

제주도, 한반도 및 대만 내 팔색조의 생태적 서식특성 분석을 위한 유전적 접근

김은미¹⁾²⁾ · 전연선³⁾ · 김세재²⁾ · 강창원⁴⁾ · 원현규¹⁾ · 정길상⁵⁾

¹⁾ 국립산림과학원 난대아열대산림연구소 · ²⁾ 제주대학교 생물학과

³⁾ 이화여자대학교 환경공학과 · ⁴⁾ 한국조류보호협회 제주지회 · ⁵⁾ 이화여자대학교 에코과학부

The Genetic Approach on Analyzing the Habitat Characteristics of Fairy Pitta *Pitta Nympha* Inhabiting Jeju Island, the Korean Peninsula and Taiwan

Kim, Eun-Mi¹⁾²⁾ · Jeon, Yeon-Seon³⁾ · Kim, Se-Jae²⁾ · Kang Chang-Wan⁴⁾
Won Hyun-Kyu¹⁾ and Jeong, Gil-Sang⁵⁾

¹⁾ Warm-temperate and Subtropical Forest Research Center, Korea Forest Research Institute, Jeju 697-050, Korea,

²⁾ Department of Biology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

³⁾ Department of Environment Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea,

⁴⁾ The Korea Association For Bird Protection Jeju Branch, Jeju 697-340, Korea,

⁵⁾ Department of Ecoscience, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea.

ABSTRACT

A Fairy Pitta is a bird known to breed only in mainland China, Taiwan, Japan and Korea and is listed as Vulnerable in the IUCN Red List. We carried out a DNA analysis to contribute to conserve the genetic diversity of Fairy Pitta. 32 samples were collected at Jeju Island, the Korean Peninsula and Taiwan from 2004 to 2013 and DNA was extracted from them and several sequences were amplified-it through PCR. And then we performed the population genetic analysis. We found there was a transversion between nucleotide sequences at CO1 gene, while there was no changes at Cyt-b

First author : Kim, Eun-Mi, Warm-temperate and Subtropical Forest Research Center and Department of Biology,
Tel : +82-64-730-7281, E-mail : kptta@naver.com

Corresponding author : Won, Hyun-Kyu, Warm-temperate and Subtropical Forest Research Center,
Tel : +82-64-730-7280, E-mail : hkwon@forest.go.kr

Received : 28 November, 2013. **Revised** : 25 December, 2013. **Accepted** : 27 December, 2013.

gene. And we confirmed the polymorphism from two genes was caused from genetic drift not from selection. Through this analysis, the group within the Peninsula was found bigger than other two groups based on the analysis of CO1 gene, and the group from Taiwan was found bigger than other two groups through the analysis of Cyt-b gene. The population genetic structure of mitochondria gene of three group was showing CO1 gene had 5 haplotypes and Cyt-b gene had 6 haplotypes. Haplotype 2 in CO1 gene was found in three group and many individuals of samples had this haplotype. Like CO1 gene, haplotype 2 in Cyt-b gene was found in three group and was included in plenty of individuals. Other haplotypes were not overlapped and broke off among the three groups. To prevent from the extinction of *Fairy Pitta* and to obtain the genetic diversity, we need to compare with other regional group such as Japan, China and perform additional research in the non-breeding area.

Key Words : *Genetic diversity, CO1, Cyt-b, Endangered species, Conservation, Haplotype.*

I. 서 론

팔색조는 분류학상 참새목 팔색조과에 속하는 조류로 1850년 네덜란드 학자에 의해 처음 보고되었다(Monroe and Sibley, 1993). 과거 팔색조는 *Indian Pitta*(*Pitta brachyura*)와 동종으로 취급되었으나 깃털과 형태 그리고 소리에서 분명한 차이를 보여 현재는 별개의 종으로 취급된다(Lambert and Woodcock, 1996). 제주도를 포함한 한국, 중국, 대만, 일본 등에서 번식하고 비번식지를 보르네오에서 지내는 조류로, 팔색조과에 속하는 조류는 전 세계적으로 30 종이 분포하고 있으나 팔색조만이 동북아시아에서 번식하는 유일한 팔색조과의 조류이다(Lambert and Woodcock, 1996; Brazil, 2009; Lok et al., 2009). 이러한 분포권의 제한으로 인해 멸종위기에 취약하고 19세기와 20세기동안 급격한 서식지 상실로 인해 전세계적으로 2500 마리에서 10000마리 정도의 개체가 생존해 있는 것으로 추정되고 있으며 IUCN(International Union for the Conservation of Nature)이 발행하는 Red Data Book에 멸종위기 취약종(VU)으로 등재되어 있다(BirdLife International, 2001, 2013). 최근 몇 년 동안 각 국가마다 팔색조에 대한 생

태, 분포, 서식환경에 대한 연구가 진행되었고 이를 통해 보호대책을 마련하고 있으며(Lin et al., 2007a, 2007b; Kim et al., 2012) 서식지로 알려진 국가 간의 국제협력의 필요성이 대두되고 있는 실정이다(Wilkie, 2008).

최근 자연환경에 대한 관심이 증대되고 있고, 특히 특정종이 가지고 있는 낮은 유전적 다양성은 종의 절멸에 있어 중요한 요인으로 작용한다고 알려져 있는데(Frankham, 1997), 팔색조의 번식지는 동북아시아에 한정되어 있고 이런 번식지의 제한은 잠재적으로 낮은 유전적 다양성이나 파편화된 유전자 구조를 형성할 수 있다고 예상된다. 현재 대만이나 중국 등 대규모 서식지가 파괴되고 있으며(Wilkie, 2008; Lin et al., 2008) 이동지 혹은 번식지 그리고 월동지에서 피해를 받고 있어(Kim et al., 2013; BirdLife International, 2001) 개체수의 감소가 지속적으로 진행되고 있다. 이런 이유로 인해 팔색조의 유전적 구조가 지역간에 상당히 분화되어 있을 것으로 예상된다.

본 연구를 통해 생태적 서식특성 분석을 위한 기초자료로 팔색조의 미토콘드리아에 존재하는 두 개의 유전자상에서 분자적인 다양성 규명을 통하여 번식지인 제주도, 한반도, 그리

고 대만에 서식하는 팔색조 집단의 생태적인 특징을 이끌어내는 유전학적 구조를 조사하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 재료

우리나라에서 천연기념물로 지정되어 있는 팔색조는 현재 대만에 500개체 이상이 생존해 있는 것으로 나타났고(Ko et al., 2009) 우리나라에서는 제주도의 60쌍을 포함하여(Kim, 2006) 약 200개체 정도 관찰되고 있으나 일본은 이미 서식지 파괴로 인해 희귀해진 상태이고 최대 개체수가 생존해 있을 것으로 파악되는 중국인 경우 구체적인 연구가 이루어지지 않았으며 서식지가 급속도로 파괴되고 있다고 추정되고 있다(Lin et al., 2008). 미국 메사추세츠주에서 1800년대 초반까지만 해도 수 만 마리가 생존해있던 Heath Hen(*Tympanuchus cupido cupido*)는 1890년대 단지 200개체만이 생존해 있었고(Gross, 1928; Johnson and Peter, 2006) 유전적 다양성이 낮아지면서 100년도 안 되는 사이에 절멸에 이르렀다(Johnson and Peter, 2006). 낮은 유전적 변이는 개체군이 작은 규모에 도달했을 때 종의 절멸에 기여하기 때문에(Newman and Pilson, 1997; Reed and Frankham, 2003; Spielman et al., 2004) 개체수의 감소는 순식간에 진행되어지며 유전적 다양성 확보를 위한 정보는 멸종을 막기 위한 자료로 충분한 가치를 가지고 있다.

또한 팔색조는 어둡고 습한 환경에서 서식하기 때문에 먹이를 구하기 위해 낮에 활동을 하며 사람의 접근에 민감하게 반응하고 관찰이 어려운 조류로서 서식지를 확인하였다고 해도 관찰이나 포획이 어렵다(Kim, 1964; Erritzoe, 2004; Lok et al., 2009). 대만인 경우 윤린현 지역에서 팔색조에 대한 연구가 매년 진행되고 있지만 조사 지역 내의 팔색조만을 가지고 혈액 샘플을 채취하고 있어 그 수에 한계가 있었

다. 샘플 확보가 어렵기 때문에 앞으로도 샘플 확보에 대한 기대는 낮고 팔색조 개체수가 급감하는 상황에서 DNA분석과 관련한 자료 확보가 시급하였으며 분석이 이루어진 샘플수가 많지는 않지만 의미 있는 결과를 얻기에 충분하다고 판단하였다.

팔색조의 유전자 확보를 위해 사단법인 한국 조류보호협회 제주지회를 비롯하여 야생동물유전자원은행 등 천연기념물을 관리할 수 있는 단체의 도움을 받아 2004년부터 2013년까지 구조되거나 회수된 사체에서 21개의 샘플을 확보하였고, 살아있는 팔색조인 경우에는 혈액을 채취하였으며, 사체는 근육, 간, 허 부위, 깃털 등을 채취하여 분석에 이용하였다. 대만 내 샘플은 대만특산종연구소(Endemic Species Research Institute)에서 제공받았으며 2007년부터 2012년까지 대만 중부 윤린현과 대만 남부 타이난현에서 포획된 개체들의 혈액을 이용하였다(Table 1).

2. Genomic DNA 추출

실험실로 옮겨진 혈액샘플 등의 시료는 -20°C 냉동고에 genomic DNA의 추출 시까지 보관하였다. Genomic DNA의 추출은 상용 kit를 사용하여 high quality DNA를 추출하였다. DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Germany)의 사용에는 아래와 같다.

혈액에 20ul proteinase K를 첨가하였고 조직의 경우 200ul의 ATL에서 pestle을 이용해 파쇄 후 20ul proteinase K를 첨가하였다. 그리고 200ul AL을 첨가한 후 56°C에서 10분을 두었다. 그 후 200ul 알코올(분자생물학급)을 넣고 완전히 섞이게 vortexing하여 상기액을 Column으로 옮겼다. 옮긴 상기액을 8000rpm에서 1분간 원심 분리하였다. 원심분리된 하층액은 collection 튜브 채 버리고 새 튜브에 옮긴 용액은 500ul AW1을 넣고 8000rpm에서 1분간 원심분리하였다. 원심분리해서 형성된 하층액은 collection 튜브 채 버리고 Column을 새 collection 튜브에 옮겼다.

Table 1. A list of samples used for molecular analysis.

No.	Age	Gender	Rescue place	Cause of injury and mortality	Sample part
J1	Adult	Famale	Jeju	Window strike	Muscle
J2	Adult	Male	Jeju	Car accident	Blood
J3	Chick	Famale	Seogwipo	dehydration	Blood
J4	Adult	Un.	Jeju	Window strike	Feather
J5	1 st year	Male	Jeju	dehydration	Blood
J6	Adult	Male	Seogwipo	Car accident	Blood
J7	Adult	Famale	Seogwipo	Window strike	Blood
J8	Chick	Male	Seogwipo	dehydration	Blood
J9	Chick	Male	Jeju	dehydration	Blood
J10	1 st year	Famale	Seogwipo	Car accident	Blood
J11	Adult	Famale	Jeju	Window strike	Muscle
J12	Adult	Un.	Jeju	dehydration	Feather
J13	Adult	Famale	Seogwipo	dehydration	Feather
J14	Adult	Male	Seogwipo	Window strike	Muscle
J15	Adult	Male	Seogwipo	Window strike	Tongue
KP1	Adult	Famale	Gyeonggi-do	Un.	Liver
KP2	Adult	Famale	Gangwon-do	Window strike	Feather
KP3	Adult	Un.	Chungcheongnam-do	Predation	Feather
KP4	Chick	Male	Gangwon-do	dehydration	Muscle
KP5	Adult	Un.	Geojedo	Window strike	Muscle
KP6	Adult	Male	Busan	Car accident	Tongue
T1	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T2	Adult	Male	Taiwan	Capture	Blood
T3	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T4	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T5	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T6	Adult	Male	Taiwan	Capture	Blood
T7	Adult	Male	Taiwan	Capture	Blood
T8	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T9	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T10	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T11	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T12	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood
T13	Adult	Famale	Taiwan	Capture	Blood

* J: Jeju, KP: Korean Peninsula, T: Taiwan.

Table 2. Primers used the amplification of mitochondria gene.

Primers	Sequences
Bird F1	5'-TCTCCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'
Bird R2	5'-ACTACATGTGAGATGATTCCGAATCCAG-3'
cyt b F	5'-CATCCAACATCTCTGCTTGATGAAA-3'
cyt b R	5'-ATGAAGGGATGTTCTACTGGTTG-3'

여기에 500ul AW2를 넣고 14000rpm에서 3분간 원심분리하였으며 용액이 남지 않도록 주의하고 남아 있는 경우 다시 원심분리하였다. Column을 1.5ml 튜브에 옮긴 후 200ul AE 첨가 1분 후 8000rpm에서 1분간 원심분리하여 DNA 추출을 완료하였다. 추출된 genomic DNA는 -20°C 냉장고에 보관하였다.

3. PCR 증폭

PCR(polymerase chain reaction)은 polymerase와 특정 부위에 결합하도록 sequence를 조정한 primer를 이용하여 특정 유전자 부위를 대량 증폭하는 기술이다. 현재 생물학에서 가장 널리 쓰이는 기술 중의 하나이다. 이는 일련의 과정이 반복됨으로써 일어난다. 먼저 denaturing을 통하여 double strand DNA가 서로 떨어져 single strand DNA가 된다. 이 single strand DNA의 특정 부위에 primer가 점착되면 polymerase가 작동하여 그 상보적 염기가닥을 늘려나가는 것이다. PCR을 이용하여 CO1 부위와 cyt-b 부위는 universal primer를 이용해 증폭하고자 한다. 두 유전자 부위의 universal primer는 아래와 같다(Table 2).

기본적인 PCR 조건은 다음과 같다. CO1인 경우 Initial denaturation을 95°C에서 2분, denaturation은 95°C에서 1분, annealing은 51°C에서 1분, extension은 72°C에서 5분으로 35 cycles을 실시한 뒤, final extension은 72°C에서 5분간 실시하였다. cyt-b인 경우 Initial denaturation을 94°C에서 4분, denaturation은 94°C에서 1분, annealing은 50°C에서 1분, extension은 72°C에서 1분으로 35 cycles을 실시한 뒤, final extension은 72°C에

서 5분간 실시하였다.

PCR 용량은 총 25ul이며, 10X PCR buffer 2.5ul, primer(forward, reverse) 각 0.5ul, dNTP 0.5ul, polymerase 0.2ul, genomic DNA 2ul와 이차증류수 18.8ul를 혼합하였고 PCR에 쓰이는 polymerase는 고효율 *Taq* polymerase (Intron, Enzynomics)를 사용하였다.

4. PCR 증폭 산물의 확인

추출된 genomic DNA는 0.01% EtBr이 섞인 1% agarose gel에서 2ul의 PCR 증폭산물을 1ul의 6X gel loading dye와 섞어 100V, 30분 전기영동을 통해 밴드를 확인하고 100bp ladder와 대조함으로써 그 적정 사이즈를 검정하였다. 검정이 된 후 정제 kit를 이용해 PCR 산물을 정제하였다. Kit(Qiagen사의 QIAquick PCR purification kit와 Gel extraction kit)의 사용 방법은 아래와 같다. 5배의 PB(QG)버퍼를 PCR 산물과 혼합한 후 그 혼합물을 Column으로 옮겨 14000rpm에서 30~60초간 원심 분리하였다. 원심분리한 후 하층액만 버리고 Collection 튜브를 채워치시켜 750ul의 PE 버퍼를 넣고 14000rpm에서 1분간 원심 분리하였다. 그 후 또다시 하층액만 버리고 Collection 튜브를 채워치 시킨 후 PE버퍼를 완전히 제거하기 위해 다시 14000rpm에서 1분간 원심분리하고 Column을 1.5ml 튜브에 옮겨 50ul EB 첨가하고 1분 후 원심분리하여 -20°C에 보관하였다.

5. Haplotype 가계 분석

CO1과 cyt-b 유전자 부위를 획득한 후 MEGA (ver. 5)의 alignment explorer에서 비교 분석하였다.

Table 3. Molecular diversity derived from analyzing CO1 and Cyt-b genes.

Statistics		Jeju	Korean Peninsula	Taiwan	Mean±s.d.
CO1	No. transitions	1	0	2	1±1
	No. transversions	1	1	0	0.667±0.577
	No. substitutions	2	1	2	1.677±0.577
	No. indels	0	0	0	0±0
Cyt-b	No. transitions	2	2	1	1.667±0.557
	No. transversions	0	0	0	0±0
	No. substitutions	2	2	1	1.667±0.577
	No. indels	0	0	0	0±0

Table 4. Tajima's neutrality test.

Statistics		Jeju	Korean Peninsula	Taiwan	Mean±s.d.
CO1	Sample	7	3	6	5.33333±2.08167
	Tajima's <i>D</i>	0.20619	0.00000	-1.13197	-0.30859±0.72048
	P-values	0.63300	1.00000	0.15900	0.59733±0.42163
Cyt-b	Sample	10	4	6	6.66667±3.05505
	Tajima's <i>D</i>	0.12030	-0.70990	-0.93302	-0.50754±0.55505
	P-values	0.65100	0.25500	0.27800	0.39467±0.22229

전체 분석된 개체의 동일유전자 파일을 만들어 DnaSP(ver. 5)에서 haplotype의 수를 조사하였다. 이 haplotype의 관계는 Fluxus network 소프트웨어를 이용하여 median joining 알고리즘을 적용해 분석하였다(ver. 4.6.10)(Bandelt *et al.*, 1999).

III. 결과 및 고찰

1. 팔색조(*Pitta nympha*)의 집단 분석

팔색조의 유전자 분석을 위해서 CO1 유전자와 Cyt-b 유전자를 확인하였는데, CO1 유전자에서는 제주 및 한반도 집단에서 1개의 염기(nucleotide)에서 염기변이(transversion)가 발생했지만, Cyt-b 유전자에서는 염기간의 변이가 관찰되지 않았다(Table 3). Avise와 Lansman(1983)에 의하면, 일반적으로 종내 mtDNA의 유전적 변이정도는 염기치환에 의한 유전자 돌연변이

가 중요한 요인인 것으로 알려졌는데, 이번 분석에서는 지역 간 개체의 유전적 차이를 나타낼 수 있는 염기치환이 제주도와 한반도에 서식하는 팔색조의 CO1 유전자에서 발생하였다. 현재는 염기치환의 정도가 미미하지만 제주도와 한반도에 도래하는 개체들은 대만에 도래하는 개체들보다 유전적 변이로 인한 표현형이나 생활습성 등의 변화가 빠르게 진행될 가능성이 높으며 이로 인해 우리나라에 도래하는 개체와 대만에 도래하는 개체간의 유전적 차이는 더 크게 벌어질 수 있다고 판단된다.

미토콘드리아의 두 유전자의 다형성 (polymorphism)이 선택압 (selection)에 의한 것인지 유전자 부동 (genetic drift)에 의한 것인지를 Tajima의 *D*값을 이용하여 검정하였다. 그 결과 CO1 유전자의 *D* 값은 -0.30859, Cyt-b 유전자의 *D* 값은 -0.50754로 나타났는데, 둘 다 개체

Table 5. Slatkin's linearized *Fst* test.

CO1	localities	Jeju	Korean Peninsula	Taiwan
	Jeju	0		
	Korean Peninsula	0.50000	0	
	Taiwan	0	0.18218	0
Cyt-b		Jeju	Korean Peninsula	Taiwan
	Jeju	0		
	Korean Peninsula	0.19375	0	
	Taiwan	0.20161	0.05357	0

Matrix of Slatkin linearized *Fst*s as $t/M=Fst/(1-Fst)$
 (M=N for haploid data, M=2N for diploid data)

군 내의 적응도를 감소시키는 해로운 돌연변이를 제거함으로써 특정 haplotype이 선택되는 정제선택(purifying selection)의 경향을 띠었다. 그러나 두 유전자의 *D*값 모두 통계적으로 유의하지 않았으므로($P(CO1) > 0.1$, $P(Cyt-b) > 0.1$) 두 유전자가 보이는 다형성이 선택압에 의한 결과라기보다는 유전자 부동에 의한 것이라는 것을 짐작할 수 있었다(Table 4).

팔색조가 저지대 상록활엽수림에 도래하여 장마철에 번식을 한다는 점에서는 각 집단 간에 비슷한 서식특성을 가지지만 천적이라든지 장마가 시작되는 시점 혹은 기온 등에서는 차이를 보이며 이런 차이는 각 지역에서 서식하는 서식조건에 따른 행동이나 습성의 차이를 가져오게 하고(Kim et al., 2003; Lin et al., 2007; Severinghaus et al., 1991) 이로 인해 환경에 불리한 유전자를 제거하면서 나타나는 선택압에 의한 유전자 다형성이 발생할 수도 있다. 하지만 이번 분석을 통해 환경적인 요인에 영향을 받기보다는 많은 세대를 거치는 동안 팔색조가 각각의 번식지로 도래하였으며 이로 인해 지역별 개체들간의 유전자 다형성이 형성된 것으로 추측된다. 대만에서 2004년부터 2007년까지 팔색조의 회귀율을 조사한 자료에 의하면, 16-26%의 성조가 이전에 번식 했던 장소로 되돌아왔으며 300m 이상의 세력권과 사

람 앞에 잘 나타나지 않는 습성으로 인해(Lin et al., 2008) 관찰율이 떨어진다는 것을 감안한다면 높은 회귀율을 보인다고 할 수 있다. 팔색조의 높은 회귀율은 각각의 번식지에서 유전자가 섞일 가능성을 낮춤으로서 유전자 부동이 일어나고 있음을 의미한다.

Slatkin의 *Fst*값을 이용하여 지역집단간의 유전적 분화정도를 분석한 결과 CO1 유전자는 한반도지역이 다른 지역에 비해 분화의 정도가 더 컸으며, Cyt-b 유전자는 반대로 대만 지역이 다른 지역에 비해 분화정도가 큰 것으로 나타났다(Table 5). CO1 유전자의 분석을 통하여 한반도지역이 타 지역에 비해 분화정도가 큰 것으로 확인되었고, Cyt-b 분석에서는 대만 지역이 다른 지역에 비해 분화 정도가 더 크다는 결과를 얻었는데, 이는 팔색조가 서식하는 공간의 면적과 관련이 있어 보인다.

팔색조는 천적의 피해를 줄이기 위해 번식지로 이동하는 동안 집단을 이루는데(Lok et al., 2009) 번식지에 도착한 후 흩어지게 된다. 면적이 넓은 지역에서는 번식지간 거리가 멀어질 것이고 거리가 멀어짐으로서 서로 상호작용을 하거나 환경에 적응하는 정도나 방법 등이 달라질 것이다. 이러한 환경적인 요인의 차이로 인해 같은 지역 내에서 번식을 한다고 해도 면적이 좁은 지역보다 넓은 지역에서 분화정도가

Table 6. Distribution of Haplotype.

	Haplotype	Jeju	Korean Peninsula	Taiwan
CO1	Hap-1			1
	Hap-2	3	1	4
	Hap-3			1
	Hap-4	3	2	
	Hap-5	1		
Cyt-b	Hap-1	4		
	Hap-2	5	2	5
	Hap-3	1		
	Hap-4		1	
	Hap-5		1	
	Hap-6			1

클 것이고 대만과 한반도에서 분화정도가 크게 나타나는 원인으로 판단된다.

2. 팔색조(*P. nympha*)의 CO1과 Cyt-b 유전자의 haplotype network

본 연구에서 제주도 · 한반도 · 대만의 지역 집단의 미토콘드리아 유전자-CO1과 Cytochrome b-의 집단유전학적 구조를 조사한 결과, CO1 유전자는 haplotype이 5개였으며, Cyt-b 유전자의 경우는 6개의 haplotype이 검출되었다. CO1 유전자의 경우 haplotype-2가 모든 지역에서 발견되었으며, 개체수도 가장 많았다. Cyt-b의 경우에도 마찬가지로 haplotype-2가 전지역에서 발견되고 압도적으로 많은 개체수를 보였으며, 그 외 haplotype들의 경우 전혀 중복되지 않고 지역적으로 단절된 상태였다(Table 6). 팔색조의 CO1과 Cyt-b 유전자의 haplotype network을 살펴보면 각각 5개와 6개의 haplotype이 검출되었는데 이는 유전적 다양성이 그다지 크지 않다는 것을 나타낸다. CO1의 haplotype은 haplotype-2가 모든 지역에서 발견되는 것으로 보아 조상형이며, 그로부터 point mutation을 통해 다른 네 가지 haplotype이 생성된 것으로 판단된다. 또한

haplotype-2와 다른 네 haplotype들 간에 mutation site가 많지 않은 것으로 볼 때, 진화적으로 근래에 분화가 일어난 것으로 보인다. 대만과 한국에서 공유하고 있는 haplotype-2를 제외하고는 haplotype-1과 haplotype-3은 대만에서만, haplotype-4와 5는 한국에서만 발견되는 것으로 보아 서로 격리되어 있는 것으로 보인다. Cyt-b 유전자도 haplotype-2로부터 5가지 haplotype들이 분화해 나온 형태로, 각각 하나의 mutation site만을 가지고서 CO1 유전자와 비슷한 haplotype network를 보여주고 있다. 세 지역이 공유하고 있는 haplotype-2를 제외하고는 haplotype-1, 3은 제주도에서만, haplotype 4, 5는 한반도에서만, haplotype-6은 대만에서만 나온 것으로 보아 세 지역이 서로 분리되어 있는 것으로 보인다.

IV. 결 론

1996년도까지 팔색조는 인도와 파키스탄 등 인도대륙에 서식하는 Indian Pitta(*Pitta brachyura*)와 지형적으로 격리되어 있음에도 불구하고 외형적으로 비슷하다고 해서 같은 종으로 여겨졌다(Lambert and Woodcock, 1996). 하지만 1996년

별개의 종으로 취급되면서 번식지가 동북아시아로 국한되었고 개체수 또한 멸종위기에 처해 있는 수준으로 평가된다. DNA 분석을 통해 현재는 유전적으로 격리되어 있다는 것을 확인할 수 있었고 도래시기, 서식환경에 적응하는 방법 등의 차이가 유전적 격리를 더 크게 만들고 있으며 제주도, 그리고 한반도에 도래하는 팔색조 집단들이 대만에 도래하는 팔색조 집단과 비번식기에도 서로 섞이지 않고 각각의 분리된 집단을 이루어 서로 다른 지역에서 생활한다고 추정할 수 있다. 만약 팔색조의 집단이 서로 격리된 채 번식기와 비번식기를 보낸다면 소규모 집단에 적용되는 유전자 부동에 의해 유전적 다양성에 부정적인 영향을 미칠 것이며(Johnson and Peter, 2006) 낮은 유전적 변이는 집단의 절멸에 기여하고(Simberloff, 1998) 특히 제주도는 섬이라는 특수성 때문에 낮은 유전자 변이가 반영될 수 있다(Franlham, 1997)고 본다. 새들의 분포 형태는 지리적으로 고정되어 있고 파편화되어 있기 때문에 유전구조는 진화적 관점에서 빠르게 분화할 수 있다. 그리고 그들 중 어떤 종은 지역적인 절멸의 위협에 놓일 수 있다. 이에 팔색조에 대한 추가적인 유전적 정보 획득을 위해 일본과 중국에 대한 집단유전학적 비교 및 비번식기동안 팔색조가 생활하는 지역에 대한 추가적인 조사가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

이번 연구를 위해 대만에 번식하는 팔색조의 샘플을 제공해 주신 대만특산종연구소의 林瑞興(Ruey-Shing Lin)박사님과 한국조류보호협회 제주지회 그리고 야생동물유전자원은행 관계자 분들께 가슴 깊이 감사드립니다. 저자 중 전연선은 국립생물자원관의 지원을 받았으며 정길상은 국립생물자원관과 Korean National Research Foundation(Project No. C00027과 NRF2011-0030500)의 지원을 받아 연구를 수행하였습니다.

인용 문헌

Avise, J. C. and Lansman, R. A. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in Populations of higher animals. In "Evolution of Genes and Proteins"(M. Nei and R.Koehn, eds.). Sinauer Associates, Sunderland, MA, 147-164.

Bandelt, H. J. · Forster, P. and Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intra-specific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16: 37-48.

BirdLife International. 2001. Threatened Birds of Asia; The BirdLife International Red Data Book, BirdLife International, Cambridge, UK.

BirdLife International. 2013. Species factsheet: *Pitta nympha*. Downloaded from <http://www.birdlife.org> on 19/01/2013.

Brazil, M. 2009. *The birds of East Asia*. London: Christopher Helm.

Erritzoe, J. 2004. Order Passeriformes. Family Pittidae (Pittas). In: del Hoyo, J., A. Elliot & J. Sargatal (eds.), *Handbook of the Birds of the World. Volume 8. Broadbills to Tapaculos*. Lynx Edicions, Barcelona, Spain.

Frankham, R. 1997. Do island populations have lower genetic variation than mainland populations?. *Heredity* 78: 311-327.

Gross, A. O. 1928. The heath hen. *Memoirs Boston Soc. Nat. Hist.* 6: 489-588.

Johnson, J. A. and Peter, O. D. 2006 Low genetic variation in the Heath Hen prior to extinction and implications for the conservation of prairie-chicken populations. *Conservation Genetics* 7: 37-48.

Kim, E. M. 2006. The distribution and breeding ecology of Fairy pitta (*pitta nympha*) on Mt. Halla. Research Institute of Mt.Hallasan, Jeju.

- Kim, E. M. · Choi, C. Y. and Kang, C. W. 2013. Causes of injury and mortality of Fairy Pitta *Pitta nympha* on Jeju Island, Republic of Korea. Forktail 29: 104-107.
- Kim, E. M. · Oh, H. S. · Kim, S. B. and Kim, W. T. 2003. The distributon and habitat environment of Fairy Pitta(*Pitta nympha* Temminck & Schlegel) on Jeju Island, Korea. Korean Journal of Ornithology 10(2): 77-86.
- Kim, H. K. 1964. the ecology of Fairy Pitta. Korean Culture Research Institute Bulletin 5: 235-240.
- Ko, C. Y. · Lee, P. F. · Bai, M. L. and Lin, R. S. 2009. A Rule-Based Species Predictive Model for the Vulnerable Fairy Pitta. Taiwania 54(1): 28-36.
- Lambert, F. and Woodcock, M. 1996. Pittas, Broadbills and Asities. Pica Press, Sussex.
- Lin, R. S. · Yao, C. T. and Lee, P. F. 2007a. The Diet of Fairy Pitta *Pitta nympha* Nestlings in Taiwan as Revealed by Videotaping. Zoological Studies 46(3): 355-361.
- Lin, R. S. · Chen, W. J. and Lee, P. F. 2008. The Annual report of Jeju Wildlife Research Center: A review and perspective of the Fairy Pitta research in Taiwan. Jeju Wildlife Research Center, Jeju.
- Lin, R. S. · Lee, P. F. · Ding, T. S. and Lin, Y. T. K. 2007b. Effectiveness of Playbacks in Censusing the Fairy Pitta (*Pitta nympha*) during the Breeding Season in Taiwan. Zoological Studies 46(2): 242-248.
- Lok, A. F. S. L. · Khor, K. T. N. · Lims, K. C. and Subaraj, R. 2009. Pittas(PITTIDAE) of Singapore. NATURE IN SINGAPORE 2: 155-165.
- Monroe, B. L. and Sibley, C. G. 1993. A World Checklist of Birds, Yale University Press, New Haven and London.
- Newman, D. and Pilson, D. 1997. Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: Experimental populations of *Clarkia pulchella*. Evolution 51: 354-362.
- Reed, D. H. and Frankham, R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. Conserv. Biol. 17: 230-237.
- Severinghaus, L. L. · Liang, C. T. · Severinghaus, S. R. and Lo, L. C. 1991. The distribution, status and breeding of Fairy Pitta(*Pitta nympha*) in Taiwan. Bull. Inst. Zool. Acad. Sin. 30: 41-47.
- Spielman, D. · Brook, B. W. and Frankham, R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 15261-15264.
- Wilkie, M. B. 2008. The Annual report of Jeju Wildlife Research Center: Conservation and Threats to the Fairy Pitta *Pitta nympha*: The Huben IBA, Taiwan. Jeju Wildlife Research Center, Jeju.