CT 및 이중 엑스선 촬영 장치(Dual energy x-ray absorptiometry, DEXA)와 같은 방사선 촬영 기법을 통해 개체의 골, 지방, 근육, 수분의 질량, 부피, 밀도 및 비율 등 정밀한 신체상태를 파악하기도 한다(Martini *et al.*, 1996; Hopton *et al.*, 2009). 또한 무미양서류의 골밀도를 계산해서 개체의 영양

Manuscript received 22 October 2019, revised 26 November 2019, revision accepted 27 November 2019  
\* Corresponding author: Tel: +82-41-850-8501, Fax: +82-41-850-8501, E-mail: doy@kongju.ac.kr

결핍, 골 기형 및 회복 유무 등을 진단할 수 있다(Shaw *et al.*, 2012). 방사선 촬영 기법이 개체의 신체 및 영양 상태를 파악하기 적합한 방법임에도 불구하고 비용과 시간적 제한으로 널리 사용되지는 않고 있다. 일부 연구자들은 양서류에서 질병의 임상적 증거나 영양 요구가 충족되었는지 여부를 판단하기 위해 방사선 촬영이 반드시 필요하다고 강조했다(King *et al.*, 2011).

본 연구에서는 방사선 촬영기법을 이용하여 야생 무미양서류들 개체의 신체 및 영양 상태를 파악했다. 국내외 방사선 촬영기법을 적용하여 무미양서류의 신체상태를 조사한 사례가 많지 않아 본 연구에서는 우선 국내에 널리 분포하는 무미양서류인 청개구리(*Hyla japonica*), 옴개구리(*Glandirana rugosa*), 참개구리(*Pelophylax nigromaculatus*), 황소개구리(*Lithobates catesbeianus*)의 체성분(골, 지방, 제지방)과 골밀도를 확인했다. 체성분들은 물질의 저장소 역할뿐만 아니라 영양소의 구조적 안정성, 신진대사 및 물질 운반에 도움을 주기도 한다(Bentley, 1984; Venesky *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2013). 골격 역시 다양한 미네랄 요소의 저장소 역할을 하며 지방과 근육은 에너지원으로 이용된다. 이들의 체내 저장 상태는 양서류 신체 건강에 영향을 주어 번식, 성장, 면역 등에 영향을 미친다(Girish and Saidapur, 2000a).

다양한 물리화학적 교란요인이 무미양서류의 체성분과 골격에 영향을 미칠 수 있지만 가장 기본적으로는 무미양서류의 먹이로부터 흡수되는 비타민(A, B, D3), 미네랄( $Ca^{2+}$ ,  $P^{3-}$ ,  $Zn^{2+}$ ), 영양소(단백질, 지방) 등이 신체상태에 직접적으로 영향을 미친다. 양서류에게 먹이의 종류나 상태는 영양 성분의 조합을 다양하게 만들어 양서류의 몸을 구성하는 체성분의 변화를 초래할 수 있다(Green, 2002; Gar-

ner *et al.*, 2009). 본 연구에서는 먹이 상태를 평가할 수 있는 탄소와 질소 안정동위원소를 분석(Stable Isotope Analysis)하여 신체상태와의 관계를 파악해 신체 상태 평가 방법으로서의 방사선 촬영 기법의 효용성을 검증하였다.

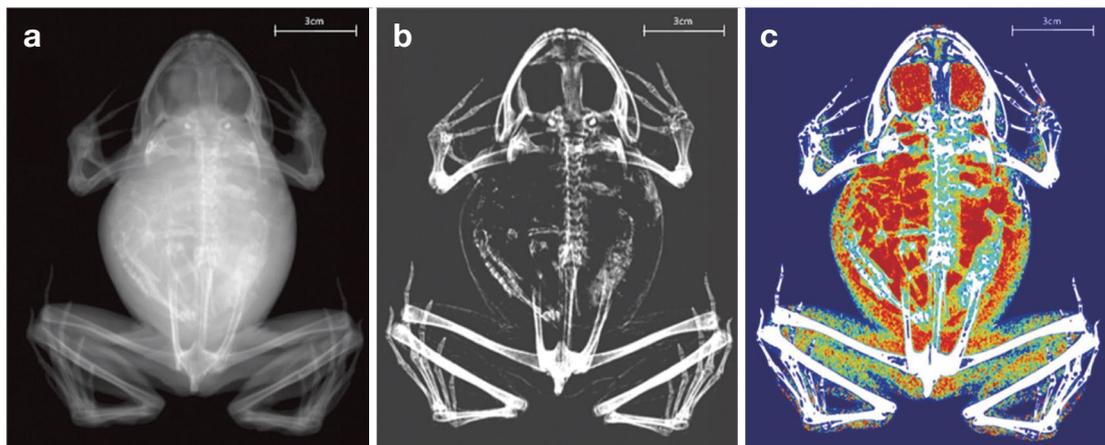
## 재료 및 방법

### 1. 현장 조사

논(수답)이나 연못과 같이 정수성 습지를 선호하는 무미양서류 중 국내 법정 보호종이 아닌 청개구리(*H. japonica*), 옴개구리(*G. rugosa*), 참개구리(*P. nigromaculatus*), 황소개구리(*L. catesbeianus*)를 충청남도 공주시와 세종특별자치시 일원에서 채집하였다. 서식지 환경(수심, 식생, 수질, 지리적 위치 등)에 따른 신체 상태의 영향을 배제하기 위해 4종이 모두 서식하는 8개 지점을 선정하여 무미양서류를 채집하였다. 채집 개체 중 2차 성 분화가 진행되지 않은 미성숙 개체는 제외하였다. 방사선 조사와 안정동위원소 분석에는 청개구리와 옴개구리, 참개구리는 각각 8개체(암수 각 4개체)이며 황소개구리는 6개체(암수 각 3개체)를 사용하였다.

### 2. 체성분 및 골밀도 분석

방사선 촬영 기법 중 하나인 이중 엑스선 촬영 장치(Dual-energy X-ray absorptiometry, InAlyzer, Medikors)를 사용하여 실제 에너지 저장 상태를 나타낼 수 있는 체성분과 골밀도(Bone mineral density; BMD:  $g\ cm^{-2}$ )를 측정하였다(Fig. 1a). 또한 방사선 촬영을 통해 획득한 골 이미지에서 각



**Fig. 1.** X-ray image of *Lithobates catesbeianus* from Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA). (a) Body image, (b) bone image (c) composition image (green areas: lean body mass, red areas: fat contents).

개체의 골 질량인 골질, 골 기형의 유무를 확인하였다(Fig. 1b). 이중 엑스선 촬영 장치는 고선량과 저선량 두 종류의 엑스선을 번갈아 투과시켜 투과되는 선량 차이에 의해 골(Bone mineral contents, BMC), 지방(Fat), 제지방(Lean) 부위를 나눈다(Fig. 1c). 제지방 부위는 전체 조직에서 지방 부위를 제외한 나머지 부분으로, 수분량과 근육량의 합이다. 투과성 피부를 가지는 무미양서류의 특성상 체내 수분량이 체 성분 결과에 영향을 끼칠 수 있어 최소 한 달 이상 95% 에탄올에 1개월 이상 보관하여 탈수 처리시켰다.

### 3. 먹이자원 가용성 분석

무미양서류의 대퇴부에서 적출한 근육조직을 이용하여 탄소( $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ )와 질소( $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) 안정동위원소비를 계산하였다. 근육 조직을  $-80^\circ\text{C}$ 에서 48시간 동결건조 시켜 막사 사발로 분쇄 및 균질화하였다. 탄소 안정동위원소 분석을 위한 시료는 지질 제거를 위해 클로로포름(Chloroform)과 99.5% 메탄올(99.5% Methanol) 혼합물(2/1, v/v)을 시료에 첨가하고 원심분리 시킨 뒤 상층액을 분리했다. 이 과정을 3회 반복하고 시료를 동결 건조( $-80^\circ\text{C}$ , 48 hr)하여 잔류 용액들을 제거하고 균질화 한 뒤 시료를 제작했다. 탄소 및 질소 안정동위원소 분석 시료는  $6 \times 4 \text{ mm}$  텅 캡슐(Tin capsule)에  $0.1 \sim 0.2 \text{ mg}$ 씩 분배했다. 탄소, 질소, 황 원소 분석기와 연결된 안정동위원소 질량분석기(Isotope ratio-mass spectrometer, Micromass IsoPrime, UK)를 사용하여 탄소와 질소 안정동위원소를 분석하였다. 질량분석기의 탄소 표준 시료는 PDB (Pee Dee Belemnite)가 사용되었으며 질소 표준 시료는 대기 중 질소 국제 표준 시료(Atmospheric  $\text{N}_2$ )가 사용했다. 측정된 표준 시료(Reference)의 안정동위원소비와 표본(Sample)의 안정동위원소비를 통하여 탄소 및 질소 안정동위원소비를 다음과 같은 식을 통해 계산했다.

$$\delta^{13}\text{C} = \left( \frac{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}(\text{Sample})}{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}(\text{Reference})} - 1 \right) \times 1000 (\text{‰})$$

$$\delta^{15}\text{N} = \left( \frac{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}(\text{Sample})}{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}(\text{Reference})} - 1 \right) \times 1000 (\text{‰})$$

R 소프트웨어 버전 3.6.1 (R Core Team, 2013)의 SIAR 패키지(Stable isotope analysis in R, Parnell *et al.*, 2013)를 이용하여 먹이 자원의 이용 범위를 나타낼 수 있는 표준타원영역(Standard ellipse area, SEA), 표본크기보정 표준타원영역(Sample size corrected standard ellipse area, SEAc) 및 볼록껍질 총 면적(Convex hull total areas, TA)을 산출했다. 세 가지 종류의 영역과 면적들이 의미하는 먹이 자원 가용성은 베이저안 믹싱모델을 기반으로 탄소와 질소의 안

정동위원소비의 계산을 통해 획득되었다. 탄소 안정동위원소의 농도 비율은 동물 내에서 영양 단계가 증가하더라도 평균적으로 크게 변화하지 않기 때문에 먹이의 기원을 추적하는 용도로 사용된다. 반면 질소 안정동위원소비의 경우 동물의 질소 노폐물 배출 기작에 의해 축적되며 동물의 먹이 그물 내 각 영양 단계가 증가함에 따라 약 3~5‰ 정도 함께 상승하기 때문에 동물의 영양 단계를 나타낼 수 있다(Zanden and Rasmussen, 2001; Kim *et al.*, 2013). 이 두 동위원소비의 넓이는 사용 가능한 먹이원의 범위와 영양 단계 내에서 섭식 가능한 먹이의 범위를 의미한다. 골밀도와 먹이자원 가용성 간의 상관성 분석에는 표본의 편중을 줄인 뒤 계산된 영역인(Melody *et al.*, 2016) SEAc를 이용했다.

### 4. 통계 분석

종과 암수 간 각 체성분(BMC, Fat, Lean) 비율(%)과 골 밀도(BMD:  $\text{g cm}^{-2}$ ) 차이는 이원배치분산분석(Two way ANOVA test)을 사용하여 확인하였다. 4종의 무미양서류에서 탄소 및 질소 안정동위원소비의 차이를 파악하기 위해 일원배치분산분석(One way ANOVA test)을 사용하였다. 유의한 차이가 나는 분산에 대해서는 Tukey 사후 검정을 실시하였다. 또한 골밀도와 먹이 자원 이용 가용성의 상관관계를 파악하기 위해 피어슨 상관 분석(Pearson correlation analysis)을 사용하였다. 통계 분석은 GraphPad Prism (Version 7.00, GraphPad Software, San Diego, USA)과 PAST (Hammer *et al.*, 2001) 소프트웨어를 이용하였다.

## 결 과

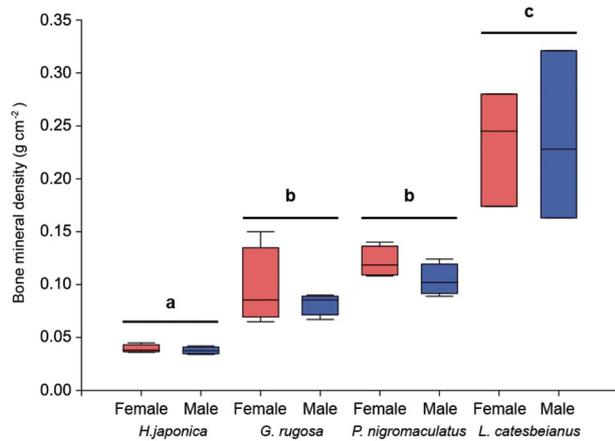
### 1. 체성분

무미양서류 4종의 평균 체성분 비율은 골 비율  $3.5 \pm 1.4\%$ , 지방 비율  $31 \pm 4.6\%$ , 제지방 비율  $65.5 \pm 3.8\%$ 이었다(Table 1). 골 함량 비율(Two way ANOVA,  $F = 13.401$ ,  $p < 0.05$ )과 지방 함량 비율( $F = 7.266$ ,  $p < 0.05$ ), 제지방 함량 비율( $F = 4.569$ ,  $p < 0.05$ )은 종 간 서로 유의미한 차이가 있었다(Table 1). 하지만 암수 간 골 함량 비율(Two way ANOVA,  $F = 2.880$ ,  $p > 0.05$ ), 지방 함량 비율( $F = 0.184$ ,  $p > 0.05$ ), 제지방 함량 비율( $F = 0.729$ ,  $p > 0.05$ )은 모두 종 간 차이가 없었다.

청개구리의 골 함량 비율은 다른 3종에 비해 유의하게 낮은 반면(Tukey's test,  $p < 0.05$ ), 다른 3종들의 골 함량 비율은 서로 다르지 않았다(Tukey's test,  $p > 0.05$ ). 옴개구리

**Table 1.** Body composition of anuran species: Bone mineral contents (BMC) ratio (%), fat ratio (%), lean body ratio (%). The lowercase letter represents significant difference ( $p < 0.05$ ) of BMC, fat and lean ratio among four species retrieved from Tukey post-hoc test.

Items	Species				Mean $\pm$ SD
	<i>Hyla japonica</i>	<i>Glandirana rugosa</i>	<i>Pelophylax nigromaculatus</i>	<i>Lithobates catesbeianus</i>	
BMC (%)	1.9 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	4.8 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	3.8 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	3.4 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	3.5 $\pm$ 1.4
Fat (%)	34 $\pm$ 1.3 <sup>ab</sup>	26.4 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	30.7 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	33.6 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>	31 $\pm$ 4.6
Lean (%)	64.2 $\pm$ 1.2 <sup>ab</sup>	68.9 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	65.5 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	63 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>	65.5 $\pm$ 3.8

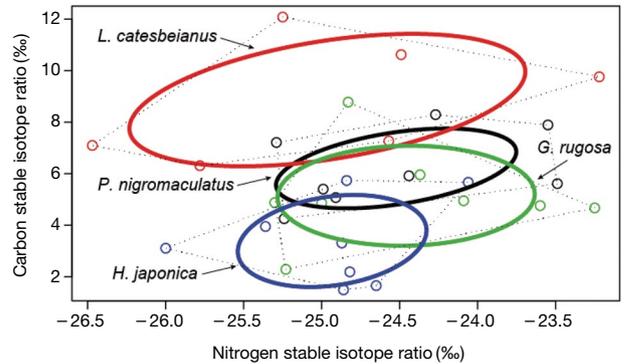


**Fig. 2.** Comparison of BMD ( $\text{g cm}^{-2}$ ) in 4 anuran species (*H. japonica*, *G. rugosa*, *P. nigromaculatus*, *L. catesbeianus*). Box plots show the median (central band), minimum (bottom line), maximum (upper line), 25th and 75th percentiles (bottom and top of boxes). Lowercase letter indicated the difference ( $p < 0.05$ ) of BMDs from Tukey Post Hoc test.

와 청개구리의 지방과 제지방 함량 비율은 서로 차이가 없었다(Tukey's test,  $p > 0.05$ ). 옴개구리의 지방 함량 비율은 참개구리와 황소개구리보다는 낮은 반면, 제지방 함량 비율은 참개구리와 황소개구리보다 높았다(Tukey's test,  $p < 0.05$ ). 옴개구리를 제외한 나머지 3종의 지방 함량 비율과 제지방 함량 비율은 차이가 없었다(Table 1).

**2. 골밀도**

무미양서류 4종 30개체의 골 이미지 분석 결과 부상 골절, 접합 골절 혹은 대사성 골 질환을 가지는 개체는 발견되지 않았다. 골밀도는 암수 사이에 차이가 없었지만(Two way ANOVA,  $F = 0.344$ ,  $p > 0.05$ ) 종 간에는 서로 유의미한 차이를 보였다( $F = 41.861$ ,  $p < 0.05$ ). 청개구리의 골밀도가 가장 낮았으며( $0.039 \text{ g cm}^{-2}$ ) 황소개구리의 골밀도가 가장 높았다(Fig. 2) ( $0.235 \text{ g cm}^{-2}$ ). 참개구리의 골밀도( $0.113 \text{ g cm}^{-2}$ )와 옴개구리의 골밀도( $0.090 \text{ g cm}^{-2}$ )는 서로 차이가 없어(Tukey's test,  $p > 0.05$ ) 황소개구리와 청개구리의 골밀도 중간에 위치하였다(Tukey's test,  $p > 0.05$ , Fig. 2).



**Fig. 3.** Standard ellipse areas and convex hull total areas of 4 anuran species (*H. japonica*, *G. rugosa*, *P. nigromaculatus*, *L. catesbeianus*).

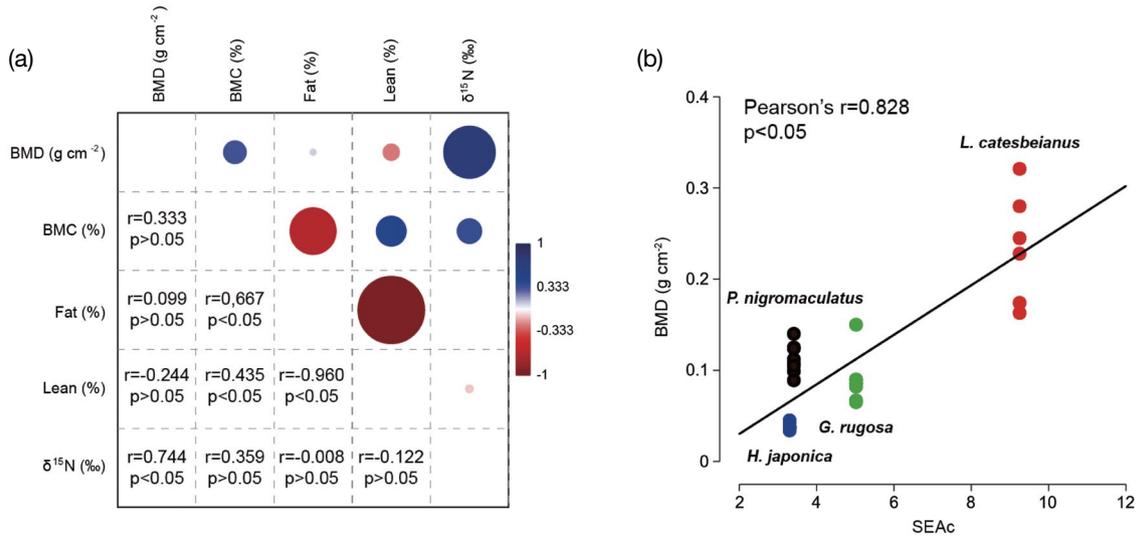
**Table 2.** Food resource availability of anuran species: Standard ellipse area (SEA), sample size corrected standard ellipse area (SEAc), convex hull total areas (TA).

Species	n	SEA	SEAc	TA
<i>Hyla japonica</i>	8	2.83	3.30	4.47
<i>Glandirana rugosa</i>	8	4.30	5.02	6.69
<i>Pelophylax nigromaculatus</i>	8	2.92	3.41	5.22
<i>Lithobates catesbeianus</i>	6	7.40	9.25	9.53

**3. 먹이자원 가용성 분석**

탄소 안정동위원소비는 4종 간 유의미한 차이가 없었던 반면(One way ANOVA,  $F = 0.755$ ,  $p > 0.05$ ) 질소 안정동위원소비는 유의미한 차이를 가졌다( $F = 11.24$ ,  $p < 0.05$ ). 질소 안정동위원소비는 3종 중 황소개구리가 가장 높았으며( $8.86 \pm 2.3\%$ ) (Tukey's test,  $p < 0.05$ ) 황소개구리를 제외한 다른 3종의 질소 안정동위원소비는 종 간 유의미한 차이가 없었다. 먹이 자원 가용성 값 모두 황소개구리가 독립적 위치에 존재하고 넓이 역시 가장 높았다(Fig. 3). 반면, 청개구리의 먹이자원 가용성 값은 4종 중 가장 낮았다(Fig. 3). 참개구리와 옴개구리의 먹이 자원 가용성은 서로 중첩되고 황소개구리와 청개구리 사이에 위치하였다(Table 2, Fig. 3).

골밀도에 영향을 줄 수 있는 체성분 구성요소들과 질소



**Fig. 4.** Relationship among body compositions and food resource availability. (a) Pearson correlation among the compositions of body condition (b) relationship between SEAc and BMD of 4 anuran species (*H. japonica*, *G. rugosa*, *P. nigromaculatus*, *L. catesbeianus*).

안정동위원소 간의 상관관계 분석을 통해 골밀도가 먹이의 상태를 나타낼 수 있는 질소 안정동위원소와 유의미한 상관관계 (Pearson's  $r=0.744$ ,  $p<0.05$ )를 가지는 것을 확인하였다 (Fig. 4a). 체성분 함량 비율 간에 나타나는 상관관계는 비율로 산출한 값이기 때문에 한 구성요소의 증감에 따라 변화하는 것을 보였다. 특히 4종의 골밀도는 SEAc 값과 양의 상관관계 (Pearson's  $r=0.828$ ,  $p<0.05$ )로 먹이 자원 가용성이 증가할수록 골밀도가 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 4b).

## 고찰

### 1. 체성분

본 연구에서는 국내에 광역분포하는 4종의 무미양서류를 대상으로 방사선 조사를 실시하여 각 종의 체성분과 골밀도를 이용하여 신체상태를 평가하였다. 또한 안정동위원소를 기반으로 먹이자원 가용성을 파악하여 신체상태와 먹이자원 가용성 간의 상호관계를 파악하였다.

지방과 제지방, 골 함량 등 체성분은 종별 또는 개체별 일부 차이가 있을 수 있지만 4종의 무미양서류에서 제지방량이 가장 높은 비율을 차지하고 지방, 골 함량 순이었다. 체성분 구성요소들의 비율은 각 생물군 내에서는 비교적 일정한 비율을 가지고 있다 (Berg and Butterfield, 1966; Mitchell *et al.*, 1997; Reed *et al.*, 2007). 개체 간의 편차는 나타나지만 종 간 또는 상위분류군 내에서는 편차가 적다. 종

수준 또는 상위분류군 수준에서는 각 생물군이 생존 또는 활동에 적합한 체성분 비율을 가지고 있는 것으로 보인다.

본 연구에서 청개구리의 골 함량 비율은 다른 3종에 비해 매우 낮았다. 청개구리는 나머지 3종과 달리 초목을 기어오르거나 초목 사이를 점프하는 특성을 가지고 있다. 상대적으로 가벼운 무게가 이러한 행동 또는 생태 특성에 더 적합할 수 있다. 체성분 구성요소 중 골의 비중이 근육과 지방에 비해 높기 때문에 (Behnke *et al.*, 1942) 상대적으로 낮은 골 함량이 가벼운 무게를 유지하는데 도움이 될 수도 있다. 이러한 행동 특성이 골 함량이나 골밀도에 영향을 미치는 것은 일부 척추동물에서도 관찰이 된다 (Novacosky and Popkin, 2005; Dumont, 2010). 옴개구리의 지방 함량 비율은 다른 종에 비해 낮았다. 이는 본 분석에 사용된 옴개구리 개체들이 번식 절정기인 7월 중순에 채집된 개체로 번식 시기 일시적으로 지방함량이 감소한 것으로 추측된다. 무미양서류에서는 번식 초기 체지방량이 급격하게 감소하지만 번식기가 지난 이후 암컷과 수컷 모두 회복되는 양상을 띤다 (McCoid and Fritts, 1989; Girish and Saidapur, 2000b). 무미양서류의 체성분 비율은 기온, 수온에 영향을 끼치는 계절 변화와 번식기와 동면기 등 생활사 등의 영향을 받을 수 있어 안정적인 체성분 값을 확보하기 위해 측정 시기를 고려해야 한다 (Pancharatna and Saidapur, 1985; Chen *et al.*, 2015).

본 연구에 사용된 무미양서류 개체 중 외상 골절이나 대사성 골 질환 및 접힘 골절은 발견되지 않았다. 골절은 무미양서류 단일 먹이원만 급여하면서 사육하여 영양상태 극

도로 저하된 경우 발생한다(Wright, 2001). 하지만 야생에서 다양한 먹이원을 섭식할 수 있는 개체에서 대사성 골질환인 골질이 관찰되는 경우는 드물다(King *et al.*, 2011).

## 2. 골밀도와 자원 유용성

본 연구에서 무미양서류 4종의 체성분과 골밀도는 암수 간 서로 차이가 없었다. 이는 체성분과 골밀도에 영향을 미칠 수 있는 활동성이나 먹이 구성, 먹이 자원 가용성이 암수 간 서로 차이가 없기 때문으로 생각된다(Hirai and Matsui, 2000). 골밀도는 다양한 미네랄 요소의 조합을 통한 대사 경로로 인해 유지되고(Cashman, 2006) 이에 필요한 대부분의 미네랄 요소와 영양 성분은 먹이를 통해서 공급받는다. 따라서 먹이의 구성과 유용성은 골밀도에 영향을 줄 수 있다.

골밀도는 종 간 유의미하게 차이가 있었고 먹이자원 가용성과 정적 상관관계를 나타내었다. 먹이자원 가용성이 높고 골밀도 역시 4종 중 가장 높은 황소개구리는 곤충은 물론 어류, 양서류, 포유류, 조류에 이르는 다양한 먹이를 섭식하는 것으로 알려져 있다(Hirai, 2004; Xuan *et al.*, 2015). 먹이원에 각종 장기와 골이 함유된 척추동물 먹이는 섭식자에게 충분한 영양소를 제공할 수 있다(Donoghue, 1998). 반면 골밀도와 먹이자원 가용성이 가장 낮은 청개구리와 옴개구리는 대부분 곤충을 주로 포식하는 충식성에 가깝다(Han *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2018). 청개구리의 주 먹이원인 곤충류는 소화가 되지 않는 키틴질 함량이 높고 단백질함량에 비해 미네랄과 비타민 함량이 낮다. 따라서 대사성 골질환을 유발할 한계치를 넘어서지는 않지만 다른 종에 비해 먹이를 통해 흡수되는 미네랄과 비타민 함량이 상대적으로 낮을 수 있다(McWilliams, 2008). 참개구리는 먹이자원 가용성은 물론 골밀도도 청개구리보다는 높지만 황소개구리보다는 낮다. 참개구리는 곤충을 포함하여 무척추동물인 절지류, 복족류까지 다양한 먹이를 섭식한다(Yoon *et al.*, 1998). 따라서 기회적 포식자인 무미양서류의 먹이 자원 가용성은 이를 통해 흡수되는 영양소에 영향을 미쳐 체성분은 물론 골밀도에도 변화를 줄 수 있다. 또한 포식성이 강할수록 먹이자원 가용성은 증가하고 신체상태 역시 양호할 가능성이 높다.

방사선 촬영을 통해 확인할 수 있는 체성분과 골밀도는 종 간의 유의미한 차이를 바탕으로 개체 또는 개체군 단위에서의 건강상태를 파악할 수 있는 지표로 준용할 수 있을 것으로 보인다. 특히 먹이원의 다양성을 기초로 서식지 안정성을 평가하는 데도 활용이 가능해 보인다. 이를 위해서는 각 종별 체성분과 골밀도의 기준 범위(Reference interval)를 설정하는 연구가 수반되어야 한다.

## 적 요

본 연구에서는 방사선 촬영 기법을 사용하여 국내에 서식하는 무미양서류인 청개구리(*Hyla japonica*), 옴개구리(*Glandirana rugosa*), 참개구리(*Pelophylax nigromaculatus*), 황소개구리(*Lithobates catesbeianus*)의 체성분과 골밀도를 분석하였다. 이중 엑스선 촬영 장치(Dual-energy X-ray absorptiometry)를 사용하여 체성분과 골밀도를 측정하였으며 암수 간 차이와 종 간 차이를 파악하였다. 또한 방사선 촬영 기법을 사용한 신체 상태 평가 방법의 효용성을 확인하기 위해 무미양서류 4종의 먹이자원 가용성을 파악하고 신체상태와의 관계를 확인하였다. 신체를 구성하는 성분인 골, 지방, 제지방 비율과 골밀도는 암수 간 차이가 없었지만 무미양서류 4종 간 차이는 있었다. 골밀도와 먹이자원 가용성은 황소개구리가 가장 높았으며 청개구리가 가장 낮았다. 옴개구리와 참개구리의 먹이자원 가용성은 차이가 없었다. 골밀도와 먹이자원 가용성은 유의미한 상관관계를 가졌으며 먹이 상태를 나타내는 질소 안정동위원소비는 골밀도에 의해서만 변화하는 것을 확인하였다. 기회적 포식자인 무미양서류의 먹이 상태 혹은 자원 가용성이 체성분은 물론 골밀도에 영향을 미칠 수 있다. 개체의 신체 상태를 나타내는 체성분과 골밀도는 무미양서류에서 서식지의 안정성을 평가하는 생태지표로서 사용이 가능할 것으로 보인다.

**저자정보** 박준규(공주대학교 생명과학과 대학원생), 도윤호(공주대학교 생명과학과 조교수)

**저자기여도** 개념설정: 도윤호; 방법론: 박준규, 도윤호; 자료수집 및 분석: 박준규; 자료관리: 박준규; 원고 초안작성: 박준규; 원고 교정 및 편집: 박준규, 도윤호. 본 연구에 참여한 저자는 논문 결과에 동의하였고, 출판될 최종본을 검토하였습니다.

**이해관계** 본 연구에 참여한 모든 저자들은 학술출판에 있어서 어떠한 이해충돌의 여지가 없음을 알려드립니다.

**연구비** 본 논문은 2019년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 신진연구사업임(No. 2018R1C1B3008645).

## REFERENCES

Behnke, A.R., B. Feen and W. Welham. 1942. The specific gravity of healthy men: body weight ÷ volume as an index of obesity. *Journal of the American Medical Association* **118**:

- 495-498.
- Bentley, P. 1984. Calcium metabolism in the Amphibia. *Comparative Biochemistry Physiology* **79**: 1-5.
- Berg, R. and R. Butterfield. 1966. Muscle: bone ratio and fat percentage as measures of beef carcass composition. *Animal Science* **8**: 1-11.
- Cashman, K.D. 2006. Milk minerals (including trace elements) and bone health. *International Dairy Journal* **16**: 1389-1398.
- Castellano, S., M. Cucco and C. Giacoma. 2004. Reproductive investment of female green toads (*Bufo viridis*). *Copeia* **2004**: 659-664.
- Chen, W., T. Guan, L. Ren, D. He, Y. Wang and X. Lu. 2015. Pre-hibernation energy storage in Heilongjiang brown frogs (*Rana amurensis*) from five populations in North China. *Asian Herpetological Research* **6**: 45-50.
- Dodd, C.K. 2010. Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques. Disease monitoring and biosecurity, p. 481-505. *In: Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques*. Oxford University Press, Oxford, England.
- Donoghue, S. 1998. Nutrition of pet amphibians and reptiles, p. 148-153. *In: Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania.
- Dumont, E.R. 2010. Bone density and the lightweight skeletons of birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**: 2193-2198.
- Garner, T.W., S. Walker, J. Bosch, S. Leech, J. Marcus Rowcliffe, A.A. Cunningham and M.C. Fisher. 2009. Life history tradeoffs influence mortality associated with the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Oikos* **118**: 783-791.
- Girish, S. and S. Saidapur. 2000a. Interrelationship between food availability, fat body, and ovarian cycles in the frog, *Rana tigrina*, with a discussion on the role of fat body in anuran reproduction. *Journal of Experimental Zoology* **286**: 487-493.
- Girish, S. and S.K. Saidapur. 2000b. Interrelationship between food availability, fat body, and ovarian cycles in the frog, *Rana tigrina*, with a discussion on the role of fat body in anuran reproduction. *Journal of Experimental Zoology* **286**: 487-493.
- Green, A.J. 2001. Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology* **82**: 1473-1483.
- Green, S.L. 2002. Factors affecting oogenesis in the South African clawed frog (*Xenopus laevis*). *Comparative Medicine* **52**: 307-312.
- Hammer, Ø., D.A. Harper and P.D. Ryan. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* **4**: 1-9.
- Han, S.H., C.J. Park, D.H. Kim, M.-S. Min and M.C. Gye. 2015. Diet of the Korean Wrinkled Frog (*Rana rugosa*). *Korean Journal of Environmental Biology* **33**: 338-344.
- Hirai, T. 2004. Diet composition of introduced bullfrog, *Rana catesbeiana*, in the Mizorogaike Pond of Kyoto, Japan. *Ecological Research* **19**: 375-380.
- Hirai, T. and M. Matsui. 2000. Feeding habits of the Japanese tree frog, *Hyla japonica*, in the reproductive season. *Zoological Science* **17**: 977-982.
- Hopton, M.E., G.N. Cameron, M.J. Cramer, M. Polak and G.W. Uetz. 2009. Live animal radiography to measure developmental instability in populations of small mammals after a natural disaster. *Ecological Indicators* **9**: 883-891.
- Kim, M.S., J.Y. Hwang, O.S. Kwon and W.S. Lee. 2013. Analytical methodology of stable isotopes ratios: sample pretreatment, analysis and application. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**: 471-487.
- King, J.D., M.C. Muhlbauer and A. James. 2011. Radiographic diagnosis of metabolic bone disease in captive bred mountain chicken frogs (*Leptodactylus fallax*). *Zoo Biology* **30**: 254-259.
- Liu, X., Y. Luo, J.X. Chen, Y.S. Guo, C.M. Bai and Y.M. Li. 2015. Diet and prey selection of the Invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in southwestern China. *Asian Herpetological Research* **6**: 34-44.
- Martini, F., S. Sell, E. Kremling and W. Küsswetter. 1996. Determination of periprosthetic bone density with the DEXA method after implantation of custom-made uncemented femoral stems. *International Orthopaedics* **20**: 218-221.
- Martins, F.M., M. Mdo Oom, R. Rebelo and G.M. Rosa. 2013. Differential effects of dietary protein on early life-history and morphological traits in natterjack toad (*Epidalea calamita*) tadpoles reared in captivity. *Zoo Biology* **32**: 457-462.
- McCoid, M.J. and T.H. Fritts. 1989. Growth and fat body cycles in feral populations of the African clawed frog, *Xenopus laevis* (Pipidae) in California with comments on reproduction. *Southwestern Naturalist* **34**: 499-505.
- McWilliams, D.A. 2008. Nutrition recommendations for some captive amphibian species (Anura and Caudata). The Canadian Association of Zoos and Aquariums Nutrition Advisory and Research Group (GARN-NARG).
- Melody, C., B. Griffiths, J. Dyckmans and O. Schmidt. 2016. Stable isotope analysis ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of soil nematodes from four feeding groups. *PeerJ* **4**: e2372.
- Mitchell, A., R. Rosebrough and J. Conway. 1997. Body composition analysis of chickens by dual energy x-ray absorptiometry. *Poultry Science* **76**: 1746-1752.
- Novocosky, B.J. and P.R. Popkin. 2005. Canidae volume bone mineral density values: an application to sites in western Canada. *Journal of Archaeological Science* **32**: 1677-1690.
- Pancharatna, M. and S.K. Saidapur. 1985. Ovarian cycle in the frog *Rana cyanophlyctis*: A quantitative study of follicular kinetics in relation to body mass, oviduct, and fat body cycles. *Journal of Morphology* **186**: 135-147.

- Park, S.H., H. Lee and K.-H. Cho. 2018. Diet composition of Japanese tree frog (*Hyla japonica*) in a rice paddy, South Korea. *Ecology Resilient Infrastructure* **5**: 54-58.
- Parnell, A. and A. Jackson. 2013. siar: Stable Isotope Analysis in R. R package version 4.2. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=siar>.
- Reed, D.R., A.A. Bachmanov and M.G. Tordoff. 2007. Forty mouse strain survey of body composition. *Physiology* **91**: 593-600.
- Shaw, S.D., P.J. Bishop, C. Harvey, L. Berger, L.F. Skerratt, K. Callon, M. Watson, J. Potter, R. Jakob-Hoff and M. Goold. 2012. Fluorosis as a probable factor in metabolic bone disease in captive New Zealand native frogs (*Leiopelma* species). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **43**: 549-565.
- Sodhi, N.S., D. Bickford, A.C. Diesmos, T.M. Lee, L.P. Koh, B.W. Brook, C.H. Sekercioglu and C.J. Bradshaw. 2008. Measuring the meltdown: drivers of global amphibian extinction and decline. *Plos One* **3**: e1636.
- Stuart, S.N., J.S. Chanson, N.A. Cox, B.E. Young, A.S. Rodrigues, D.L. Fischman and R.W. Waller. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* **306**: 1783-1786.
- Sztatecsny, M. and R. Schabetsberger. 2005. Into thin air: vertical migration, body condition, and quality of terrestrial habitats of alpine common toads, *Bufo bufo*. *Canadian Journal of Zoology* **83**: 788-796.
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing.
- Venesky, M.D., T.E. Wilcoxon, M.A. Rensel, L. Rollins-Smith, J.L. Kerby and M.J. Parris. 2012. Dietary protein restriction impairs growth, immunity, and disease resistance in southern leopard frog tadpoles. *Oecologia* **169**: 23-31.
- Wright, K. 2001. Diets for captive amphibians, p. 63-72. *In: Amphibian Medicine and Captive Husbandry* (Wright, K.M. and B.R. Whitaker, eds.). Krieger, Malabar, Florida.
- Yoon, I.B., J.I. Kim and S.Y. Yang. 1998. Study on the food habits of *Rana nigromaculata* Hallowell and *Rana plancyi chosonica* Okada (Salientia; Ranidae) in Korea. *Korean Journal of Environmental Biology* **16**: 69-76.
- Zanden, M.J.V. and J.B. Rasmussen. 2001. Variation in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* **46**: 2061-2066.