

Original article

한국산 민무늬독중개 *Cottus pollux* (Pisces: Cottidae)의 분포 현황

윤봉한 · 김용휘¹ · 이호성² · 서은선³ · 이수형³ · 방인철^{2,*}

(주)한국생태네트워크, ¹(주)바이오티엔에스, ²순천향대학교 생명과학과, ³(주)자연환경복원연구원

Current Distribution of *Cottus pollux* (Pisces: Cottidae) in Korea. Bong Han Yun (0000-0002-1885-5221), Yong Hwi Kim¹ (0000-0001-9901-5445), Ho Sung Lee² (0009-0007-2874-2646), Eun Seon Seo³ (0009-0001-0942-4366), Sue Hyeung Lee³ (0009-0001-0915-3711) and In-Chul Bang^{2,*} (0000-0003-4584-5384) (Institute of Korea Eco-Network, Daejeon 34028, Republic of Korea; ¹bioTNS, Daejeon 34183, Republic of Korea; ²Department of Biology, Soonchunhyang University, Asan 31538, Republic of Korea; ³Natural Environmental Restoration Institute, Daejeon 34410, Republic of Korea)

Abstract Current distribution of Korean *Cottus pollux* was investigated by conducting field surveys and environmental DNA analysis in September to November 2022 and March to May 2023. As a result of the field survey, the presence of *C. pollux* was confirmed in the uppermost stream of Hyeongsangang River, as well as in Deokdongcheon, Jeolgolcheon, and Hoamcheon Streams. The main habitat of *C. pollux* was the riffle area in the upper reaches of streams with clean water and boulder-cobble bottoms. As a result of environmental DNA analysis, the samples determined to be positive included all streams in which the presence of *C. pollux* was confirmed in the field survey. In addition, Namcheon and Singwangcheon Streams were determined to be positive, indicating potential as its habitats. Since *C. pollux* has a narrow distribution area and a small population size, continuous monitoring and conservation measures are required to immediately respond to damage caused by typhoons and river works, which are the main causes of habitat disturbance, in order to maintain a stable population.

Key words: *Cottus pollux*, Japanese fluvial sculpin, distribution status, environmental DNA

서론

생물은 종마다 그들이 출현하는 지역의 과거와 현재에 관련된 여러 가지 지질학적 사건 또는 생태학적 적응 등을 통하여 제한된 분포 범위를 지니고 있다(Kim, 1997; Kim *et al.*, 2005; Olden *et al.*, 2010). 특히 담수어류는 해양어류와 달리 제한된 수역에서 서식하기 때문에 과거에 발생

한 지질학적 사건을 잘 반영하여 당시에 발생하였던 동물 지리학적 분산 양상을 추론하고 분석할 수 있는 중요한 생물 분류군으로 알려져 있다(Imoto *et al.*, 2013; Kang *et al.*, 2013). 따라서 담수어류의 분포 연구는 이들의 유래와 분포 구계, 그리고 다양성을 이해하는 데 중요하다.

독중개과(Cottidae) 독중개속(*Cottus* Linnaeus, 1758) 어류는 현재 전 세계적으로 66종이 보고되어 있으며(Froese and Pauly, 2024), 이들은 북반구의 온대 지역부터 아한대 지역까지 널리 분포하는 것으로 알려져 있다(Knope, 2013; Foglini *et al.*, 2018). 독중개속 어류는 생활형에 따

Manuscript received 28 April 2024, revised 7 June 2024,
revision accepted 8 June 2024

* Corresponding author: Tel: +82-41-530-1286, Fax: +82-41-530-1493
E-mail: incbang@sch.ac.kr

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.

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

라 양측회유형 (amphidromous), 하천육봉형 (fluvial land-locked) 및 호수육봉형 (lacustrine land-locked)으로 구분되며, 이는 생태적인 특징인 난 크기, 포란 수, 자·치어기 생활 방식 등에 차이를 보여, 이들 중을 분류하는 데 중요한 형질로 이용되고 있다(Goto, 1978, 1990; Yoshigou, 2010). 그동안 한반도에 분포하는 독중개속 어류는 참독중개 *Cottus czerskii* Berg, 1913, 한독중개 *Cottus hangiongensis* Mori, 1930 및 독중개 *Cottus koreanus* Fujii, Choi & Yabe, 2005 등 3종으로 알려져 있었으나, 최근 형산강과 대종천 등 동해안 독립 하천 수계에 서식하는 독중개 집단이 일본 고유종으로 알려진 *Cottus pollux* Günther, 1873로 보고되어 민무늬독중개로 국명신청되었다(Yun *et al.*, 2022). 현재 일본 열도에 서식하는 민무늬독중개는 생활사 유형 및 난 크기에 따라 집단을 구분하고 있으며(Goto and Arai, 2003; Yokoyama and Goto, 2005; Yoshigou, 2010; Kanno *et al.*, 2018), 이 중 하천육봉형의 생활사를 지닌 대란형 집단과 우리나라 덕동천 및 호암천 집단이 생태적 측면에서 유사한 것으로 나타났다(Yun *et al.*, 2022).

우리나라 민무늬독중개(당시 독중개)의 분포에 관한 연구는 국립공원공단의 경주국립공원사무소에서 실시한 자원모니터링(KNPSGNPO, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016)과 국립공원연구원에서 실시한 자연자원조사(KNPS, 2017), 그리고 Byeon and Lee (2017)가 대종천 지류인 호암천 집단을 대상으로 한 분포역 조사 등이 있다. 선행 연구들의 조사 범위와 지점은 경주국립공원과 인접 지역으로 한정적이었기 때문에 전반적인 분포 현황을 밝히는 데 한계가 있다. 또한, 민무늬독중개와 같은 희소종의 경우 포획 조사를 통하여 확인될 확률이 높지 않기 때문에 서식 가능성이 높은 지역을 빠르게 탐색할 수 있는 환경 DNA (environmental DNA, eDNA) 분석을 함께 수행하는 것이 바람직하다(Riaz *et al.*, 2020; Piggott *et al.*, 2021).

본 연구에서는 민무늬독중개를 대상으로 정밀 분포 조사와 환경 DNA 분석을 병행하여 분포 현황을 밝히고, 과거 출현 기록과 비교 분석하여 보전 방향에 대해 논의하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 현장 조사

1) 지점 및 시기

민무늬독중개의 서식 여부를 확인하기 위한 조사 지점은 경상북도 영덕군에 위치한 장사천 이남부터 경상북도

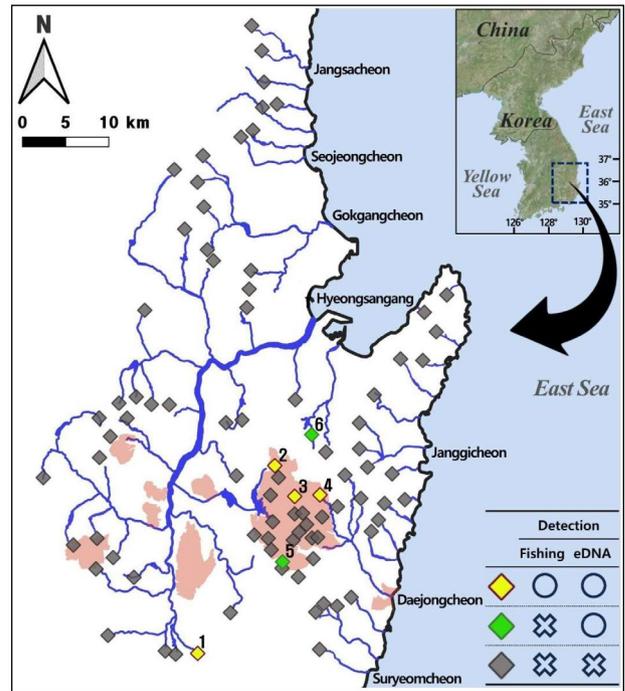


Fig. 1. Study sites and detection results for distribution of Korean *Cottus pollux* from 2022 to 2023. Shades of red showing Gyeongju National Park. Detection, ○; Non-detection, ×.

경주시에 위치한 수렴천까지로 25개 수계 86개 지점을 선정하였다(Fig. 1). 기존에 출현한 기록이 있는 형산강과 대종천 수계는 분류 및 지류의 상류 대부분을 포함하도록 하였고, 경주국립공원 내 위치한 지점은 국립공원공단의 허가를 받은 후 실시하였다. 조사 시기는 2022년 9~11월 가을철과 2023년 3~5월 봄철에 지점별 1회씩 총 2회 실시하였다.

2) 조사 방법

채집은 족대(망목 5×5 mm)를 사용하여 지점당 20~30분 동안 실시하였고, 종 동정은 Hosoya (2015)와 Yun *et al.* (2022)을 참고하였다. 서식지 환경은 디지털 거리 측정용 망원경 (Yardage Pro Tour XL, Bushnell, Japan)을 이용하여 하폭과 유폭을 측정하였으며, 수심은 줄자를 이용하여 측정하였다. 하상구조와 하천형은 각각 Cummins (1962)와 Kani (1944)에 따라 현장에서 육안으로 관찰한 후 기록하였다.

2. 환경 DNA 분석

1) 종 특이 프라이머 및 프로브 제작

한국산 독중개속 어류에 대한 미토콘드리아 DNA 내 cytochrome *b* (*cytb*) 유전자 영역의 염기서열 데이터는

Hwang *et al.* (2013a, 2013b)과 Yun *et al.* (2024)에서 보고한 염기서열 정보들을 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 GenBank[®]에서 내려받아 사용하였다. 수집한 염기서열들은 MAFFT v. 7.450 (Kato *et al.*, 2002; Kato and Standley, 2013)을 사용하여 다중염기서열정리를 수행하였다. 이후, 염기서열 상에서 중간 유전적 변이를 나타내는 단일염기다형성 (single-nucleotide polymorphisms, SNPs) 영역을 탐색한 후, 민무늬독중개의 유전형에서만 특이적으로 증폭이 예상되는 SNPs 영역에 정방향 및 역방향 프라이머 (Cp_FQ: 5'-CTG CTT GGA GAC CCA GAC AAT TTT ACT-3', Cp_RQ: 5'-TAC TAA GAG CAC GAG AAT CGA TGC CAA-3')와 실시간 PCR (real-time PCR) 분석을 위한 TaqMan[®] 프로브 (Cp_PQ: 5'-FAM-GGT CTA TCC CCA ACA AAC TGG GGG GAG TG-BHQ1-3')를 제작하였다 (Fig. 2). 이들의 Melting temperature (T_m) 값과 2차 구조 형성 여부 등은 Multiple Primer Analyzer Tool (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)을 사용하여 예측하고 올리고뉴클레오티드 (oligonucleotide) 합성 전 최적화하였다.

2) 하천수 시료 확보 및 환경 DNA 추출

하천수 시료는 현장 조사와 동일한 시기 및 지점에서 확보하였으며 (Fig. 1), 현장 조사 시작 전에 멸균채수병에 하천수 1L를 채수하고, 실험실로 운반하기 전까지 휴대용 냉장고 (4°C)에 보관하였다. 실험실로 운반한 시료의 필터링 과정은 각 지점 간에 오염을 방지하기 위하여 멸균된 도구들을 구분하여 사용하였으며, DOA-P704-AC Vacuum Pump (Gast Manufacturing, Inc., Benton Harbor, MI, USA)와 0.45 µm Nylon Membrane Filters (Whatman, Marlborough, MA, USA)를 사용하여 지점별로 500 mL씩 농축하였다. 필터지의 환경 DNA 추출은 환경 DNA 추출에 자주 사용되는 DNeasy[®] Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하였으며 (Shu *et al.*, 2020), 제조사에서 제공한 설명서와 Kim *et al.* (2021)에서 수행한 추출 방법을 참고하였다.

3) 실시간 PCR 분석

실시간 PCR (CFX Opus 96 Real-Time PCR System, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 분석에 앞서 제작한 종 특이 프라이머에 대한 검증을 수행하기 위하여 일반 PCR (conventional PCR) (Mastercycler[®] Nexus Thermal Cycler, Eppendorf, Hamburg, Germany)을 수행하였다. 일반 PCR 조성액은 AccuPower[®] PCR Premix Kit (BIONEER Corp., Daejeon, Korea)에 민무늬독중개의 genomic DNA (gDNA)

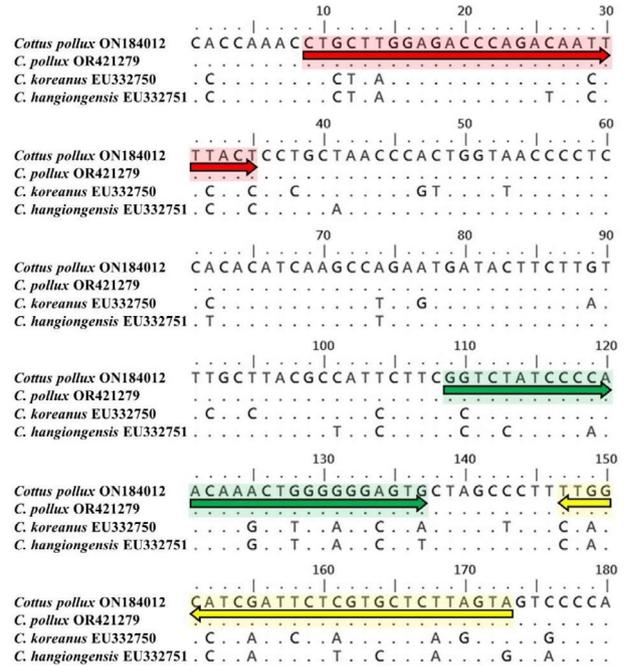


Fig. 2. Aligned partial sequences of mitochondrial cytochrome *b* (*cytb*) gene of Korean *Cottus pollux* and other *Cottus* species analyzed in present study. Red arrow, forward primer; Yellow arrow, reverse primer; Green arrow, probe.

100 ng과 정방향 및 역방향 프라이머 각각 5 µM을 넣고 3차 증류수와 총량 20 µL로 혼합하였다. 일반 PCR 조건은 95°C에서 3분간 초기변성 후, 95°C에서 20초간 변성, 60°C에서 20초간 결합, 72°C에서 20초간 신장을 30회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 5분간 최종신장을 수행하였다. 일반 PCR 산물은 전자동 모세관 전기영동 장치 (Fragment Analyzer[™] system, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA)를 사용하여 전기영동을 수행하였으며, PROsize[®] v. 3.0.1.6 (Agilent Technologies Inc., Waldbronn, Germany)을 사용하여 밴드의 크기를 확인하였다.

실시간 PCR 조성액은 iQ[™] Supermix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 10 µL, 환경 DNA 2 µL, 프라이머 및 프로브 각각 5 µM을 넣고 nuclease-free water (NFW)와 혼합하여 총량 20 µL가 되도록 혼합하였다. 실시간 PCR 조건은 95°C에서 2분간 초기변성 후, 95°C에서 10초간 변성, 62°C에서 10초간 결합 및 신장을 50회 반복하여 수행하였으며, 양성대조군 (positive control)과 비주형대조군 (non-template control, NTC)은 민무늬독중개의 gDNA 20 ng과 NFW를 각각 사용하였다. 실시간 PCR 분석은 환경 DNA 시료별로 6회씩 독립적으로 수행하였으며, 양성 반응으로 나타난 시료에 대해서는 제작한 프라이머를 이용하여 일반 PCR을 수행한 후, 증폭 영역에 대한 염기서열을 확보

Table 1. Information on habitat characteristics and localities of appearance stations of Korean *Cottus pollux* from 2022 to 2023.

St.	River width (m)	Water width (m)	Water depth (cm)	River types*	Bottom substratum (%)**						No. of individuals			Streams	Localities	Etc***
					B	C	P	G	S	M	2022	2023	Total			
1	10~20	1~4	10~40	Aa	40	20	10	10	10	10	7	4	11	Hyeongsangang	Wolpyeong-ri, Dudong-myeon, Ulju-gun, Ulsan-si	
2	10~15	1~5	10~50	Aa	40	10	20	20	10		1	0	1	Deokdongcheon	Amgok-dong, Gyeongju-si, Gyeongsangbuk-do	GN
3	5~12	1~2	10~40	Aa	30	20	30	10	10		1	3	4	Jeolgolcheon	Hwangyong-dong, Gyeongju-si, Gyeongsangbuk-do	GN
4	10~15	1~5	10~60	Aa	50	30	10	10			0	2	2	Hoamcheon	Hoam-ri, Munmudaewang-myeon, Gyeongju-si, Gyeongsangbuk-do	GN

*Kani (1944), **B: Boulder (>256 mm); C: Cobble (64~256 mm); P: Pebble (16~64 mm); G: Gravel (2~16 mm); S: Sand (0.1~2 mm); M: Mud (<0.1 mm) – Cummins (1962), ***GN: Gyeongju National Park area.

하고 FinchTV v. 1.4.0(Geospiza Inc., Seattle, WA, USA)를 사용하여 chromatogram상에 나타난 peak들을 고려하여 각 지점별 양성 반응 시료들에 대한 표적 염기서열의 일치 여부를 분석하였다.

제작한 프라이머와 프로브에 대한 최소정량한계는 민무늬독중개 gDNA 200 ng/μL의 농도에서 10배씩 총 7번의 희석과 10회의 반복구를 두고 검량선(standard curve)을 작성함으로써 확인하였다. 민무늬독중개의 gDNA는 HiGene™ Genomic DNA Prep Kit (BIOFACT Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 사용하여 추출하였고, 순천향대학교 어류표본수장고(Soonchunhyang University Collection, SUC)에 보관 중인 지느러미 조직(voucher no. SUC25238, 덕동천; SUC26332, 호암천; Yun *et al.*, 2024)을 사용하였다.

결 과

1. 현장 조사

민무늬독중개의 분포 현황을 알아보기 위하여 25개 수계 86개 지점을 조사한 결과, 형산강 수계 최상류(St. 1) 11개체, 덕동천(St. 2) 1개체, 절골천(St. 3) 4개체 및 대동천 수계 호암천(St. 4) 2개체 등 2개 수계 4개 지점 18개체가 채집되었다(Fig. 1; Table 1). 채집된 지점들은 상류 수역으로 오염원이 적고 물이 맑았으며, 주변은 주로 산이나 농경지 등으로 이루어진 계곡형(Aa type) 하천이었다. 하폭과 유폍은 각각 5~20 m와 1~5 m로 나타났고, 수심은 10~60 cm로 나타났으나 유량이 적어 대부분 30 cm 이내로 나타났다. 하상은 큰돌(boulder)의 비율이 약 40%로 가장 높았고, 그 다음으로 작은돌(cobble), 호박돌(pebble) 등

의 순으로 높았다(Table 1). 한편, 채집된 지점들은 2022년 9월 동해안 일대를 강타한 태풍 ‘힌남노’의 영향으로 하상이 크게 교란된 상태였다.

2. 환경 DNA 분석

1) 종 특이 프라이머 및 프로브 검증

제작한 종 특이 프라이머에 대한 일반 PCR 검증을 수행한 결과, 증폭된 PCR 산물은 165 bp 부근에서 명확히 특이 밴드를 형성하였으며(Fig. 3A), 비특이 밴드는 관찰되지 않았다(Fig. 3B). 또한, 제작한 프로브를 이용하여 실시간 PCR 상에서 민무늬독중개 gDNA의 연속 희석 농도를 사용한 최소정량한계 분석에서는 민무늬독중개 gDNA의 농도에 반비례하여 cycle threshold (C_T) 값이 나타났고, 0.02 pg 수준까지 정량이 가능한 것으로 나타나 높은 감도를 보였으며(Fig. 4A), 검량선에서는 상관계수(R²)가 0.998, 기울기(slope)가 -3.370, 효율(efficiency)은 98.0%로 각각 나타났다(Fig. 4B).

2) 환경 DNA 분석 결과

민무늬독중개의 분포 현황을 알아보기 위하여 86개 지점에 대한 환경 DNA 시료를 확보하여 실시간 PCR 분석을 수행한 결과, 이 시기에 양성으로 판별된 시료의 지점은 형산강 최상류(St. 1), 덕동천(St. 2), 절골천(St. 3), 호암천(St. 4), 남천(St. 5) 및 신광천(St. 6) 등 각 1개 지점으로 총 6개였다(Fig. 1; Table 2). 2022년에는 절골천 지점이 6회의 PCR 분석 중 4회가 양성으로 판별되었고, C_T 값은 40.24 ± 2.11로 나타났다. 형산강 최상류 지점은 6회의 PCR 분석 중 3회가 양성으로 판별되었고, C_T 값은 40.35 ± 1.58로 나타났다. 덕동천과 신광천 지점은 6회의

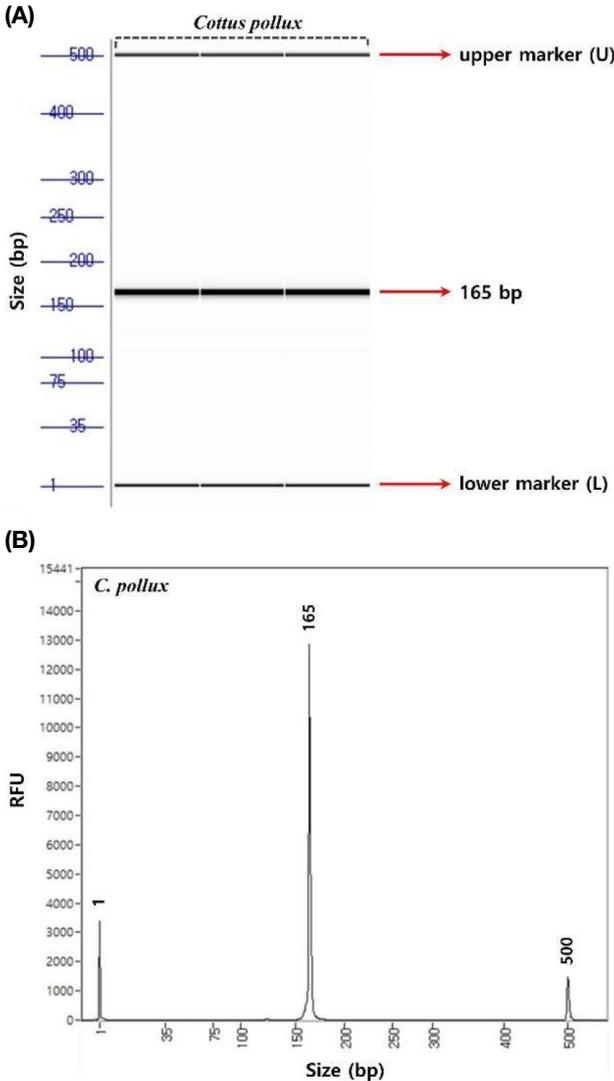


Fig. 3. Results of fragment analyzer of conventional PCR products using Korean *Cottus pollux* species-specific primers. Band positions, A; Electropherogram, B.

PCR 분석 중 1회만 양성으로 판별되었고, C_T 값은 각각 37.64와 42.15로 나타났다. 2023년에는 호암천 지점이 6회의 PCR 분석 중 4회가 양성으로 판별되었고, C_T 값은 40.08 ± 1.04 로 나타났다. 형산강 최상류, 덕동천 및 절골천 지점은 6회의 PCR 분석 중 2회가 양성으로 판별되었고, C_T 값은 각각 42.06 ± 1.21 과 38.08 ± 0.14 , 그리고 43.19 ± 0.47 로 나타났다. 남천 지점은 6회의 PCR 분석 중 1회만 양성으로 판별되었고, C_T 값은 44.21로 나타났다(Table 2).

실시간 PCR 분석 결과에서 양성으로 판별된 환경 DNA 시료들에 대한 염기서열을 확보한 결과, 민무늬독중개의 template 염기서열 간 유사도는 100% 분석되었다(Fig. 5).

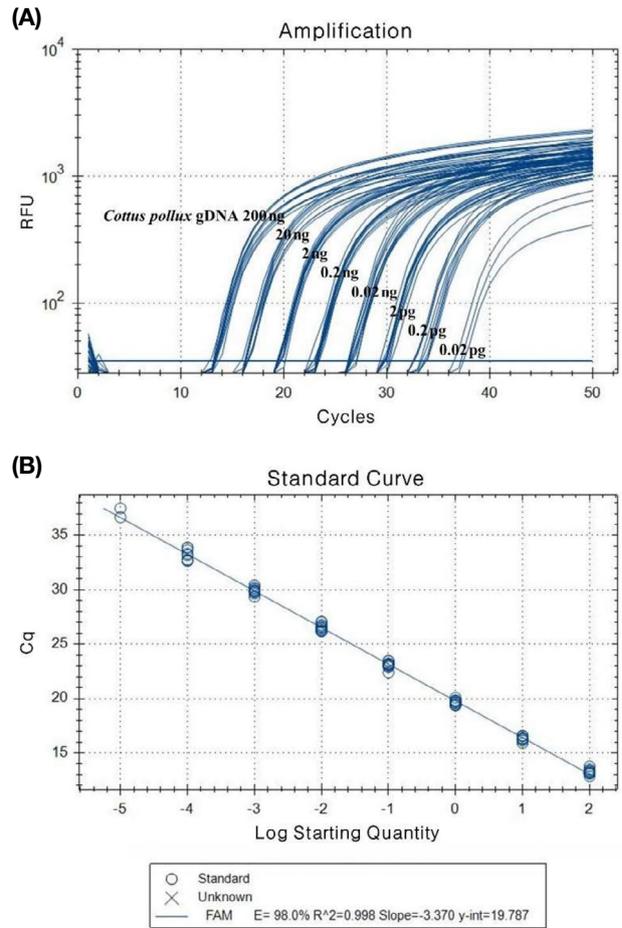


Fig. 4. Real-time PCR analyses using Korean *Cottus pollux* species-specific primers and probe developed in the present study to test for quantitation limit. Amplification curves, A; Standard Curve, B.

고찰

본 연구에서 저자들은 기존 어구(족대)를 이용한 현장 조사뿐만 아니라 환경 DNA 분석 기법을 병행하여 민무늬독중개에 대한 서식 및 분포 현황을 알아보려고 하였다. 현장 조사에서는 형산강 수계 최상류, 덕동천, 절골천 및 대종천 수계 호암천 4개 지점에서 본 종의 서식이 확인되었다. 이 중 덕동천과 호암천은 경주국립공원 자원모니터링(KNPSGNPO, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016), 자연자원조사(KNPS, 2017) 등에서 보고된 바 있다. 본 연구에서는 선행 연구 결과보다 많은 하천에서 민무늬독중개의 서식이 확인되었는데, 이러한 이유는 연구의 목적성에 따른 조사 지점의 확대와 정밀 분포 조사를 수행하였기 때문인 것으로 판단된다. 과거 경주국립공원의 토함산 지구 내 호암천 일대는 2009년 자원모니터

Table 2. Information on detection results of environmental DNA (eDNA) analysis and localities targeting Korean *Cottus pollux* from 2022 to 2023.

St.	eDNA analysis				Streams	Localities
	2022		2023			
	C _T value (Mean ± SD)	Positive PCRs	C _T value (Mean ± SD)	Positive PCRs		
1	40.35 ± 1.58	3/6	42.06 ± 1.21	2/6	Hyeongsangang	Wolpyeong-ri, Dudong-myeon, Ulju-gun, Ulsan-si
2	37.64	1/6	38.08 ± 0.14	2/6	Deokdongcheon	Amgok-dong, Gyeongju-si, Gyeongsangbuk-do
3	40.24 ± 2.11	4/6	43.19 ± 0.47	2/6	Jeolgolcheon	Hwangyong-dong, Gyeongju-si, Gyeongsangbuk-do
4	ND	0/6	40.08 ± 1.04	4/6	Hoamcheon	Hoam-ri, Munmudaewang-myeon, Gyeongju-si, Gyeongsangbuk-do
5	ND	0/6	44.21	1/6	Namcheon	Singye-ri, Oedong-eup, Gyeongju-si, Gyeongsangbuk-do
6	42.15	1/6	ND	0/6	Singwangcheon	Hangsa-ri, Ocheon-eup, Nam-gu, Pohang-si, Gyeongsangbuk-do

ND, non-detection.

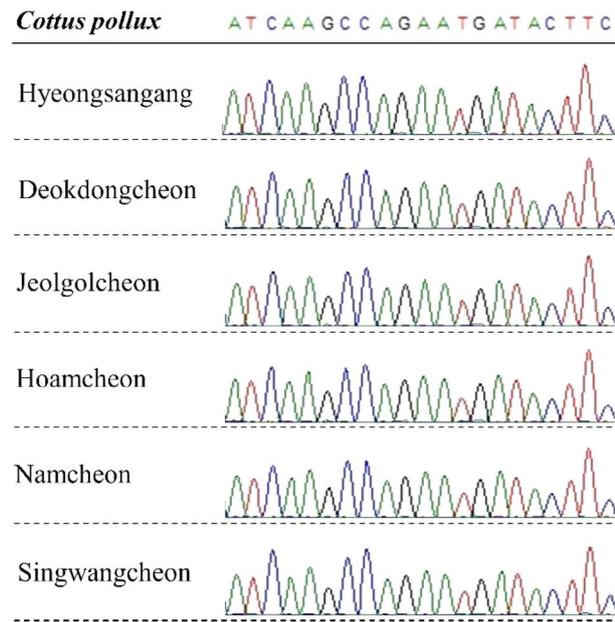


Fig. 5. Analysis results of congruence (target region) between the template sequence of Korean *Cottus pollux* and positive environmental DNA (eDNA) samples for each site, refer to Table 2.

링 (KNPSGNPO, 2009)에서 본 종의 서식이 처음으로 확인된 곳으로서, 이들의 분포 범위가 기림사에서 용연폭포에 이르는 약 1.2 km 구간으로 협소하기 때문에 서식지 보호 및 관리가 필요하다고 Byeon and Lee (2017)가 주장한 바 있다. 특히 Byeon and Lee (2017)는 2016년 4월 민무늬독중개(당시 독중개) 조사에서 약 70여 개체 이상 채집하여 서식을 확인한 반면에 본 연구에서는 2023년 3월 조사에서만 2개체가 채집되어 개체군의 규모에서 과거와 현재

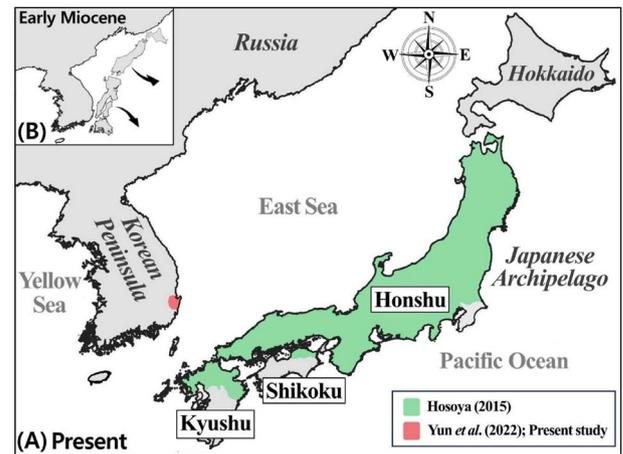


Fig. 6. Maps showing the distribution range of Korean and Japanese *Cottus pollux* (A), and the paleogeographical history of the Japanese Archipelago (B; Otofujii, 1996).

의 조사 결과가 서로 큰 차이를 나타냈다. 또한, 덕동천 일대에서도 2013년 자원모니터링 (KNPSGNPO, 2013)에서 본 종의 서식이 처음으로 확인되었고, 2017년 자연자원조사 (KNPS, 2017)에서 8개체가 채집되었으나, 본 조사에서는 1개체만 채집되어 이전보다 개체수가 줄어든 것으로 나타났다. 현재 민무늬독중개의 서식 확인 개체수가 과거에 비하여 현저하게 감소한 주원인은 2022년 9월 동해안 일대를 강타한 태풍 ‘힌남노’의 영향으로 대규모 홍수 발생과 하상 붕괴에 따른 서식지 교란 때문인 것으로 판단된다 (Yoon and Kim, 2004; Lee et al., 2023). 특히 본 태풍 이외에도 동해안 일대는 과거부터 태풍으로 인하여 홍수 피해가 빈번하게 발생하였고, 이를 복구하기 위하여 하천복

구공사가 무분별하게 이루어져 하천 생태계에 심각한 훼손을 수반하였다. 따라서 하천공사도 민무늬독중개의 개체군 감소에 크게 영향을 준 것으로 추정된다.

환경 DNA 시료에 대한 실시간 PCR 분석에서 양성으로 확인된 지점은 현장 조사에서 민무늬독중개를 확인한 지점을 모두 포함하였고, 이외 형산강 수계 남천과 냉천 수계 신평천 또한 양성으로 확인되어 본 종의 잠재적 서식지로서 가능성을 나타냈다. 한편, 현장 조사에서 확인되지 않은 남천과 신평천은 위양성(false positive)에 대한 의심을 완전히 배제할 수 없으나(Jo *et al.*, 2021), 환경 DNA 분석에서 사용한 프라이머 및 프로브 세트가 민무늬독중개를 검출하는 데 높은 감도와 효율을 보이고 환경 DNA 시료와 프라이머를 이용하여 확보한 염기서열 영역이 민무늬독중개의 template 염기서열 간에 높은 유사도를 보이므로 해당 하천에 서식하고 있을 가능성이 클 것으로 판단된다. 추후 이들 하천에 대해서는 환경 DNA 분석과 현장 조사 빈도를 높여 서식 여부에 대한 실체를 명확히 밝혀야 할 것으로 판단된다.

민무늬독중개는 최근까지 일본 고유종으로 규슈 북서부, 시코쿠 가가와현 및 혼슈 등에 서식하는 것으로 알려져 왔으나(Fig. 6A; Hosoya, 2015), Yun *et al.* (2022)에 의하여 동해안 남부 독립 하천 수계인 덕동천과 호암천에도 서식하는 것이 밝혀졌다. 한반도와 일본 열도는 Miocene 이전에 하나의 유라시아 대륙으로 연결되어 수문지리학적 으로 연관되어 있었을 가능성이 높아(Fig. 6B; Kim, 1997; Maruyama *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2011; Taniguchi *et al.*, 2021), 본 종의 분포 범위는 한반도를 비롯한 극동아시아의 지사학적 사건과 생물지리학적 분포구계를 이해하는 데 의미와 가치가 크다고 생각된다.

민무늬독중개는 우리나라 독중개속 어류 중 서식 분포역이 가장 남쪽에 위치하고 협소하다(Chae *et al.*, 2019; Yun *et al.*, 2022). 특히 본 종은 산간 계류에 서식하는 어종(Kawanabe and Mizuno, 1989; Natsumeda, 2007)으로 지구온난화 가속에 따른 분포역 축소 가능성이 높고(Barbarossa *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2022), 주 서식지의 경우 유량이 적어 갈수기 동안 하도 내 건천 상태를 이루는 구간이 빈번하므로 건천화 방지를 위한 유량 확보가 필요한 실정이다(KNPSGNPO, 2009). 따라서 민무늬독중개의 체계적인 보전을 위해서는 서식지와 개체군 변동을 신속히 파악하고 문제 발생 시 곧바로 대응할 수 있도록 주기적이고 지속적인 모니터링을 실시하여야 할 것이다. 서식지 중 덕동천, 절골천 및 호암천 일대는 경주국립공원 내에 위치하므로 무분별한 인간 활동으로부터 보호를 받아 태풍과 같은 자연재해를 제외하면 서식 환경에 부정적인 영향

을 주는 요인은 크게 없을 것으로 판단된다. 특히 Yoon *et al.* (2011)은 2002년 동해안 일대를 강타한 태풍 ‘루사’의 영향으로 교란된 하천들이 태풍 소멸 이후 빠르게 복구되는 패턴을 보고하였으므로, 하천복원을 명분으로 무분별한 하천복구공사는 지양해야 할 것이다. 한편, 울산 울주군에 위치한 형산강 수계 최상류 일대의 경우 개체군 크기가 작을 뿐만 아니라 새롭게 발견된 우리나라의 최남단 서식지로서 큰 의미가 있으므로 생태계보전지구 지정, 보호 안내 표지판 설치 등과 같은 적극적인 보호 방안과 기초적인 생태 연구가 필요하다고 판단된다. 마지막으로 생태 연구와 모니터링 자료를 바탕으로 선행 연구 자료와의 비교 분석을 통하여 세계자연보전연맹(International Union for Conservation of Nature, IUCN)이 제시한 적색목록 기준, 범주 등에 따라 멸종위험 등급을 정확히 평가하고(IUCN, 2001; NIBR, 2011, 2019), 멸종위험 등급에 해당할 경우 추후 멸종위기종으로 지정하여 관리하는 것이 필요하다고 판단된다.

적 요

한국산 민무늬독중개 *Cottus pollux*의 분포 현황을 알아보기 위하여 2022년 9~11월과 2023년 3~5월에 과거 출현지역과 출현 예상지역을 대상으로 현장 조사와 환경 DNA 분석을 병행하였다. 25개 수계 86개 지점을 현장 조사한 결과, 민무늬독중개는 형산강 수계의 최상류, 덕동천, 절골천 및 대종천 수계의 호암천 등 2개 수계 4개 지점에서 서식이 확인되었다. 민무늬독중개의 서식지 특징은 하천 상류 계곡부의 오염원이 적고 물이 맑으며, 하상은 큰 돌과 작은돌의 비율이 높은 여울부였다. 환경 DNA 분석에서 양성으로 판별된 시료는 현장 조사에서 민무늬독중개의 서식이 확인된 하천을 모두 포함하였고, 이외 남천(형산강 수계)과 신평천(냉천 수계)이 양성으로 판별되어 잠재적 서식지로서 가능성을 나타냈다. 민무늬독중개는 분포역이 협소하고 개체군 크기가 작으므로, 안정적인 개체군 유지를 위해서는 서식지 교란의 주원인인 태풍, 하천공사의 피해로부터 즉각 대응할 수 있도록 지속적인 모니터링과 보전 대책이 요구되었다.

저자정보 윤봉한((주)한국생태네트워크 전임연구원), 김용휘((주)바이오티엔에스 과장), 이호성(순천향대학교 생명과학과 대학원생), 서은선((주)자연환경복원연구원 주임연구원), 이수형((주)자연환경복원연구원 연구원), 방인철(순천향대학교 생명과학과 교수)

저자기여도 연구설계: 윤봉한, 김용휘, 방인철, 현장조사 및 자료수집: 윤봉한, 이호성, 서은선, 이수형, 실험분석 및 결과정리: 윤봉한, 김용휘, 원고작성: 윤봉한, 김용휘, 원고 수정 및 검토: 모든저자

이해관계 이 논문의 모든 저자는 이해관계에 충돌이 없음을 밝힙니다.

연구비 이 논문은 2021년도 정부(교육부) 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업(NRF-2021R1A6A1A03039503)과 순천향대학교의 연구비를 지원받아 수행되었습니다.

사사 연구 수행에 도움을 주신 국립공원공단 및 경주국립공원사무소 직원 여러분께 감사를 표합니다.

REFERENCES

- Barbarossa, V., J. Bosmans, N. Wanders, H. King, M.F. Bierkens, M.A. Huijbregts and A.M. Schipper. 2021. Threats of global warming to the world's freshwater fishes. *Nature Communications* **12**: 1701.
- Byeon, H.K. and B.R. Lee. 2017. The population characteristic of first record on the *Cottus koreanus* from Hoam Stream, Korea. *Korean Journal of Environment and Ecology* **31**: 166-173.
- Chae, B.S., H.B. Song and J.Y. Park. 2019. A field guide to the freshwater fishes of Korea. LG Evergreen Foundation, Seoul.
- Cummins, K.W. 1962. An evolution of some techniques for the collection and analysis of benthic samples with special emphasis on lotic waters. *The American Midland Naturalist* **67**: 477-504.
- Foglini, C., P. Sala, C. Zellino and P. Volta. 2018. Autoecology of the bullhead *Cottus gobio* in the Province of Verbano Cusio Ossola. IdroLIFE Project 1.
- Froese, R. and D. Pauly. 2024. FishBase: available at: <http://www.fishbase.org> (Version 02/2024).
- Goto, A. 1978. Comparative studies on the maturation process of two types of *Cottus nozawae* - I. The annual cycle of ovarian development. *Japanese Journal of Ichthyology* **25**: 115-123.
- Goto, A. 1990. Alternative life-history styles of Japanese freshwater sculpins revisited. *Environmental Biology of Fishes* **28**: 101-112.
- Goto, A. and T. Arai. 2003. Migratory histories of three types of *Cottus pollux* (small-egg, middle-egg, and large-egg types) as revealed by otolith microchemistry. *Ichthyological Research* **50**: 0067-0072.
- Hosoya, K. 2015. Freshwater fishes of Japan. Yama-kei Publishers Co. Ltd., Tokyo.
- Hwang, D.S., H.K. Byeon and J.S. Lee. 2013a. Complete mitochondrial genome of the freshwater sculpin *Cottus hangiongensis* (Scorpaeniformes, Cottidae). *Mitochondrial DNA* **24**: 674-675.
- Hwang, D.S., H.K. Byeon and J.S. Lee. 2013b. Complete mitochondrial genome of the freshwater sculpin *Cottus koreanus* (Scorpaeniformes, Cottidae). *Mitochondrial DNA* **24**: 490-491.
- Imoto, J.M., K. Saitoh, T. Sasaki, T. Yonezawa, J. Adachi, Y.P. Kartavtsev, M. Miya, M. Nishida and N. Hanzawa. 2013. Phylogeny and biogeography of highly diverged freshwater fish species (Leuciscinae, Cyprinidae, Teleostei) inferred from mitochondrial genome analysis. *Gene* **514**: 112-124.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). 2001. IUCN red list categories and criteria: Version 3.1. IUCN species survival commission. IUCN, Gland and Cambridge.
- Jo, T., S. Ikeda, A. Fukuoka, T. Inagawa, J. Okitsu, I. Katano, H. Doi, K. Nakai, H. Ichiiyanagi and T. Minamoto. 2021. Utility of environmental DNA analysis for effective monitoring of invasive fish species in reservoirs. *Ecosphere* **12**: e03643.
- Kang, B., J. Deng, X. Huang, L. Chen and Y. Feng. 2013. Explaining freshwater fish biogeography: history versus environment versus species personality. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **23**: 523-536.
- Kani, T. 1944. Ecology of torrent-inhabiting insects. In: Furukawa, J. (ed.), *Insect I. Kenkyu-sha*, Tokyo.
- Kanno, K., N. Onikura, Y. Kurita, A. Koyama and J. Nakajima. 2018. Morphological, distributional, and genetic characteristics of *Cottus pollux* in the Kyushu Island, Japan: indication of fluvial and amphidromous life histories within a single lineage. *Ichthyological Research* **65**: 462-470.
- Katoh, K. and D.M. Standley. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* **30**: 772-780.
- Katoh, K., K. Misawa, K.I. Kuma and T. Miyata. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* **30**: 30593066.
- Kawanabe, H. and N. Mizuno. 1989. Freshwater fishes of Japan. Jama to Keikoku-sha, Tokyo.
- Kim, I.S. 1997. Illustrated Encyclopedia of Fauna & Flora of Korean Vol. 37 Freshwater Fishes. Ministry of Education, Seoul.
- Kim, I.S., Y. Choi, C.L. Lee, Y.J. Lee, B.J. Kim and J.H. Kim. 2005. Illustrated book of Korean fishes. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul.
- Kim, K.S., K.Y. Kim and J.D. Yoon. 2021. Efficiency Comparison of Environmental DNA Metabarcoding of Freshwater Fishes according to Filters, Extraction Kits, Primer Sets and PCR Methods. *Korean Journal of Ecology and Envi-*

- ronment **54**: 199-208.
- Knape, M.L. 2013. Phylogenetics of the marine sculpins (Teleostei: Cottidae) of the North American Pacific coast. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **66**: 341-349.
- KNPS (Korea National Park Service). 2017. Natural resource survey of Gyeongju National Park. Korea National Park Research Institute, Wonju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2009. Resource monitoring of Gyeongju National Park (1st year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2010. Resource monitoring of Gyeongju National Park (2nd year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2011. Resource monitoring of Gyeongju National Park (3rd year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2012. Resource monitoring of Gyeongju National Park (4th year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2013. Resource monitoring of Gyeongju National Park (5th year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2014. Resource monitoring of Gyeongju National Park (6th year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2015. Resource monitoring of Gyeongju National Park (7th year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- KNPSGNPO (Korea National Park Service Gyeongju National Park Office). 2016. Resource monitoring of Gyeongju National Park (8th year). Korea National Park Service Gyeongju National Park Office, Gyeongju.
- Lee, C.J., S.G. An and E.K. Jang. 2023. Analysis of channel changes in mountain streams due to typhoon Hinnamnor flood-a case study on Shingwangcheon and Naengcheon streams in Pohang. *Ecology and Resilient Infrastructure* **10**: 97-106.
- Li, D., M. Dorber, V. Barbarossa and F. Verones. 2022. Global characterization factors for quantifying the impacts of increasing water temperature on freshwater fish. *Ecological Indicators* **142**: 109201.
- Li, J., C. Fu and G. Lei. 2011. Biogeographical consequences of Cenozoic tectonic events within East Asian margins: a case study of *Hynobius* biogeography. *PLoS One* **6**: e21506.
- Maruyama, S., Y. Isozaki, G. Kimura and M. Terabayashi. 1997. Paleogeographic maps of the Japanese Islands: Plate tectonic synthesis from 750 Ma to the present. *Island Arc* **6**: 121-142.
- Natsumeda, T. 2007. Estimates of nocturnal home-range size of the adult Japanese fluvial sculpin, *Cottus pollux* (Pisces: Cottidae) in relation to bottom topography and sampling intervals. *Journal of Ethology* **25**: 87-93.
- NIBR (National Institute of Biological Resources). 2011. Red data book of endangered fishes in Korea. Ministry of Environment, National Institute of Biological Resources, Incheon.
- NIBR (National Institute of Biological Resources). 2019. Red data book of Republic of Korea, Volume 3. Freshwater fishes. Ministry of Environment, National Institute of Biological Resources, Incheon.
- Olden, J.D., M.J. Kennard, F. Leprieur, P.A. Tedesco, K.O. Winemiller and E. García-Berthou. 2010. Conservation biogeography of freshwater fishes: recent progress and future challenges. *Diversity and Distributions* **16**: 496-513.
- Otofujii, Y.I. 1996. Large tectonic movement of the Japan Arc in late Cenozoic times inferred from paleomagnetism: Review and synthesis. *Island Arc* **5**: 229-249.
- Piggott, M.P., S.C. Banks, B.T. Broadhurst, C.J. Fulton and M. Lintermans. 2021. Comparison of traditional and environmental DNA survey methods for detecting rare and abundant freshwater fish. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **31**: 173-184.
- Riaz, M., C. Wittwer, C. Nowak and B. Cocchiaro. 2020. An environmental DNA assay for the detection of the regionally endangered freshwater fish *Alburnoides bipunctatus* in Germany. *Conservation Genetics Resources* **12**: 41-43.
- Shu, L., A. Ludwig and Z. Peng. 2020. Standards for methods utilizing environmental DNA for detection of fish species. *Genes* **11**: 296.
- Taniguchi, S., J. Bertl, A. Futschik, H. Kishino and T. Okazaki. 2021. Waves out of the Korean Peninsula and inter- and intra-species replacements in freshwater fishes in Japan. *Genes* **12**: 303.
- Yokoyama, R. and A. Goto. 2005. Evolutionary history of freshwater sculpins, genus *Cottus* (Teleostei; Cottidae) and related taxa, as inferred from mitochondrial DNA phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **36**: 654-668.
- Yoon, J.D., M.H. Jang and G.J. Joo. 2011. Effect of flooding on fish assemblages in small streams in South Korea. *Limnology* **12**: 197-203.
- Yoon, Y.Y. and H.S. Kim. 2004. Effect of typhoon "Rusa" on the natural Yeon-gok stream and coastal ecosystem in the Yeong-dong province. *Journal of the Korean Society for Marine Environment & Energy* **7**: 35-41.
- Yoshigou, H. 2010. The morphological variations and distributions of the *Cottus pollux* species complex (Osteichthyes, Scorpaeniformes, Cottidae) in the Hiroshima Prefecture, Japan. *Miscellaneous Reports of the Hiwa Museum for Natural History* **51**: 255-275.
- Yun, B.H., Y.H. Kim, H.S. Han and I.C. Bang. 2024. The char-

acteristics and phylogenetic relationship of two complete mitochondrial genomes of *Cottus pollux* (scorpaeniformes: cottidae). *Mitochondrial DNA Part B: Resources* **9**: 55-59.
Yun, B.H., Y.H. Kim, M.S. Sung and I.C. Bang. 2022. First record

of the Japanese fluvial sculpin, *Cottus pollux* (Scorpaeniformes: Cottidae) from Korea. *Korean Journal of Ichthyology* **34**: 277-287.