

석사학위논문

제주도 곶자왈지역 멧쟁이딱정벌레의
미토콘드리아 *ND5* 유전자 염기서열
비교분석

제주대학교 대학원

생명과학과

전형식

2008년 12월

제주도 곶자왓지역 멧쟁이딱정벌레의 미토콘드리아 *ND5* 유전자 염기서열 비교분석

지도교수 김 원 택

전 형 식

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2008년 12월

전형식의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 _____ ①

위 원 _____ ①

위 원 _____ ①

제주대학교 대학원

2008년 12월

Comparative Analysis of Mitochondrial ND5 Gene Sequences from *Damaster* (*Coptolabrus*) *jankowskii* of Gotjawal Terrains on Jeju Island, Korea

Hyung-Sik Jeon

(Supervised by professor Won-Taek Kim)

**A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement
for the degree of Master of Philosophy**

December, 2008

This thesis has been examined and approved.

Thesis director, Se-Jae Kim, Prof. of Life Science

(Name and signature)

Date

**Department of Life Science
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

ABSTRACT

The mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 5 (*ND5*) gene of *Damaster (Coptolabrus) jankowskii* was analyzed among three 'gotjawal' terrains on Jeju island, Korea. By comparative analysis of the mitochondrial *ND5* gene sequences, genetic relationship was assessed among 37 specimens collected 'gotjawal' terrains including 5 specimens from the Korean peninsula. The *ND5* gene sequences analyzed were 1,066 base pairs (bp) in length. Pairwise sequence divergences in the *ND5* gene ranged from 0.00 to 3.12% in the ingroup accessions and from 7.33 to 8.44% between the ingroups and the outgroup, *Hemicarabus tuberculosus*. The greatest divergence (3.12%) in the ingroup accessions was between J-GS10 (Gujwa-Sungsan gotjawal) and J-HS (Hwaseong). Neighbor joining (NJ), maximum parsimony (MP), and maximum likelihood (ML) trees were generated using the *ND5* partial sequences data. All three phylogenetic trees represented that the Gujwa-Sungsan gotjawal population was similar rather to that of Korean peninsula than the others on Jeju. Even though, the sampling locality was not various in the Korean peninsula, the results suggested that the origin of *D. (C.) jankowskii* in the Gujwa-Sungsan gotjawal was not according to the origin of population in the Jocheon-Hamdeog and Aewol gotjawals.

Key word : *Damaster (Coptolabrus) jankowskii*, Mitochondrial *ND5*, ground beetle, Jeju, gotjawal

목 차

ABSTRACT	i
목 차	ii
List of Tables	iii
List of Figures	iv
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	5
1. 실험재료	5
2. DNA 분리 및 <i>ND5</i> 유전자 증폭	10
3. 유전자 cloning 및 염기서열분석	11
4. 미토콘드리아 <i>ND5</i> 유전자의 염기서열 결정	11
5. 계통유전학적 유연관계 분석	11
III. 결 과	13
IV. 고 찰	23
V. 참고문헌	26
VI. 요 약	28

List of Tables

Table 1. Information about the samples tested	9
Table 2. The nucleotide sequences of the primers used for PCR of the <i>ND5</i> gene	10
Table 3. Sequence divergences in the <i>ND5</i> genes of <i>Damaster</i> . <i>(Coptolabrus) jankowskii</i>	16



List of Figures

Figure 1. Collecting sites of the specimens, <i>Damaster (Coptolabrus) jankowskii</i>	6
Figure 2. Photographs of the specimens of <i>D. (C.) jankowskii</i>	7
Figure 3. Sequence variation in the 37 <i>ND5</i> genes of <i>D. (C.) jankowskii</i> used in this study.	15
Figure 4. Neighbor-joining tree of the mitochondrial <i>ND5</i> gene sequences of <i>D. (C.) jankowskii</i>	19
Figure 5. Maximum parsimony tree of the mitochondrial <i>ND5</i> gene sequences of <i>D. (C.) jankowskii</i>	20
Figure 6. Maximum likelihood tree of the mitochondrial <i>ND5</i> gene sequences of <i>D. (C.) jankowskii</i>	21
Figure 7. Variation of the amino acid sequences deduced from the nucleotide sequences of <i>ND5</i> gene.	22
Figure 8. Distributional localities of the group A and B, which were classified based on the bootstrap tree of phylogeny of MEGA 4 (see Fig. 4-6).	25

I. 서론

한국 곤충이 세계에 처음으로 소개된 것은 영국, 프랑스의 서양인들에 의해 채집된 것이 유럽에 알려진 것으로 1847년의 일이다. 최초로 알려진 곤충은 딱정벌레과의 홍단딱정벌레로 아담스(A. Adams)란 영국인에 의해 채집되었다. 그는 영국함대인 Samarang호에 승선하여 1843~1846년 동안 제주도를 포함한 동남해안을 여러 차례 탐사, 측량하면서 딱정벌레, 나비, 벌류 등의 곤충들을 채집하였다. 아담스가 채집한 곤충 중 일부 딱정벌레들은 타툼(T. Tatum)이라는 영국의 곤충학자에게 보내어졌는데, 이 표본 중에서 제주홍단딱정벌레(*Damaster smaragdinus* Tatum, 1847)를 신종으로 기재하여 발표하였다. 이종은 우리나라에서 최초로 학계에 보고되었던 곤충임과 아울러 한반도에서 신종으로 발표된 최초의 곤충이다(정, 2000).

딱정벌레목(Coleoptera)은 곤충강의 약 40%를 차지하는 가장 큰 분류군으로서 우리나라에 분포하는 딱정벌레류는 105과 3,333종이 보고되었다(이 등, 2005). 딱정벌레목은 종뿐만 아니라 크기, 습성, 발생, 서식지, 먹이 등이 매우 다양하다고 알려져 있으며, 주로 우리나라 및 시베리아 등을 포함하는 구북구 지역에 널리 분포하고 있다(김, 2000).

딱정벌레는 뒷날개가 퇴화된 보행성 곤충으로 대부분 돌 밑, 통나무 밑, 낙엽더미 등 삼림지역이나 초원에서 서식하는데(Kwon and Park, 1989), 퇴화된 뒷날개로 인해 이동성에 크게 제약을 받게 되어 날개가 있는 곤충에 비해 지리적 격리에 따른 변이가 나타날 확률이 매우 크다(Su *et al.*, 2001).

본 연구에 사용된 *Damaster (Coptolabrus) jankowskii*는 앞서 말한 홍단딱정벌레와 더불어 가장 큰 딱정벌레에 속하며, 근래에는 몇몇 연구에서 이 두 종을 *Coptolabrus* 속으로 함께 분류하기도 하였다(Zhang *et al.*, 2005). 본 연구에서는 한국곤충명집에 따라 *Damaster* 속으로 분류하고 *Coptolabrus*를 아속으로 하였다.

멋쟁이딱정벌레는 몸이 납작한 편이며, 머리와 앞가슴등판 및 딱지날개의 가장자리는 적동색이고, 딱지날개는 녹색이 도는 검정색이다. 그러나 앞가슴등판까지 완전히 녹색인 개체도 있어서 몸 색깔로 홍단딱정벌레와 구별할 수는 없다. 홍단딱정벌레와의 차이점은 딱지날개 위의 흑줄이 훨씬 가늘고 길며 높이도 비교적 일정하다. 우리나라에는 비교적 흔한 종이며, 구 소련의 곤충수집가였던 양코브스키가 채집하여 알려진 종으로 양코브스키탃정벌레라고 불리기도 한다(김, 2002).

본 멋쟁이딱정벌레는 지금까지 우리나라에서 여러 가지로 분류된 이름으로 사용되었다(Kwon and Lee, 1984). 자세히 살펴보면, *Coptolabrus jankowskii* (Reitter, 1895), *Carabus (Eocarabus) jankowskii* (Semenow, 1898), *Carabus (Coptolabrus) jankowskii* (Hauser, 1921), *Eocarabus jankowskii* (Lapouge, 1929-32), *Coptolabrus jankowskii* (Cho, 1934), *Damaster jankowskii* (Nakane, 1962) 등으로 보고가 되었는데, 최근에는 Kurosawa et Kudo(1980) 및 Sakaguti(1981)에 의해 *Damaster (Coptolabrus) jankowskii*로 보고되었고 한국곤충명집(1994)에서도 *D. (C.) jankowskii*로 정리가 되었다.

최근의 몇몇 논문에서도 *Coptolabrus*를 속으로 분류하거나 *Damaster* 속 및 *Carabus* 속의 아속 등으로 다양하게 분류하였는데, 본 연구에서는 종의 학명과 국명을 한국곤충명집(1994)에 따랐다.

딱정벌레에 있어서 *Coptolabrus* 아속의 종 및 아종간의 분류는 매우 어려운 것으로 알려져 있다. 특히, 멋쟁이딱정벌레 [*Damaster (Coptolabrus) jankowskii*]는 지금까지 여러 아종이 알려져 있는데 강원멋쟁이딱정벌레 [*D. (C.) jankowskii kangwonensis*], 거제멋쟁이딱정벌레 [*D. (C.) jankowskii kojensis*], 제주멋쟁이딱정벌레 [*D. (C.) jankowskii quelpartianus*], 진도멋쟁이딱정벌레 [*D. (C.) jankowskii chindoensis*], 지리멋쟁이딱정벌레 [*D. (C.) jankowskii elegans*], 부산멋쟁이딱정벌레 [*D. (C.) jankowskii fusanus*] 등 6아종이며, 그 아종들 간의 분류체계가 모호하고 종내 변이가 심해서 통상 분류동정에서 이용되고 있는 생식기 구조로서도 구별

점을 찾기가 극히 곤란하다(Kwon and Park, 1989). 그 중 제주도에 서식하는 종은 제주멋쟁이딱정벌레 *D. (C.) jankowskii quelpartasis* 라는 아종으로 분류되어 왔다.

Kwon 과 Park(1989)은 이러한 아종간의 식별형질로 육안으로 관찰하기 어려운 미세형태적 차이를 찾고자 계량형태학적 연구를 수행하였고, 그 결과 각 아종간의 유의한 차이를 볼 수 있었는데, 특히, 제주멋쟁이딱정벌레의 경우 확연하게 구분되는 결과가 나왔다. 그러나, 위의 실험은 각 개체를 150개의 부분으로 분리하여 각각의 부위를 모두 측정 후 통계적인 방법으로 결과를 얻는 것으로 많은 시간과 노력을 필요로 하기 때문에 보다 새롭고 편리한 실험기법이 요구된다.

최근, 분자생물학적 기법들이 많이 보급되면서, 생물 분류군의 유전자 분석들이 많이 수행되고 있으며, 분석된 유전자의 염기서열을 바탕으로 특정 분류군에 대한 분자계통학적 연구들이 많이 수행되고 있다. Berlocher(1984)는 분자생물학적 기법을 이용하여 최초로 곤충 분류군에 대한 계통유전학적 분석을 수행하였으며, 이후 많은 연구를 통해 대상 분류군과 활용 유전자의 종류가 다양해졌다. 계통유전학적 분석의 도구로서 미토콘드리아 DNA가 주로 이용되고 있는데, 이는 핵 DNA 부위의 염기서열보다 보존적이며, 비교적 많이 손상된 표본 및 건조표본에 있어서도 다량의 DNA를 추출할 수 있다는 유전자 자체의 안전성(Avise, 1994)과 대부분의 유전자가 모계를 통해서만 유전되므로 재조합(recombination) 확률이 적게 나타난다는 등의 이점들이 있기 때문이다(Simon *et al.*, 1994). 또한 미토콘드리아 DNA는 환상의 이중나선 구조로 세포내에서 복제수가 많고, 크기가 작아 분리 및 분석이 용이하며, 핵 DNA 보다 5~10배나 빠른 진화속도를 나타내는 등, 집단유전학 연구의 표지인자로 사용가능한 많은 이점을 가지고 있다(Brown *et al.*, 1982). 세계적으로 딱정벌레간의 형태학적 변이와 계통분류는 주로 미토콘드리아의 *ND5* 유전자배열의 비교에 의해 추정되어 왔다(Su *et al.*, 2001).

Su 등(2004)은 32종 87개체의 딱정벌레의 *ND5* 유전자 염기서열을

비교분석하여 계통도를 만들었으며, Zhang 등(2005)은 남한에 분포하는 *Coptolabrus*속 인 홍단딱정벌레와 멧쟁이딱정벌레에 대하여 미토콘드리아 DNA의 cytochrome oxidase subunit I (COI) 과 nuclear phosphoenolpyruvate carboxykinase (PepCK) 및 wingless (Wg) 등 3가지 유전자를 비교분석하였다. Kwon과 Park(1989)은 한국산 멧쟁이딱정벌레의 계량형태학적 분석을 통해 현재까지 알려진 멧쟁이딱정벌레 아종에 관한 분석을 한 바 있다.

본 연구는 제주도 곶자왓지역에 분포하는 멧쟁이딱정벌레의 미토콘드리아 *ND5* 유전자의 염기서열을 분석하여 지역간 염기서열의 변이정도를 확인하였다. 또한, 한반도로부터 오랜 기간 동안 지리적으로 격리 되었던 제주도의 멧쟁이딱정벌레와 한반도 본토의 멧쟁이딱정벌레의 유전적 분화정도 및 계통유전학적 연관을 확인해 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험곤충

본 연구에 사용된 곤충은 국내에 서식하는 딱정벌레류 중에서 흉단딱정벌레와 함께 가장 큰 종으로 알려진 멧쟁이딱정벌레 [*Damaster (Coptolabrus) jankowskii*]이며, 제주도 곶자왓지역 3개소(구좌-성산 곶자왓, 송당; 조천-함덕 곶자왓, 교래; 애월 곶자왓, 소길)와 제주시에서 채집된 생체 31개체 및 한반도 본토의 건조표본 4개체를 사용하였다(Figure 1과 2). 또한, 실험에 사용된 곤충 이외에 NCBI에 등록되어있는 2개의 멧쟁이딱정벌레 *ND5* 유전자 염기서열 정보도 함께 비교하였다(Table 1).

2) 샘플채집

실험곤충의 채집은 지름 7cm, 높이 7.8cm의 플라스틱 함정 덫(pitfall trap)을 사용하였으며, 각 조사지마다 5m 간격으로 6개씩 설치하였다. 함정 덫 설치 후 유인제로는 닭의 내장과 흑설탕 혼합물 (흑설탕 600g, 증류수 4,000mL, 맥주 300mL, 사과식초 100mL)을 각각 3개씩 번갈아 넣어 사용하였다. 함정 덫은 지표면과 같은 높이로 묻고 그 위에 돌이나 나무 등을 이용하여 빗물이나 다른 동물들로부터 보호하였다(문과 이, 1999). 채집된 표본은 70% 에탄올로 세척 후 DNA를 추출하여 실험에 이용하였다. 실험에 사용된 표본은 국립제주대학교 자연과학대학 생명과학과 곤충표본실에 보관하였다.

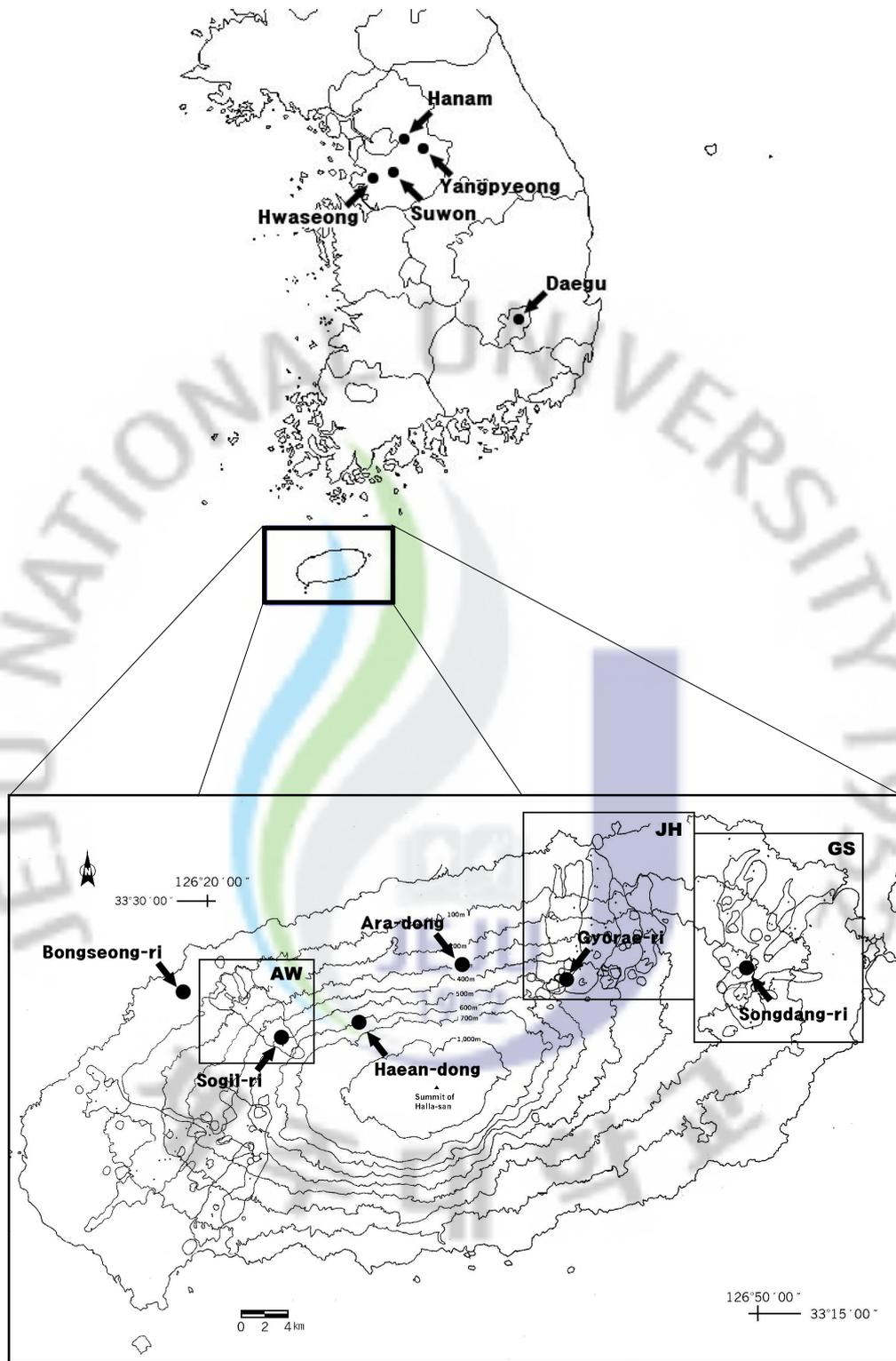


Figure 1. Collecting sites of the specimens, *Damaster (Coptolabrus) jankowskii*. AW: Aeweol, JH: Jocheon-Hamdeog and GS: Gujwa-Sungsan (Adapted from Song 2000).



Figure 2. Photographs of the specimens of *Damaster (Coptolabrus) jankowskii*.

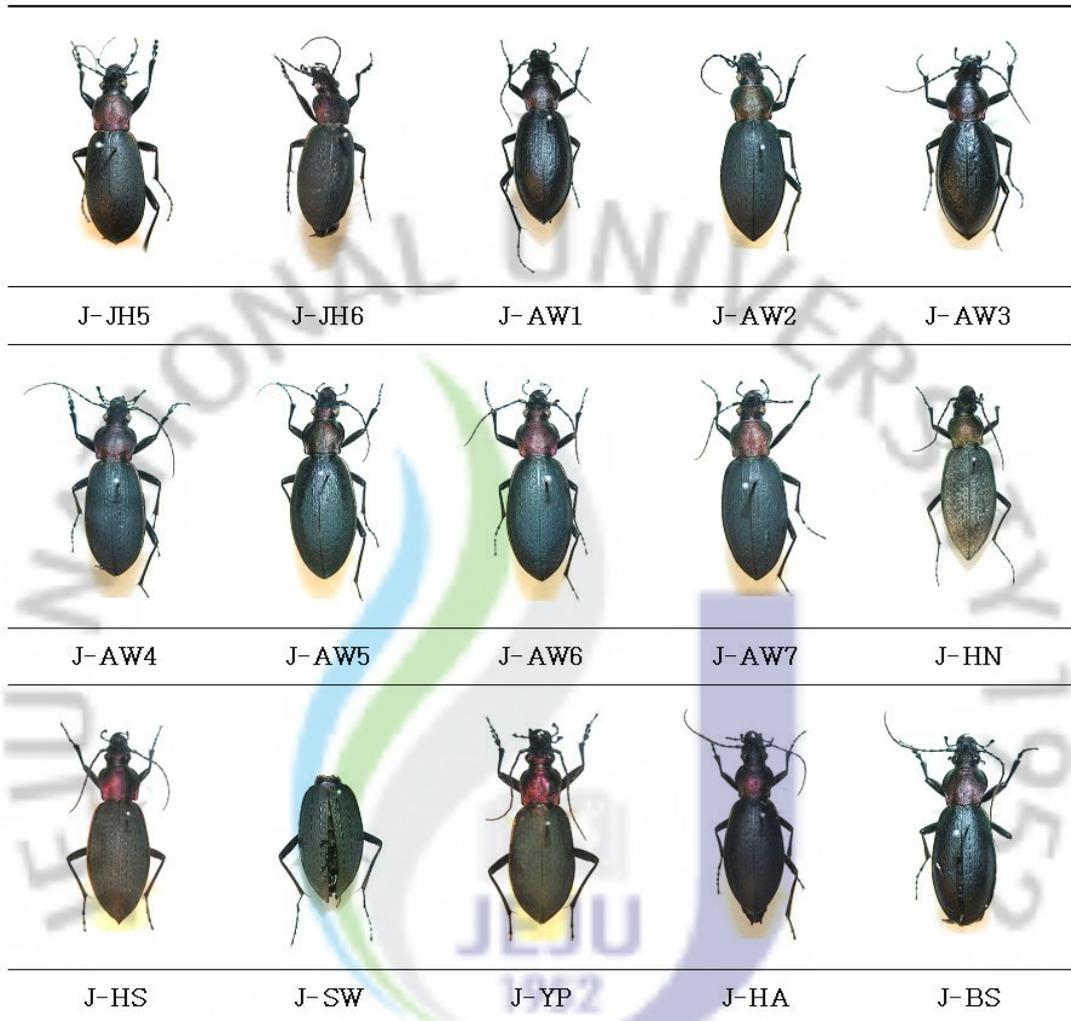


Figure 2. Continued.

Table 1. Information about the samples tested

Specimen voucher	Species	Collecting sites	Accession No.	Reference
1. J-ARA	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Ara-dong	EF035172	Jeon <i>et al.</i> , (2006)
2. J-AW1	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Sogil-ri	FJ470255	this study
3. J-AW2	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Sogil-ri	FJ470256	this study
4. J-AW3	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Sogil-ri	FJ470257	this study
5. J-AW4	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Sogil-ri	FJ470258	this study
6. J-AW5	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Sogil-ri	FJ470259	this study
7. J-AW6	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Sogil-ri	FJ470260	this study
8. J-AW7	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Sogil-ri	FJ470261	this study
9. J-BS	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Bongseong-ri	FJ470262	this study
10. J-GS1	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470263	this study
11. J-GS2	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470264	this study
12. J-GS3	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470265	this study
13. J-GS4	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470266	this study
14. J-GS5	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470267	this study
15. J-GS6	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470268	this study
16. J-GS7	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470269	this study
17. J-GS8	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470270	this study
18. J-GS9	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470271	this study
19. J-GS10	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470272	this study
20. J-GS11	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470273	this study
21. J-GS12	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470274	this study
22. J-GS13	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470275	this study
23. J-GS14	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470276	this study
24. J-GS15	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470277	this study
25. J-GS16	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Songdang-ri	FJ470278	this study
26. J-HA	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Haean-dong	FJ470279	this study
27. J-JH1	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Gyoraе-ri	FJ470280	this study
28. J-JH2	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Gyoraе-ri	FJ470281	this study
29. J-JH3	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Gyoraе-ri	FJ470282	this study
30. J-JH4	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Gyoraе-ri	FJ470283	this study
31. J-JH5	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Gyoraе-ri	FJ470284	this study
32. J-JH6	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Gyoraе-ri	FJ470285	this study
33. J-DG	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Daegu	AB101196	Kim <i>et al.</i> , (2003)
34. J-HN	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Hanam	FJ470286	this study
35. J-HS	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Hwaseong	FJ470287	this study
36. J-SW	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Suwon	FJ470288	this study
37. J-YP	<i>D. (C.) jankowskii</i>	Yangpyeong	FJ470289	this study
38. Outgroup	<i>Hemicarabus tuberculatus</i>	Ara-dong	EF035173	Jeon <i>et al.</i> , (2006)

2. DNA 분리 및 ND5 유전자 증폭

채집한 딱정벌레로부터 다리근육을 떼어내 NucleoSpin Tissue(Macherey-Nagel, Germany)를 이용, 제조사에 의해 주어진 실험방법에 따라서 genomic DNA를 추출하였다. 추출된 genomic DNA는 QIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN, Germany)를 사용하여 정제하였으며, 정제된 DNA는 PCR 증폭을 위한 주형으로 사용하였다.

미토콘드리아 ND5 유전자 증폭을 위한 시발체(primer)는 기존에 보고된 문헌(Su *et al.*, 2001)을 바탕으로 제작하였으며, 이들의 염기서열은 Table 2와 같다.

Table 2. The nucleotide sequences of the primers used for PCR of the ND5 gene

Primer	Sequences(5' to 3')	Reference
Carabi-ND5-F	CCTGTTTCTGCTTTAGTTCA	Su <i>et al.</i> , (2001)
Carabi-ND5-R	GTCATACTCTAAATATAAGCTA	Su <i>et al.</i> , (2001)

미토콘드리아 ND5 유전자를 증폭하기 위한 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)은 *i-Taq* DNA 중합효소(iNtRON, Korea) 2.5 unit, dNTPs 200 μ M, 10 \times PCR buffer (100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 20 mM MgCl₂) 2.5 μ l, PCR primer 20 pmol, 주형 DNA 2 μ l에 3차 증류수를 첨가하여 전체 25 μ l 반응액으로 수행하였다. 반응 과정에서의 오염을 확인하기 위해 DNA를 첨가하지 않은 반응액을 대조구로 이용하였다. PCR 반응은 GeneAmp PCR System 9600 Thermal Cycler (Perkin-Elmer, USA)를 사용하였으며, 반응조건은 94 $^{\circ}$ C에서 2분간 변성시킨 후 94 $^{\circ}$ C에서 15초, 57 $^{\circ}$ C에서 15초, 72 $^{\circ}$ C에서 45초를 1회전으로 하여 30회 반복하였다. 그 후 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 신장시켰다. PCR 산물은 1% 아가로오스 겔 상에서 전기영동하고 ethidium bromide (EtBr)로 염색한 후 자외선 조사기에서 확인하였다. 원하는 크기의 절편만을 회수하기 위해 녹는점이 낮은 아가로오스 (low-melting point agarose)겔 상에서 전기영동한 후 QIAquick Gel Extraction Kit

(QIAGEN, Germany)를 사용하여 정제하였다.

3. 유전자 cloning 및 염기서열분석

정제한 PCR 산물은 TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen, USA)를 사용하여 vector에 삽입시킨 후 *Top 10F'* competent cell 내부로 형질전환 시켰다. PCR 산물의 연결은 PCR 산물 0.5 μ l (50 ng), TOPO vector 0.4 μ l, salt solution (1.2 M NaCl, 0.06 M MgCl₂) 0.4 μ l에 멸균수를 첨가하여 총 반응액이 2 μ l가 되게 한 후 상온에서 15분 동안 반응시켰다. 형질전환 및 클로닝 과정은 제조사의 방법에 따라 수행하였다. 플라스미드의 추출 및 정제는 Wizard Plus SV Minipreps DNA purification System (Promega, USA)을 이용하였다. 염기서열의 분석은 ALFexpress DNA sequencer (Pharmacia, USA) 상에서 Cy5TM AutoCycleTM Sequencing Kit (Pharmacia, USA)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 수행하였다.

4. 미토콘드리아 ND5 유전자의 염기서열 결정

미토콘드리아 ND5 유전자의 염기서열은 NCBI의 GenBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)에 등록되어 있는 딱정벌레류의 염기서열과 비교하여 결정하였으며, 결정된 염기서열은 기존에 보고된 다양한 종들과 비교/분석하였다. 여기서 유사성이 높은 염기서열을 검색하기 위해 GenBank에서 운영하는 web search program인 BLAST를 이용하여 database에 보고된 염기서열(Table 1)과의 유사성을 비교하고 유사성이 높은 염기서열들을 채택하여 계통분석에 이용하였다. 본 연구에서 얻어진 염기서열은 SEQUIN program을 이용하여 각각의 유전자를 GenBank database에 등록하였다. 등록된 유전자 일련번호(assession No.)는 Table 1에 제시하였다.

5. 계통유전학적 유연관계 분석

결정된 염기서열 정렬은 CLUSTAL W program (Thompson *et al.*, 1994)을 이용하여 수행하였으며, 염기서열간 유사도에 따른 유전적 분화율(genetic distance index)은 MEGA software (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, 4.0)를 이용하였다. 계통수는 산출된 유전적 거리지수를 토대로 하여 MEGA software의 neighbor-joining(NJ) method 및 Maximum parsimony(MP) method를 이용하여 작성하였으며, tree-puzzle 5.2 프로그램을 이용하여 Maximum likelihood(ML) tree를 작성하였다. 계통수의 분지에 대한 신뢰도를 얻기 위해 1000회 반복 하였다.



III. 결 과

실험재료의 채집은 2008년 5월에서 9월까지 5개월 동안 Pitfall trap을 사용해 실시했으며 그 결과 구좌성산 꽃자왈에서 16개체, 조천-함덕 꽃자왈에서 6개체, 애월 꽃자왈에서 7개체의 멧쟁이딱정벌레를 채집했으며, 비교분석을 위한 샘플은 같은 기간 동안 제주도 꽃자왈 지역 이외의 지역인 해안동, 봉성리에서 채집된 개체 및 한반도 본토의 4개 시군에서 채집된 건조표본 4개체를 이용하였다. 준비된 샘플은 DNA를 분리 후 PCR 반응을 통해 원하는 유전자 부위를 증폭시켰으며, 총 35개체의 ND5 유전자 염기서열을 얻었으며 NCBI에 등록된 2개 지역 유전자도 함께 비교하였다.

본 실험에 사용된 멧쟁이딱정벌레 [*D. (C.) jankowskii*]의 ND5 유전자 길이는 각각 1,066 bp 로 나타났으며, 그 결과들은 GenBank database에 등록하였다(Table 1). 각각 분석된 ND5 유전자는 각 지역별 비교에서 전체 93 sites에서 염기변이가 나타났으며, 실험대상 지역중 구좌-성산 꽃자왈지역에서 채집한 11개체와 한반도 본토의 5개체는 나머지 지역의 멧쟁이딱정벌레와 구분되는 28 sites의 공통된 염기서열(*표시)이 관찰되었다(Fig. 3).

또한, 본 연구에서 분석된 미토콘드리아 DNA의 ND5 유전자 염기서열을 아미노산 서열로 치환하여 비교하였을 때 34 sites의 아미노산 변이가 나타났으며, 이때 구좌-성산 꽃자왈 및 한반도 본토의 개체에서 나머지 지역과 구분되는 3 sites의 아미노산(*표시)이 공통되게 나타났다(Fig. 7).

실험에 사용된 멧쟁이딱정벌레의 지역적 변이를 분석하기 위하여 애월꽃자왈, 조천-함덕꽃자왈, 구좌-성산꽃자왈과 한반도 본토의 대구, 양평, 수원, 화성, 하남등에서 채집된 개체 및 제주도 꽃자왈 이외지역 3개소에서 채집한 개체 등 총 37 개체의 멧쟁이딱정벌레 염기서열을 비교분석한 결과, ingroup에서 ND5 유전자의 유전적 분화율은 0.00~3.12%으로 나타났는데 J-AW4와 J-AW5, J-GS1과 J-GS7, J-GS4와 J-GS8, J-GS1과 J-GS12, J-GS4와 J-GS13, J-GS4와 J-GS14, J-AW7과 J-JH6, J-GS7과 J-GS12, J-GS8과 J-GS13, J-GS8과 J-GS14, J-GS13과

J-GS14, J-JH3과 J-JH5 등 총 12쌍의 비교에서 0.00%로 가장 낮게 나타났고, J-GS10과 J-HS 에서 3.12%로 가장 높게 나타났다. ingroup과 outgroup(*Hemicarabus tuberculatus*)에서는 7.33~8.44%인 것으로 나타났는데 J-GS1, J-GS7, J-GS12에서 7.33%로 가장 낮게 나타났고, J-GS10에서 8.44%로 가장 높게 나타났다(Table 3).

이를 바탕으로 neighbor-joining tree(Fig. 4), most parsimonious tree(Fig. 5) 그리고 maximum likelihood tree(Fig. 6)등 지역별 멧쟁이딱정벌레의 계통수를 3개 작성하였다.

실험을 통해 작성된 neighbor-joining tree(Fig. 4)에서 보면 제주 꽃자왈 지역 중 구좌-성산 꽃자왈 지역에서 채집된 11개체와 한반도 본토의 대구, 양평, 수원, 화성, 하남에서 채집된 개체가 가깝게 묶였으며(Group B), 나머지 꽃자왈 지역 및 제주시 아라동, 해안동 봉성 등에서 채집된 개체들이 가깝게 묶였다(Group A). 분석에 사용된 3가지의 계통수가 유사한 양상을 보였으며, 특히 3가지 서로 다른 방법으로 얻어진 계통수 분석 결과 모두에서 구좌-성산 꽃자왈 지역의 멧쟁이딱정벌레 대다수가 한반도 본토의 멧쟁이딱정벌레와 더 가까운 유연관계를 보였는데, 이는 매우 흥미있는 결과이다(Fig. 4, 5 and 6).

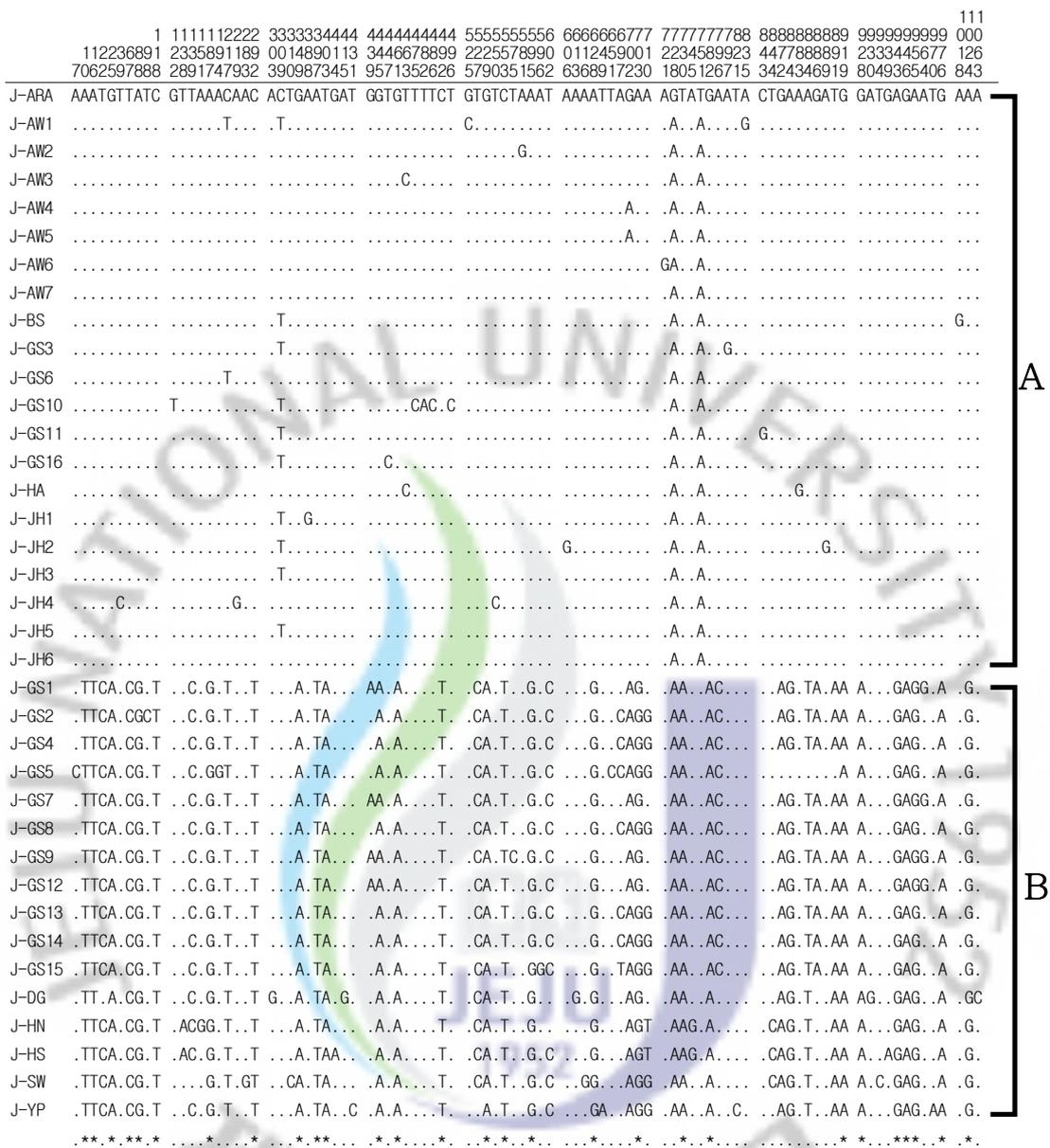


Figure 3. Sequence variation in the 37 *ND5* genes of *D. (C.) jankowskii* used in this study. The nucleotide numbering corresponds to the sequence position given by sequence alignment using CLUSTAL W program. The dots indicate identical nucleotide with that of the J-ARA.

Table 3. Sequence divergences in the *ND5* genes of *D. (C.) jankowskii*

Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. J-ARA	-													
2. J-AW1	0.0034	-												
3. J-AW2	0.0017	0.0028	-											
4. J-AW3	0.0017	0.0028	0.0011	-										
5. J-AW4	0.0017	0.0028	0.0011	0.0011	-									
6. J-AW5	0.0017	0.0028	0.0011	0.0011	0.0000	-								
7. J-AW6	0.0017	0.0028	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011	-							
8. J-AW7	0.0011	0.0023	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	-						
9. J-BS	0.0023	0.0023	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0011	-					
10. J-GS1	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0259	0.0272	-				
11. J-GS2	0.0266	0.0279	0.0272	0.0272	0.0260	0.0260	0.0272	0.0266	0.0279	0.0028	-			
12. J-GS3	0.0023	0.0023	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0011	0.0011	0.0272	0.0279	-		
13. J-GS4	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0260	0.0272	0.0023	0.0006	0.0272	-	
14. J-GS5	0.0246	0.0260	0.0253	0.0253	0.0240	0.0240	0.0253	0.0247	0.0259	0.0069	0.0052	0.0259	0.0046	-
15. J-GS6	0.0017	0.0017	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011	0.0006	0.0017	0.0253	0.0260	0.0017	0.0253	0.0240
16. J-GS7	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0259	0.0272	0.0000	0.0028	0.0272	0.0023	0.0069
17. J-GS8	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0260	0.0272	0.0023	0.0006	0.0272	0.0000	0.0046
18. J-GS9	0.0266	0.0279	0.0272	0.0272	0.0259	0.0259	0.0272	0.0266	0.0278	0.0006	0.0034	0.0278	0.0028	0.0075
19. J-GS10	0.0046	0.0046	0.0040	0.0040	0.0040	0.0040	0.0040	0.0034	0.0034	0.0299	0.0305	0.0034	0.0299	0.0285
20. J-GS11	0.0023	0.0023	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0011	0.0011	0.0272	0.0279	0.0011	0.0273	0.0260
21. J-GS12	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0259	0.0272	0.0000	0.0028	0.0272	0.0023	0.0069
22. J-GS13	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0260	0.0272	0.0023	0.0006	0.0272	0.0000	0.0046
23. J-GS14	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0260	0.0272	0.0023	0.0006	0.0272	0.0000	0.0046
24. J-GS15	0.0266	0.0279	0.0273	0.0272	0.0260	0.0260	0.0273	0.0266	0.0279	0.0028	0.0017	0.0279	0.0011	0.0057
25. J-GS16	0.0023	0.0023	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0011	0.0011	0.0272	0.0279	0.0011	0.0272	0.0259
26. J-HA	0.0023	0.0034	0.0017	0.0006	0.0017	0.0017	0.0017	0.0011	0.0023	0.0272	0.0279	0.0023	0.0272	0.0259
27. J-JH1	0.0023	0.0023	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017	0.0011	0.0011	0.0272	0.0279	0.0011	0.0272	0.0259
28. J-JH2	0.0028	0.0028	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0017	0.0017	0.0279	0.0285	0.0017	0.0279	0.0266
29. J-JH3	0.0017	0.0017	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011	0.0006	0.0006	0.0266	0.0272	0.0006	0.0266	0.0253
30. J-JH4	0.0028	0.0040	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0023	0.0017	0.0028	0.0278	0.0285	0.0028	0.0279	0.0266
31. J-JH5	0.0017	0.0017	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011	0.0006	0.0006	0.0266	0.0272	0.0006	0.0266	0.0253
32. J-JH6	0.0011	0.0023	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	0.0000	0.0011	0.0259	0.0266	0.0011	0.0260	0.0247
33. J-DG	0.0253	0.0266	0.0260	0.0259	0.0247	0.0247	0.0260	0.0253	0.0266	0.0063	0.0069	0.0266	0.0063	0.0099
34. J-HN	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0260	0.0272	0.0057	0.0058	0.0272	0.0052	0.0087
35. J-HS	0.0272	0.0286	0.0279	0.0279	0.0266	0.0266	0.0279	0.0272	0.0285	0.0057	0.0058	0.0285	0.0052	0.0087
36. J-SW	0.0265	0.0278	0.0272	0.0272	0.0259	0.0259	0.0272	0.0265	0.0278	0.0063	0.0057	0.0278	0.0052	0.0087
37. J-YP	0.0259	0.0273	0.0266	0.0266	0.0253	0.0253	0.0266	0.0260	0.0272	0.0057	0.0052	0.0272	0.0046	0.0081
38. Outgroup	0.0787	0.0808	0.0798	0.0797	0.0780	0.0780	0.0798	0.0789	0.0806	0.0733	0.0777	0.0806	0.0769	0.0816

Table 3. Continued

Taxon	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1. J-ARA														
2. J-AW1														
3. J-AW2														
4. J-AW3														
5. J-AW4														
6. J-AW5														
7. J-AW6														
8. J-AW7														
9. J-BS														
10. J-GS1														
11. J-GS2														
12. J-GS3														
13. J-GS4														
14. J-GS5														
15. J-GS6	-													
16. J-GS7	0.0253	-												
17. J-GS8	0.0253	0.0023	-											
18. J-GS9	0.0259	0.0006	0.0028	-										
19. J-GS10	0.0040	0.0299	0.0299	0.0305	-									
20. J-GS11	0.0017	0.0272	0.0273	0.0279	0.0034	-								
21. J-GS12	0.0253	0.0000	0.0023	0.0006	0.0299	0.0272	-							
22. J-GS13	0.0253	0.0023	0.0000	0.0028	0.0299	0.0273	0.0023	-						
23. J-GS14	0.0253	0.0023	0.0000	0.0028	0.0299	0.0273	0.0023	0.0000	-					
24. J-GS15	0.0260	0.0028	0.0011	0.0034	0.0305	0.0279	0.0028	0.0011	0.0011	-				
25. J-GS16	0.0017	0.0272	0.0272	0.0278	0.0034	0.0011	0.0272	0.0272	0.0272	0.0279	-			
26. J-HA	0.0017	0.0272	0.0272	0.0278	0.0046	0.0023	0.0272	0.0272	0.0272	0.0279	0.0023	-		
27. J-JH1	0.0017	0.0272	0.0272	0.0278	0.0034	0.0011	0.0272	0.0272	0.0272	0.0279	0.0011	0.0023	-	
28. J-JH2	0.0023	0.0279	0.0279	0.0285	0.0040	0.0017	0.0279	0.0279	0.0279	0.0285	0.0017	0.0028	0.0017	-
29. J-JH3	0.0011	0.0266	0.0266	0.0272	0.0029	0.0006	0.0266	0.0266	0.0266	0.0272	0.0006	0.0017	0.0006	0.0011
30. J-JH4	0.0023	0.0278	0.0279	0.0285	0.0052	0.0028	0.0278	0.0279	0.0279	0.0285	0.0028	0.0028	0.0028	0.0034
31. J-JH5	0.0011	0.0266	0.0266	0.0272	0.0029	0.0006	0.0266	0.0266	0.0266	0.0272	0.0006	0.0017	0.0006	0.0011
32. J-JH6	0.0006	0.0259	0.0260	0.0266	0.0034	0.0011	0.0259	0.0260	0.0260	0.0266	0.0011	0.0011	0.0011	0.0017
33. J-DG	0.0247	0.0063	0.0063	0.0069	0.0292	0.0266	0.0063	0.0063	0.0063	0.0069	0.0266	0.0266	0.0266	0.0272
34. J-HN	0.0253	0.0057	0.0052	0.0063	0.0299	0.0273	0.0057	0.0052	0.0052	0.0058	0.0272	0.0272	0.0272	0.0279
35. J-HS	0.0266	0.0057	0.0052	0.0063	0.0312	0.0286	0.0057	0.0052	0.0052	0.0058	0.0285	0.0285	0.0285	0.0292
36. J-SW	0.0259	0.0063	0.0052	0.0069	0.0304	0.0278	0.0063	0.0052	0.0052	0.0057	0.0278	0.0278	0.0278	0.0284
37. J-YP	0.0253	0.0057	0.0046	0.0063	0.0299	0.0273	0.0057	0.0046	0.0046	0.0052	0.0272	0.0272	0.0272	0.0279
38. Outgroup	0.0781	0.0733	0.0769	0.0741	0.0844	0.0808	0.0733	0.0769	0.0769	0.0777	0.0806	0.0789	0.0797	0.0806

Table 3. Continued

Taxon	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
1. J-ARA										
2. J-AW1										
3. J-AW2										
4. J-AW3										
5. J-AW4										
6. J-AW5										
7. J-AW6										
8. J-AW7										
9. J-BS										
10. J-GS1										
11. J-GS2										
12. J-GS3										
13. J-GS4										
14. J-GS5										
15. J-GS6										
16. J-GS7										
17. J-GS8										
18. J-GS9										
19. J-GS10										
20. J-GS11										
21. J-GS12										
22. J-GS13										
23. J-GS14										
24. J-GS15										
25. J-GS16										
26. J-HA										
27. J-JH1										
28. J-JH2										
29. J-JH3	-									
30. J-JH4	0.0023	-								
31. J-JH5	0.0000	0.0023	-							
32. J-JH6	0.0006	0.0017	0.0006	-						
33. J-DG	0.0259	0.0272	0.0259	0.0253	-					
34. J-HN	0.0266	0.0279	0.0266	0.0260	0.0063	-				
35. J-HS	0.0279	0.0292	0.0279	0.0272	0.0075	0.0023	-			
36. J-SW	0.0272	0.0284	0.0272	0.0265	0.0081	0.0057	0.0057	-		
37. J-YP	0.0266	0.0279	0.0266	0.0260	0.0075	0.0063	0.0063	0.0063	-	
38. Outgroup	0.0797	0.0815	0.0797	0.0789	0.0776	0.0786	0.0803	0.0757	0.0765	-

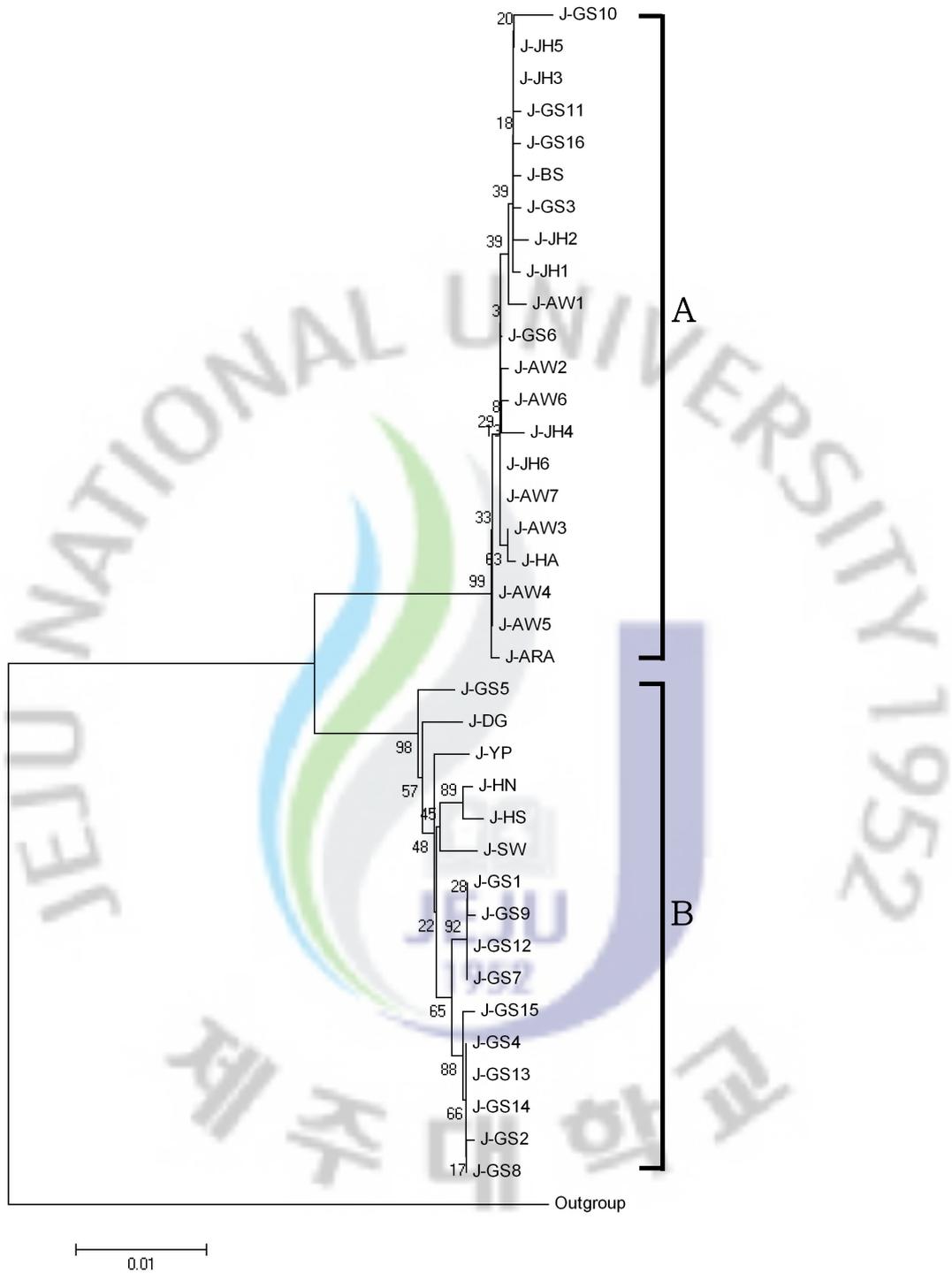


Figure 4. Neighbor-joining tree of the mitochondrial *ND5* gene sequences of *D. (C.) jankowskii*. The specimen codes correspond to those showed in Table 1.

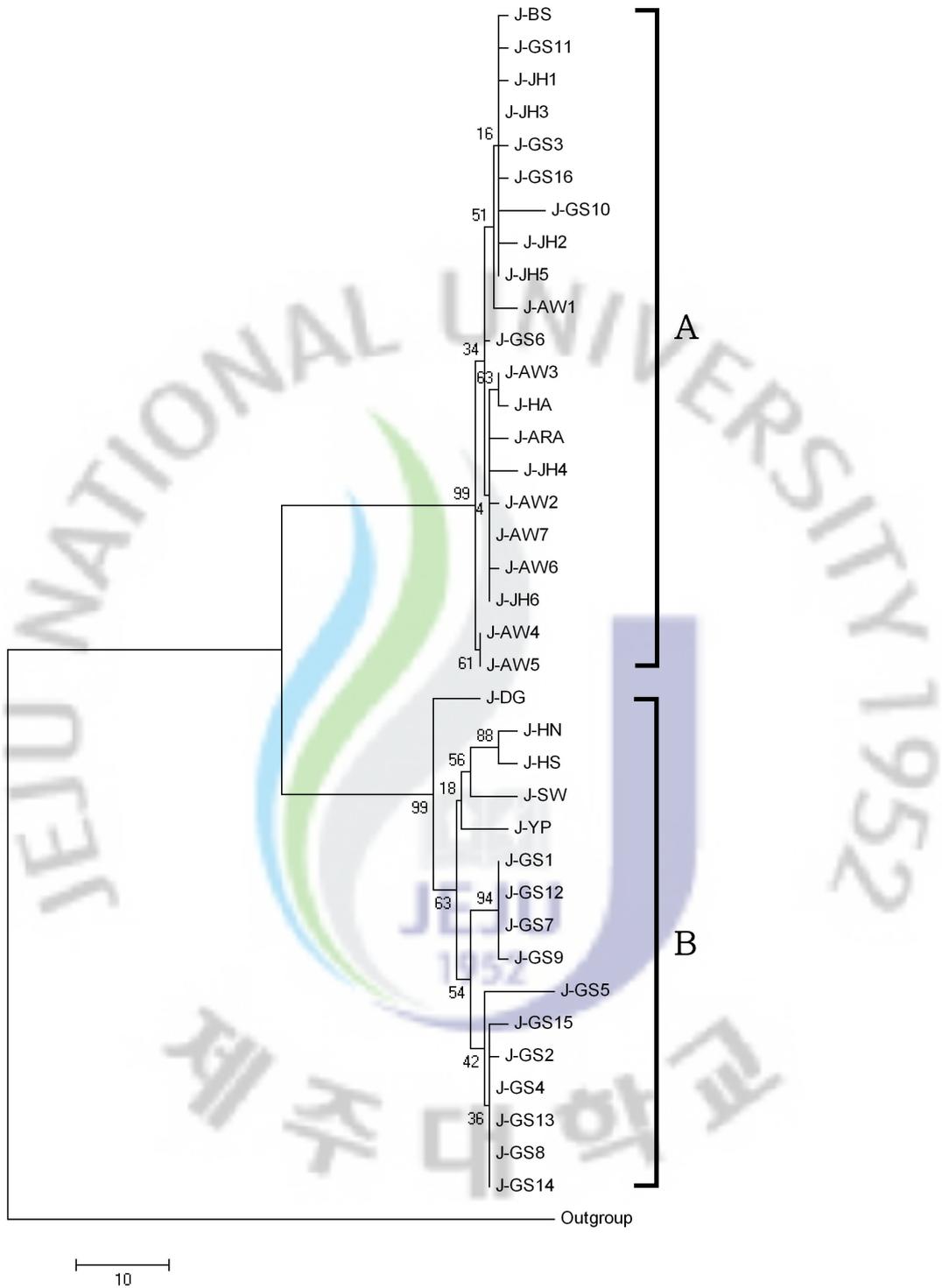


Figure 5. Maximum parsimony tree of the mitochondrial *ND5* gene sequences. The specimen codes correspond to those in Table. 1. and Fig. 1.

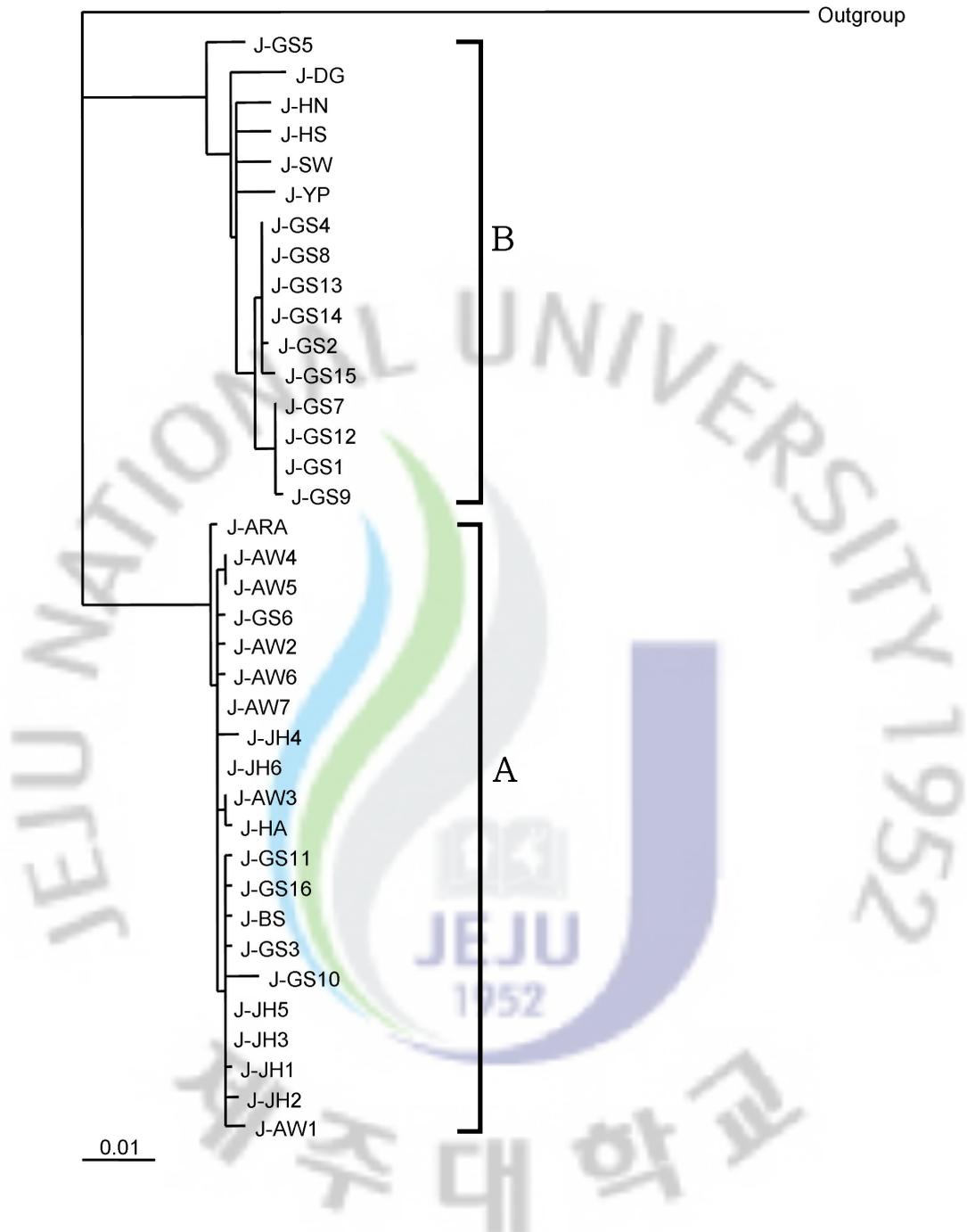


Figure 6. Maximum likelihood tree of the mitochondrial *ND5* gene sequences. The specimen codes correspond to those in Table 1 and Fig. 1.

	11111	1111111222	2222222222	3333
	1446700345	6667999013	3466678999	1125
	3165313894	1245249274	7315641157	0334
J-ARA	IGFSKKTGVV	LFTRSNIKMG	MGVLKFPVMF	YGNL
J-AW1I...	...P.....	.S.....
J-AW2D....	.S.....
J-AW3S.....
J-AW4E	.S.....
J-AW5E	.S.....
J-AW6S.....
J-AW7S.....
J-BSI...S.....
J-GS3I...S.E....
J-GS6S.....
J-GS10	.C.....I...	MS.....	.S.....
J-GS11I...S...R...
J-GS16I.A.S.....
J-HAS.....
J-JH1I...S.....
J-JH2I...S	.S.....
J-JH3I...S.....
J-JH4	T...S.....S.....
J-JH5I...S.....
J-JH6S.....
J-GS1I	..I.....E	.SIF...MLY
J-GS2I	..I.....E	VSIF...MLY
J-GS4I	..I.....E	VSIF...MLY
J-GS5	...G.....I	..I.....TE	VSIF.....
J-GS7I	..I.....E	.SIF...MLY
J-GS8I	..I.....E	VSIF...MLY
J-GS9I	..I.P.....E	.SIF...MLY
J-GS12I	..I.....E	.SIF...MLY
J-GS13I	..I.....E	VSIF...MLY
J-GS14I	..I.....E	VSIF...MLY
J-GS15I	..I...V..E	VSIF...MLY
J-DGS...I	..I.....E	.SI...MLY	C..F
J-HN	..Y.....I	..I.....E	LSI...MLY
J-HS	..Y...E..I	..I.....E	LSI...MLY	.D..
J-SWI	..I.....E	VSI...MLY
J-YPI	..I.....E	VSI...L.MLY	..K.
*	..*.....	..*.....

A

B

Figure 7. The variation of the amino acid sequences deduced by the *ND5* gene sequences.

IV. 고찰

본 연구는 분자생물학적 기법을 활용하여 제주도지역 꽃자왈 3개 지역에서 채집한 멧쟁이딱정벌레들 간에 미토콘드리아 *ND5* 유전자 염기서열을 비교함으로써 지역 간 염기서열의 변이정도를 확인하고자 수행한 실험으로, 실험 결과 구좌-성산 꽃자왈 지역에서 채집된 대부분의 개체가 다른 두 꽃자왈 지역의 개체들과는 다소 차이가 나는 염기서열을 가지고 있는 것이 확인되었다. 또한, 한반도 본토 5개 시군에서 채집된 멧쟁이딱정벌레의 미토콘드리아 *ND5* 유전자 염기서열을 제주도 멧쟁이딱정벌레와 비교한 결과, 한반도의 개체들은 특이하게도 구좌-성산 꽃자왈 지역의 개체들과 가장 유사하였다.

이러한 결과로 기존에 제주도에 서식하고 있는 대부분의 멧쟁이딱정벌레와 구좌-성산 꽃자왈 지역에 서식하고 있는 멧쟁이딱정벌레가 서로 다른 기원을 가지고 있다고 추측할 수 있다. 그리고 유독 구좌-성산 꽃자왈 지역에서만 염기서열의 차이를 나타낸 개체들이 채집되었는데, 이것은 세 가지의 시나리오를 생각해 볼 수 있다.

첫째, 한반도와 제주도는 서로 격리된 지역으로서 오래전 기원이 다른 멧쟁이 딱정벌레가 각각 유입되었고, 그 이후로도 지리적 격리에 의해 서로 섞이지 않고 별개의 집단으로 정착해 서로 다른 유전자 염기서열을 보존하고 있던 중 한반도의 개체가 제주도로 유입된 것이라는 가설이다. 그리고 이때 구좌-성산 꽃자왈 지역으로 유입된 개체들은 유입되어 정착한지 얼마 안 된 개체들로 볼 수 있다. 그 이유는 이동성이 제한된 딱정벌레라고 하더라도 오랜 시간 한 지역에 정착하게 되면 점차 그 서식지를 개척해 나가면서 보다 광범위하게 서식하게 되었을 것이나, 본 연구에서는 구좌-성산 꽃자왈 지역에서만 한정적으로 채집 되었다는 점이다.

둘째, Su 등(2001)은 지리적 격리는 오랜 세월이 흐르는 동안 두 지역 간에 유전적 차이를 나타나게 한다고 하였는데, 제주도의 경우 오래전 빙하기 때에는 한

반도와 하나의 육지로 연결되어 있었고 그로 인해 동일한 기원을 가진 하나의 멧쟁이딱정벌레 집단이었던 것이 해빙기 이후 제주도가 섬으로 분리되면서 오랜 시간 지리적 격리에 의해 서로 다른 유전적 변이를 나타내게 되었으며, 최근 인간의 왕래가 빈번해 지면서 한반도 본토의 개체가 제주도로 유입되었다는 가설이다.

셋째, 오래전 빙하기 때에 한반도와 제주도가 하나의 육지로 연결되어 있었고 그로 인해 동일한 기원을 가진 하나의 멧쟁이딱정벌레 집단이었던 것이 해빙기에 제주도가 섬으로 분리되면서 두 개의 지역으로 격리가 되었으며, 이후 중국, 대만, 일본 등 다른 지역의 개체가 제주도의 서쪽지역으로 일부 유입이 되었고 유입된 개체가 점차 서식지를 개척해 나가는 과정에서 기존에 서식하던 집단과 종내경쟁을 하면서, 점차 기존의 집단이 동쪽의 구좌-성산 곳자왈 지역으로 밀려나 도태되어 가는 과정이라는 시나리오다.

그러나, 이러한 가설들은 본 연구의 결과만으로는 확실한 결론을 얻을 수 없었으며, 보다 신빙성 있는 결론을 얻기 위해서는 한반도 및 제주도를 중심으로 한 아시아 구북구 전 지역의 멧쟁이딱정벌레를 대상으로 추가적 실험이 이루어져야 할 것으로 생각되며, 추후 이러한 실험이 진행된다면 제주도 멧쟁이딱정벌레의 기원에 관한 보다 신뢰성 있는 좋은 결과가 나올 것으로 사료된다.

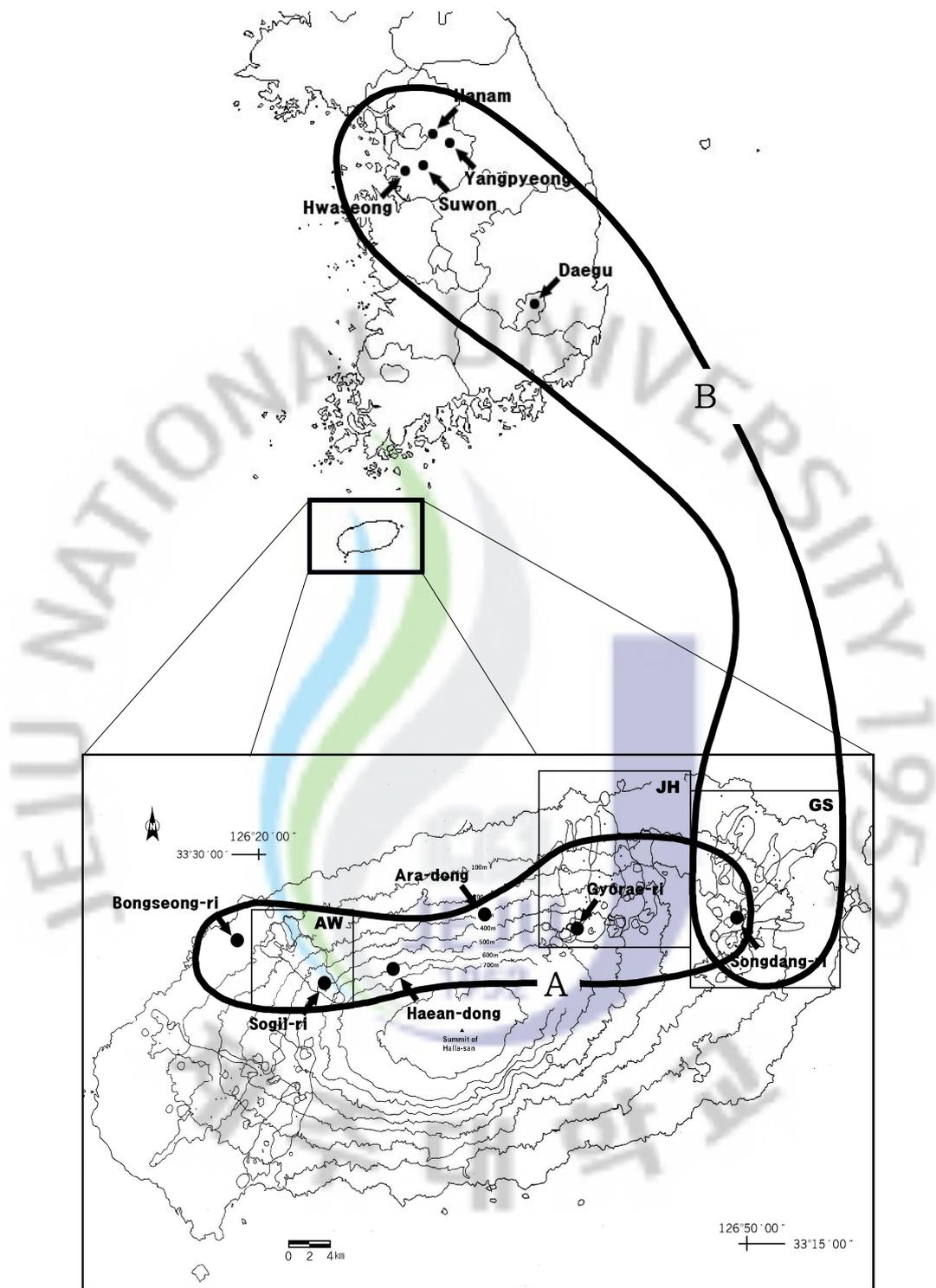


Figure 8. Distributional localities of the group A and B, which were classified based on the bootstrap tree of phylogeny of MEGA 4 (see Fig. 4-6).

V. 참고 문헌

- 김진일. 2000. 개정 일반곤충학. 한국곤충학회. 372pp.
- 송시대. 2000. 제주도 암괘상 아아용암류의 분포 및 암질에 관한 연구. 부산대학교 대학원 박사학위논문. 118pp.
- 이승일, 정종국, 최재석, 권오길. 2005. 연엽산 일대 딱정벌레목의 군집구조 및 계절적 변동에 관한 연구. 환경생물학회지. 23(1): 71-88
- 정세호. 2000. 원색제주도의 곤충. 제주도민속자연사박물관. 193pp.
- Avise, J.C. (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. New York: Chapman & Hall. 511pp.
- Berlocher, S.H. (1984). Insect molecular systematics. *Annu. Rev. Entomol.* 29: 403-433.
- Brown, W.M., E.M. Prager, A. Wang and A.C. Wilson (1982). Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution. *J. Mol. Evol.*, 80-94.
- Kwon, Y.J. and J.K. Park (1989). Morphometric analyses of *Damaster* (C.) *jankowskii* from Korea (Coleoptera: Carabidae). *Agric. Res. Bull., Kyungpook Natl. Univ.*, 7: 127-151.
- Kwon, Y.J. and S.M. Lee (1984). *Classification of the Subfamily Carabinae from Korea (Coleoptera: Carabidae)*. Insect Koreana, Series 4, 3-11pp.

- Su, Z.H., Y. Imura, and S. Osawa (2001). Evolutionary discontinuity of the carabine ground Beetles. *J. Mol. Evol.*, 53: 517-529.
- Su, Z.H., Y. Imura, M. Okamoto, C.G. Kim, H.Z. Zhou, J.C. Paik, and S. Osawa (2004). Phylogeny and evolution of *Digitulati* ground beetles (Coleoptera, Carabidae) inferred from mitochondrial *ND5* gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 30: 152-166.
- Tamura K, J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar (2007). Mega4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins, and T.J. Gibson (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids. Res.* 22: 4673-4680.
- Zhang, A.B., K. Kubota, Y. Takami, J.L. Kim, J.K. Kim, and T. Sota (2005). Species status and phylogeography of two closely related *Coptolabrus* species (Coleoptera: Carabidae) in South Korea inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Mol. Ecol.*, 14: 3823-3841.

VI. 요약

본 연구는 제주도 꽃자왈 지역에서 채집된 멧쟁이딱정벌레 [*Damaster (Coptolabrus) jankowskii*]를 대상으로 미토콘드리아 NADH dehydrogenase subunits 5(*ND5*) 유전자의 염기서열을 비교 분석하였으며, 이를 바탕으로 지역 간의 유전적 차이를 알아보았다. 분석한 *ND5* 유전자의 길이는 1,066 base pairs (bp)로 나타났으며 계통학적 분석을 수행하기 위한 *ND5* 유전자의 유전적 분화율은 ingroup에서 0.00~3.12%이었고, ingroup과 outgroup (*Hemicarabus tuberculatus*)에서는 7.33~8.44%인 것으로 나타났다. *ND5* 유전자 염기서열의 Neighbor joining (NJ), Maximum parsimony (MP), Maximum likelihood (ML) 분석을 기초로 작성된 각각의 계통수에서 구좌-성산 꽃자왈 지역의 개체는 제주도의 타 지역 개체보다 한반도 본토의 개체와 더 유사한 것으로 나타났는데, 이러한 결과로 세 가지 시나리오를 생각해 볼 수 있다.

첫째, 제주도와 한반도는 서로 섬과 육지로 격리된 지역으로서 기원이 다른 멧쟁이딱정벌레가 각각 유입되었고, 그 이후로도 지리적 격리에 의해 별개의 집단으로 정착해오던 중 한반도의 개체가 제주도로 유입된 것이라는 가설이다. 이때 유입된 개체들은 구좌-성산 꽃자왈 지역에서만 한정적으로 채집 되었다는 점을 볼때 정착한지 얼마 안 된 개체들로 볼 수 있다.

둘째, 제주도는 오래전 빙하기에 한반도와 하나의 육지로 연결되어 있었고 하나의 멧쟁이딱정벌레 집단이었던 것이 해빙기 이후 제주도가 섬으로 분리되면서 오랜 시간 지리적 격리에 의해 서로 다른 유전적 변이를 나타내게 되었으며, 최근 인간의 왕래가 빈번해 지면서 한반도 본토의 개체가 제주도로 유입되었다는 가설이다.

셋째, 오래전 빙하기 때에 한반도와 제주도가 하나의 육지로 연결되어 있었고 그로 인해 동일한 기원을 가진 하나의 멧쟁이딱정벌레 집단이었던 것이 해빙기에 제주도가 섬으로 분리되면서 두 개의 지역으로 격리가 되었으며, 이후

중국, 대만, 일본 등 다른 지역의 개체가 제주도의 서쪽지역으로 일부 유입이 되었고 유입된 개체가 점차 서식지를 개척해 나가는 과정에서 기존에 서식하던 집단과 종내경쟁을 하면서, 점차 기존의 집단이 동쪽의 구좌-성산 곳자왈 지역으로 밀려나 도태되어 가는 과정이라는 시나리오다.

이러한 가능성에 대해서는 추후 여러 지역의 표본을 대상으로 추가적인 실험이 진행되어야 할 것으로 생각되며, 본 연구에 사용된 *ND5* 유전자가 제주도 지역 멧쟁이딱정벌레의 기원을 밝혀내는 데 유용한 도구로 사용될 수 있는 가능성을 보여준 실험이었다고 사료된다.



감 사 의 글

남들보다 조금 늦은 나이에 새로운 마음으로 학부 3학년에 편입하여 공부를 다시 한지 벌써 4년이 지났습니다. 그동안 학부 2년 석사 2년의 짧지 않은 시간을 무사히 마칠 수 있었던 것은 주변 분들의 많은 도움이 있었기에 가능했던 일이라 생각하며 이 글을 통해 그분들에게 감사의 마음을 전하고자 합니다.

먼저 지난 4년 동안 동물생리학실험실의 지도교수님으로서 많은 관심과 격려를 아끼지 않으시고 지도해 주신 김원택 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 바쁘신 와중에도 저의 부족한 논문을 완성할 수 있게 지적해 주시고 다듬어 주신 김세재 교수님과 이선령 교수님께도 감사의 마음을 전합니다. 그리고 학부 때부터 여러 해 동안 지도해주신 생명과학과 오문유 교수님, 오덕철 교수님, 이용필 교수님, 이화자 교수님, 고석찬 교수님께도 진심어린 감사의 인사를 드립니다.

실험의 각 과정에 있어 많은 조언과 실질적 도움을 주셨던 제주생물종다양성 연구소의 정용환 박사님과 오대주에게 진심으로 감사의 마음을 전합니다. 또한 언제나 편하고 반갑게 맞아 주시는 박수영 박사님, 송관필 박사님 그리고 윤원중, 김길남, 김지영, 한창훈, 고마위, 임은영과 하이테크산업진흥원의 강민철에게도 감사의 마음을 전합니다.

논문이 나오기까지 실험실 생활에 많은 도움을 주시고 힘이되어 주신 동물생리학실험실의 고영민 선생님, 정상배 선생님, 김병수 선생님, 김상범 선생님, 장민호 선생님 그리고 실험을 위한 샘플채집 및 표본제작에 많은 도움을 준 양경식과 가끔씩 찾아와 술친구가 되어준 좌효성, 김성운, 고민희, 민동원에게도 감사의 마음을 전합니다. 또한, 실험에 필요한 많은 부분을 도와주신 미생물학실험실의 윤병준 박사님과 유한수, 분자생물학실험실의 박지권

박사님, 정형복 박사님, 진영준 선생님, 황일선 선생님, 강성일, 황준호, 김무한, 신혜선, 생태학실험실의 문명옥 박사님, 현화자 선생님, 송국만 선생님, 강창훈, 생화학실험실의 오순자 박사님과 이세영, 생명공학실험실의 고운철, 그리고 지난 2년동안 학과 조교로서 언제나 함께 일해온 한은규와 누리 조교로서 학생들을 잘 챙겨주고 있는 이승석에게도 감사의 마음을 전합니다.

마지막으로 언제나 함께해줄 가은이와 상욱이, 준석이, 평기, 태식이, 영식이와 사랑하는 부모님, 형, 누나들에게도 진심으로 깊은 감사를 드립니다.

