

## 늦반딧불이 *Pyrocoelia rufa* (딱정벌레목: 반딧불이과)의 미토콘드리아 DNA 염기서열 변이

### Mitochondrial DNA Sequence Variation of the Firefly, *Pyrocoelia rufa* (Coleoptera: Lampyridae), in Korea

이상철 · 김익수 · 배진식 · 진병래 · 김삼은<sup>1</sup>

김종길<sup>1</sup> · 윤형주<sup>1</sup> · 양성렬<sup>1</sup> · 임수호<sup>1</sup> · 손홍대

Sang Chul Lee, Ik Soo Kim, Jin Sik Bae, Byung Rae Jin, Sam Eun Kim<sup>1</sup>

Jong Kil Kim<sup>1</sup>, Hyung Joo Yoon<sup>1</sup>, Sung Ryul Yang<sup>1</sup>,

Soo Ho Lim<sup>1</sup> and Hung Dae Sohn

**Abstract** - We have sequenced a portion of mitochondrial COI gene (403 bp) of the firefly, *Pyrocoelia rufa*, to investigate genetic diversity within population, geographic variation, and phylogenetic relationships among haplotypes. A total of seven mtDNA haplotypes ranging in sequence divergence from 0.2% to 1.2% were obtained from 26 fireflies collected at four localities in Korea: Namhae, Pusan, Muju, and Yongin. The samples collected at the urban area, Pusan, were all fixed with one haplotype, differently those collected at the forest and/or agricultural areas. This appears to suggest that habitat fragmentation and population bottleneck caused by urbanization might have been severe in Pusan. On the other hand, from Muju known as the largest habitat and sanctuary for the firefly, four haplotypes with the maximum sequence divergence of 1.0% were obtained, and this estimate was the highest among the areas studied. The fireflies collected at the isolated islet, Namhae, revealed relatively low haplotype diversity ( $H=0.25$ ), but one haplotype (PR7) was phylogenetically differentiated from others. This phenomenon was explained in terms of biogeographic history of the island and gene flow in the recent past. Grouping of Muju-Yongin and Pusan-Namhae, respectively, in the hierarchical genetic analysis suggests the presence of historically occurred, biogeographic barrier against gene flow between them.

**Key Words** - Firefly, *Pyrocoelia rufa*, Mitochondrial DNA, COI gene, Conservation genetics, Genetic diversity

**초 록** - 국내 늦반딧불이 (*Pyrocoelia rufa*)의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 일부 (403 bp)의 염기서열을 결정, 집단내 유전적 다양도, 지역적 변이, 계통유전적 관련에 대한 분석을 실시하였다. 남해, 부산, 무주, 용인 등 우리 나라 4개 지역으로부터 채집된 총 26개체로부터 7개의 mtDNA haplotype을 얻었으며 이들의 변이는 0.2~1.2%이었다. 도심인 부산에서 채집한 늦반딧불이는 다른 산림 및 농업의 채집지역과 달리 하나의 haplotype으로 고정되어 있어 도시화에 따른 집단의 병목현상과 서식처 파편화가 심각했음을 보여 주었다. 그러나 우리 나라 최대의 반딧불이 서식처이자 보호지역으로 지정된 무주로부터는 4개의 haplotype을 얻었으며 이들의 최대염기 치환율은 1.0%로 가장 높은 집단내 유전적 다양도를 나타내었다. 근해의 섬인 남해의 늦반딧불이는 상대적으로 낮은 haplotype 다양도 ( $H=0.25$ )와 계통유전적으로 이질적인 haplotype (PR7)의 존재로 요약

동아대학교 생명자원과학대학 (College of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea)

<sup>1</sup> 농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부 (Department of Sericulture & Entomology, The National Institute of Agriculture Science & Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea)

되었는데 이는 비교적 가까운 과거의 한반도 생물지리 역사 및 유전자 이동에 의해 나타난 현상으로 설명하였다. 계층적 유전분석 결과, 무주-용인과 부산-남해 그룹의 형성은 역사적으로 두 그룹 사이에 유전자 이동에 반한 장벽의 존재 가능성을 제시한다고 설명하였다.

**검색어** - 반딧불이, 늦반딧불이, 미토콘드리아 DNA, COI gene, 보전유전, 유전적 다양성

세계적으로 인구의 증가, 산업의 발달, 도시화 등으로 인한 생물 서식처의 대량파괴, 지구온난화, 환경오염, 외래종의 유입 등으로 생물종 다양성이 크게 위협받고 있거나 실제로 많은 종들이 이미 멸종한 실정이다. 이러한 위협은 비단 종의 다양성뿐만 아니라 아종과 변종의 멸종, 지역집단의 멸절, 유전적 다양성의 감소, 유전자원의 소실 등 다양한 계층에서 다양성 감소가 발생하고 있다(Soulé, 1986; Wilson, 1992).

우리 나라도 지난 40년간 국토전반의 도시화와 산업화로 서식처의 감소, 산림파괴, 훼손 등에 의해 많은 종들이 이미 멸종했거나, 멸종 여부를 확인하고 있지 못하거나 멸종위기에 처해 있는 실정이다. 예를들면, 생존이 확인된 종들 중 약 10% 정도의 나비류, 약 13%정도의 조류가 멸종위기에 있거나 희귀종으로 채택되어 있다(Kim, 1994). 더우기 한 종의 멸종이 생태적으로 연관된 다른 종의 멸종을 야기한다는 점과 결정적인 과정(deterministic process)에 의해 집단생존을 위한 중요한 한계에 도달한 종의 수까지 고려한다면 이들 숫자는 더욱 증가할 것으로 예상할 수 있다.

우리 나라는 역사적으로 6 종의 반딧불이가 서식하였다고 보고된 바 있었으나(Kim and Nam, 1981) 최근 비교적 광범위한 지역을 대상으로 한 분포조사 결과, 늦반딧불이(*Pyrocoelia rufa*), 애반딧불이(*Luciola lateralis*), 파파리반딧불이(*Hotaria papariensis*) 등 2아과 3속 3종의 반딧불이만이 확인되어(Kim et al., 1998) 나머지 종들은 멸종을 하였거나 존재하더라도 극히 미미한 크기의 집단을 형성하고 있을 것으로 추측되었다. 더우기 이들 중 늦반딧불이(*P. rufa*)와 애반딧불이(*L. lateralis*)는 희귀종으로 지정된 바 있다. 특히, 늦반딧불이는 도시화가 이루어지지 않은 산기슭, 밭 주변, 논 주변, 하천변, 계곡 등지에서 주로 발생하는 종으로 이들 지역에서 인간활동을 최소화하는 것이 서식처의 자연적 상태의 유지와 더불어 중요한 보존 대책으로 간주되고 있는 실정이나(Kim, 1999) 지속적인 산업화와 도시화 그리고 이에 따른 서식처의 감소 및 훼손으로 자칫 개체군의 멸절을 우려하지 않을 수 없는 실정이다.

본 연구에서는 우선적으로 일부 주요 반딧불이 발생지역으로부터 채집된 늦반딧불이 집단에 대한 지역 집단의 유전적 크기, 지역 집단간의 유전적 관련, 계통 유전적 특성 등에 관해 연구함으로써 장기적인 반딧불이 보전을 위한 유전적 접근을 시도하고자 하였다. 이

를 위하여 생물보전학의 유전적 측면의 연구에 많이 사용되고 있는 미토콘드리아 DNA(Avise, 1994; Moriz, 1994) 중 곤충종 내의 유전적 변이의 연구에 많이 사용되고 있는 cytochrome oxidase subunit I(COI) gene(Simon et al., 1994; Kim et al., 2000)의 일부 염기서열을 이용하였다.

**재료 및 방법**

**공시충**

본 연구에 사용된 늦반딧불이(*Pyrocoelia rufa*)는 1999년 7월 20일부터 동년 9월 2일까지 늦반딧불이 발생지역으로 이미 알려져 있는 전라북도 무주 및 부산 용호동 그리고 본 연구기간동안 서식처로 확인된 경기도 용인, 부산 괴정동 및 경상남도 남해군(삼동

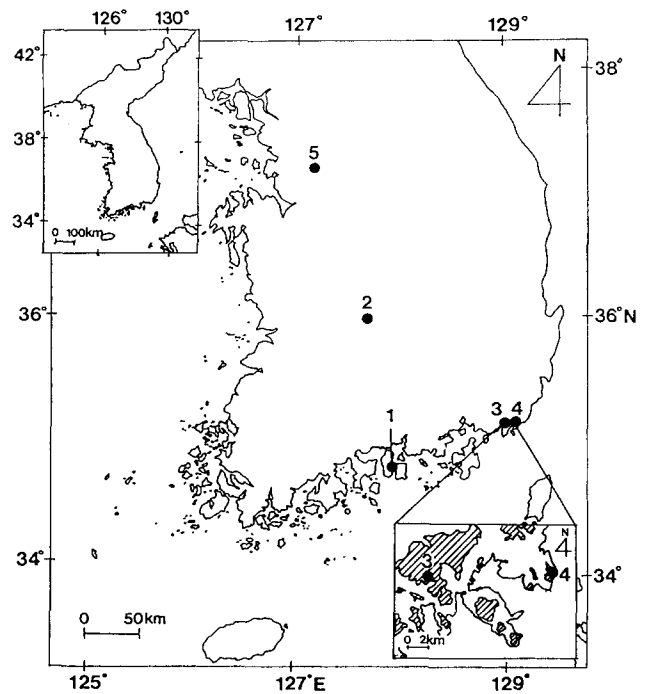


Fig. 1. Sampling locations of the firefly, *Pyrocoelia rufa*, in Korea. General locality names in the text are as follows: 1, Namhae; 2, Muju; 3, Koejong-dong, Pusan; 4, Yonghondong, Pusan; and 5, Yongin. The right-low box represents trapping sites in Pusan City. The striped areas in the box depict the fragmented forest.

Table 1. A list of trapping localities, animal numbers, mitochondrial COI haplotypes, and GeneNuri and GenBank accession numbers

Collecting locality (no. of individuals)	Collection date	Animal number	COI haplotype	GeneNuri number	GenBank number
1. Bonghwa-ri, Samdong-myon, Namhae-gun, Kyungsangnam Province (8)	99. 7. 29	F50	PR6	KS103582	AF277807
		F51	PR6	KS103583	AF277808
		F52	PR6	KS103584	AF277809
		F53	PR6	KS103585	AF277810
		F54	PR6	KS103586	AF277811
		F55	PR6	KS103587	AF277812
		F56	PR6	KS103588	AF277813
		F57	PR7	KS103589	AF277814
2. Suan-ri, Solchon-myon, Muju-gun, Chollabuk Province (9)	99. 7. 20	F58	PR1	KS103590	AF277815
		F59	PR1	KS103591	AF277816
		F60	PR1	KS103592	AF277817
		F61	PR2	KS103593	AF277818
		F62	PR4	KS103594	AF277819
		F63	PR2	KS103579	AF272702
		F64	PR2	KS103595	AF277820
		F65	PR5	KS103596	AF277821
		F66	PR1	KS103597	AF277822
3. Koejong-dong, Saha-gu, Pusan City (4)	99. 8. 12	F67	PR6	KS103598	AF277823
		F68	PR6	KS103599	AF277824
		F69	PR6	KS103600	AF277825
		F70	PR6	KS103601	AF277826
4. Yongho-dong, Nam-gu, Pusan City (1)	99. 8. 26	F71	PR6	KS103602	AF277827
5. Muk-ri, Leedong-myon, Yongin City, Kyunggi Province (4)	99. 9. 2	F72	PR3	KS103603	AF277828
		F73	PR1	KS103604	AF277829
		F74	PR1	KS103605	AF277830
		F75	PR1	KS103606	AF277831

면 봉화) 등 4개 지역 5개 지점에서 채집된 개체들을 사용하였으며 (Fig. 1) 지역별 사용 개체수는 Table 1과 같다. 채집된 개체는 DNA 추출시까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

#### 미토콘드리아 DNA (mtDNA)

냉동 보관중인 늦반딧불이로부터 phenol-chloroform-isoamyl alcohol을 사용하는 Proteinase K법으로 total DNA를 추출하였다 (Kocher *et al.*, 1989). MtDNA의 COI 유전자 403 염기 (bp)의 증폭을 위한 primer의 염기서열과 PCR 조건은 Kim 등 (2000)에 자세히 기술하였다. 성공적인 PCR 증폭의 확인을 위하여 0.7% agarose gel에서 0.5x TAE buffer를 사용, 전기영동을 실시하였다. 여분의 primer와 nucleotide를 제거하기

위하여 PCR Purification Kit (QIAGEN)를 사용하였다. DNA 염기서열 분석은 ABI 377 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems)를 이용하여 분석하였다. 얻어진 각 개체의 염기서열은 IBI MacVector (ver. 6. 5)를 이용하여 정렬, 각 개체의 최종 염기서열을 결정하였으며 각 개체로부터 새로운 염기서열을 얻는대로 haplotype 번호를 부여하였다.

#### PAUP 및 Networks를 이용한 계통유전적 분석

Haplotype 사이의 계통적 관련을 파악하기 위하여 PAUP (Phylogenetic Analysis using Parsimony) ver. 3.1 (Swofford, 1990)을 사용하였다. Outgroup으로는 부산 괴정동 및 전라북도 무주에서 채집한 같은 과 내의 파파리 반딧불이 (*Hotaria papariensis*)의 동일 부위 염

기서열을 이용하였다. 이때 transition과 transversion 비율은 1:1, 1:5, 1:10, 1:20으로 지정, heuristic 조사 방법으로 분석하였으며 계통수의 신뢰도는 bootstrap법을 사용하였다(Felsenstein, 1985). 종내의 mtDNA 염기서열을 parsimony법을 이용하여 분석할 경우 back mutation과 parallel mutation으로 인해 종종 계통수의 여러 분지에서 다분지의 분기점이 발생하는 수가 많다. 이러한 문제를 해결하기 위한 하나의 방법으로 parsimonious one-step median networks (Bandelt 등, 1995)을 들 수 있다. 이 방법은 아주 가까운 haplotype간의 유연관계를 파악하기 위하여 사용하였다.

**유전적 다양도 지수**

각 집단내 유전적 변이의 크기와 유형을 파악하기 위하여 집단내 haplotype간의 최대 염기치환율, 집단내 haplotype사이의 평균 염기치환율, haplotype 다양도, nucleotide 다양도 등을 Arlequin ver. 1.1 (Schneider et al., 1996)을 사용하여 구하였다. 집단내 haplotype간의 평균 염기수 차이는 두 haplotype이 분화된 이래 발생했을 것으로 추정되는 돌연변이 수와 이 계산에 연루된 haplotype의 발생 빈도를 고려한 가운데 한 집단내의 모든 haplotype 사이의 짝짓기 비교 결과에 의해 발생하는 염기수의 평균 차이를 측정하여 계산하였다. 집단내의 nucleotide 다양도는 두 개의 무작위로 선택한 haplotype이 다를 확률을 계산하는 방식으로 계산되었다(Nei, 1987). 통계적 분석의 신뢰를 높이기 위하여 4개체 이상이 사용된 지역만 대상으로 하였으므로 부산의 용호동은 제외하였다.

**계층적 유전구조**

Holsinger and Mason-Gamer (1996)의 소프트웨어를 이용, 각 집단의 계층화된 유전적 관련을 구하였다. Nei's 공식(Nei, 1982)에 대한 bias 수정 후, 집단의 인위적 선택으로 발생하는 통계적 변이가 아니라 실질적인 "sampling" 과정에서 야기하는 통계적 변이( $\hat{g}_{st}$ )만을 고려함으로 다양도의 분할을 계산하였다(Weir and Cockerham, 1984). 또한 이 통계법으로 집단 또는 집단모임간의 유전적 거리에 대한 통계적 유의성을 분석하였다(10,000 bootstraps).

**집단간 유전적 거리 및 유전자 이동율**

각 집단쌍 사이의 유전적 거리( $F_{ST}$ )는 Excoffier 등 (1992)에 기술된 방법대로 Arlequin ver. 1.1 (Schneider et al., 1996)을 이용하여 구하였다. 각 집단사이의 유전적 차이에 대한 통계적 유의정도는 permutation test에 의해 구하였다(10,000 bootstraps; Excoffier et al., 1992).  $F_{ST}$  수치는 분화시간에 따른 직선적 증가를 나타내지 않는다. 그래서 돌연변이율이 낮고 분화의 시

간이 비교적 짧을 것이라는 가정하에서 직선화가 가능한데, 이러한 가정하에서 사용되는 공식은  $D = -\log(1 - F_{ST})$ 로 D는 시간의 분화정도에 따른, 대략적으로 직선적인 공동조상 계수이다(Reynold et al., 1983). 평형상태 하에서 세대당 암컷의 이동율(Nm)을 구하기 위하여  $F_{ST} = 1/(2Nm + 1)$ 의 공식을 사용하였다.

**결 과**

**MtDNA 염기서열 분석**

우리나라의 4개 지역 5개 지점으로부터 채집한 늦반딧불이 26개체의 COI 유전자 일부(403 bp)의 염기서열을 분석하여 7개의 haplotype을 얻었다(Fig. 2; PR1-PR7). 이들 haplotype을 정렬한 결과, 7개의 염기 자리에서 치환이 발견되었으며 그 중 1개만이 transversion 치환(280번; A↔T)이었으며 나머지는 모두 transition 치환(모두 G↔A)이었다. 코돈 위치별 치환을 살펴본 결과, 염기자리 231번만이 두 번째 위치에서의 치환이었으며 이로 인해 haplotype PR5는 염기성의 Arginine에서 같은 염기성의 Histidine으로 바뀌었다.

**Nucleotide 분화율**

본 연구로부터 획득된 7개의 haplotype사이의 염기치환은 1개(0.2%)~5개(1.2%)로 최대염기변이는 무주에서 발견된 PR4와 남해에서 발견된 PR7에서 그리고 역시 무주에서 발견된 PR5와 남해 및 부산에서 발견된 PR6 사이에서 발견되었다(Table 2).

**Haplotype의 빈도 및 지역적 분포**

Haplotype의 지역적 분포와 개체수 그리고 각 늦반딧불이 시료의 GeneNuri 및 GenBank accession number는 Table 1에 나타내었다. 총 26개체 중 PR1과 PR6은 18개체(69.2%)로 늦반딧불이의 많은 숫자가 이들 haplotype을 보유하고 있었다. PR1은 전라북도

Table 2. Pairwise comparisons among seven haplotypes obtained from the partial sequences of mitochondrial COI

	PR1	PR2	PR3	PR4	PR5	PR6	PR7
PR1	—	0.002	0.002	0.005	0.005	0.007	0.007
PR2	1	—	0.005	0.007	0.002	0.010	0.010
PR3	1	2	—	0.002	0.007	0.005	0.010
PR4	2	3	1	—	0.010	0.002	0.012
PR5	2	1	3	4	—	0.012	0.012
PR6	3	4	2	1	5	—	0.010
PR7	3	4	4	5	5	4	—

Numbers above the diagonal are mean distance values; numbers below the diagonal are absolute distance values.

			30			60
PR1 (F58)	TCGAATAAAT	AATATAAGAT	TTTGACTTCT	TCCACCATCA	TTATCAATTAC	TTTTAATAAG
PR2 (F61)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR3 (F72)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR4 (F62)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR5 (F65)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR6 (F50)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR7 (F57)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>H. papariensis</i> (F26)	A.....	.....	.....	A....C..T	.....	.CC.....
<i>H. papariensis</i> (F4)	A.....	....G....	.....	A..C..C..T	.....	.CC.....
			90			120
PR1 (F58)	AAGATTAATT	GAAAGTGGGG	CAGGTACGGG	ATGAACAGTT	TATCCGCCCT	TATCAGCAAA
PR2 (F61)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR3 (F72)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR4 (F62)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR5 (F65)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR6 (F50)	.....	.....	.....	.....	....A....	.....
PR7 (F57)	.....	.....	.....A..	.....	....A....	.....
<i>H. papariensis</i> (F26)	...A..G.A	...A..A.	...A..A.	.....T..	..C..C..TC	...T.....
<i>H. papariensis</i> (F4)	...A..G.A	...A..A.	...A..A.	.....	..C..C..T.	...T.....
			150			180
PR1 (F58)	TATTGCACAT	AGAGGTCCCT	CTGTAGATTT	AGCAATTTTT	AGACTTCAIT	TAGCAGGIAT
PR2 (F61)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR3 (F72)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR4 (F62)	.....	.....	.....	G.....	.....	.....
PR5 (F65)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR6 (F50)	.....	.....	.....	G.....	.....	.....
PR7 (F57)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>H. papariensis</i> (F26)	.....T..	.....T.A.	.A..T....	.A.C..C..C	..T..A...C	.....G..
<i>H. papariensis</i> (F4)	.....T..	.....T.A.	.A..T....	.A.C..C..C	..TT.A...C	.....A..
			210			240
PR1 (F58)	TTCTCAAIT	CTTGGAGCAG	TGAATTTTAT	CTCAACTAIT	ATTAAATATAC	GCCCTAATAG
PR2 (F61)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR3 (F72)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR4 (F62)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR5 (F65)	.....	.....	.....	.....	.....	A.....
PR6 (F50)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR7 (F57)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>H. papariensis</i> (F26)	.....T..	T.A..G....	.A.....	.....A..	.....	.AT.A.T.G.
<i>H. papariensis</i> (F4)	.....T..	T.A.....	.A....C..	.....A..	.....	.AT.A.T.G.
			270			300
PR1 (F58)	AATAATATTT	GATCAAATAC	CTTATTTTGT	ATGAGCAGTT	CTAATTACTG	CCATCTTATT
PR2 (F61)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR3 (F72)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR4 (F62)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR5 (F65)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR6 (F50)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR7 (F57)	.....	.....	.....	.....A	.....	.....
<i>H. papariensis</i> (F26)	C....C...A	..C.G.....	...G.....	.....T..	..G.....	.A..TC.TC.
<i>H. papariensis</i> (F4)	T....C...A	..C.G.....	...G.....	.....T..	.....	.A..TC.CC.

			330			360
PR1 (F58)	GCTTTTATCT	CTACCTGTTT	TAGCAGGAGC	TATCACAATA	TTATTAACAG	ATCGAAATTT
PR2 (F61)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR3 (F72)	A.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR4 (F62)	A.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR5 (F65)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR6 (F50)	A.....	.....	.....	.....	.....	.....
PR7 (F57)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>H. papariensis</i> (F26)	A..CC...C	..C..A..A	....T....	A..T..T..	C.T.....	.....C.
<i>H. papariensis</i> (F4)	A..CC.G..C	..T..G..A	....T..G..	A..T..T..G	C.T.....	.....

			390		403
PR1 (F58)	AAATTCTTCA	TTTTTTGACC	CAGCGGGAGG	AGGAGATCCT	GTA
PR2 (F61)	.....	.....	...A....	.....	...
PR3 (F72)	.....	.....	.....	.....	...
PR4 (F62)	.....	.....	.....	.....	...
PR5 (F65)	.....	.....	...A....	.....	...
PR6 (F50)	.....	.....	.....	.....	...
PR7 (F57)	.....	.....	.....	.....	...
<i>H. papariensis</i> (F26)	...A.A..C	.....T.	...T..G..	T.....C...	A.T
<i>H. papariensis</i> (F4)	...A.A..C	.....T.	...T..G..	T.....C...	A.T

Fig. 2. Sequence alignment of seven mitochondrial haplotypes (designated as PR1-PR7) obtained from 403-bp COI gene sequences and two homologous sequences of *H. papariensis*, which were used as outgroups in the PAUP analysis. Only nucleotide positions that differ from haplotype PR1 are indicated.

무주의 9개체 중 4개체가 그리고 경기도 용인의 4개체 중 3개체에서 발견되었다. PR6은 부산 괴정동과 용호동에서 채집된 전 개체 (총 5개체)에서 발견되었으며 남해의 8개체 중 7개체가 이 haplotype을 보유하고 있었다. 이로써 높은 빈도로 발견되는 이들 두 haplotype은 한국의 남부지방에 위치한 부산과 남해에서 발견되거나 (PR6) 중남부의 무주와 중부의 용인에서 발견되었다 (PR1).

**PAUP 및 Networks을 이용한 계통유전적 분석**

여러 가지 transition과 transversion 비율에 따른 PAUP 분석결과, 전반적으로 동일한 계통수를 얻었으므로 1:1로 실시한 결과만을 나타내었다 (Fig. 3). 남해에서 발견된 PR7을 제외한 국내의 늦반딧불이 haplotype은 55%의 bootstrap 수치를 보이며 하나의 그룹을 형성한 반면 PR7은 이들로부터 분리되어 유전적으로 다소 이질적임을 나타내었다.

Haplotype사이의 진화적 과정의 일면을 보여주는 unrooted one-step median network법을 이용한 haplotype사이의 유전적 관련의 분석결과는 Fig. 4와 같다. 모든 haplotype이 지속적인 변이를 보이는 가운데 남해에서 발견된 PR7은 가장 근접한 haplotype (PR1 및 PR6)과 연결되기 위해 3 또는 4의 mutational step이 요구되어 PR7의 유전적 이질성을 나타내었으며 이러

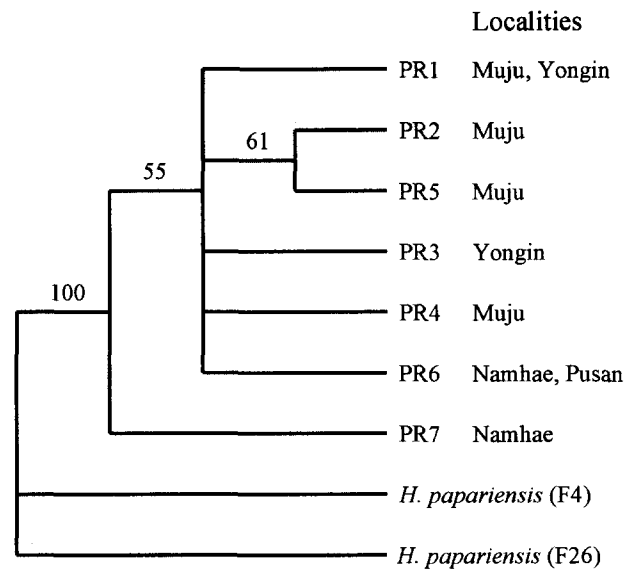


Fig. 3. PAUP analysis of mitochondrial COI sequences of seven haplotypes obtained from this study. The tree shown is a majority-rule consensus of eight equally parsimonious trees from an heuristic search using *H. papariensis* as outgroups. Tree length is 101 steps, Consistency Index is 0.960, and Retention Index is 0.947. The numbers shown on the branches represent bootstrap values for 100 replicates.

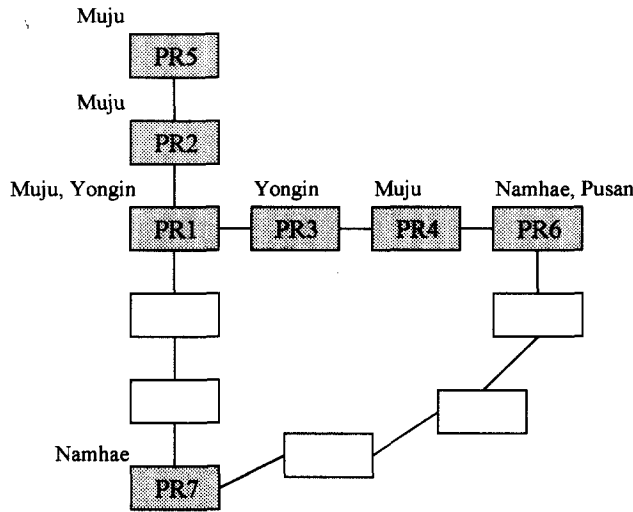


Fig. 4. Parsimonious one-step median networks analysis among seven mitochondrial COI haplotypes. Each bar indicates one nucleotide difference from the neighboring haplotype, and the empty rectangles indicate the hypothetical haplotypes, which were not found in this study. Haplotype PR7 requires three and four mutational steps to connect to PR1 and PR6, respectively.

한 결과는 PAUP의 분석결과와 일치하였다.

**유전적 다양도**

각 집단내의 haplotype 수, haplotype 다양도 ( $H$ ), haplotype사이의 최대 염기서열 변이 (MSD), haplotype사이의 평균 염기수 차이 (MPD), nucleotide 다양도 ( $\pi$ ) 순으로 Table 3에 나타내었다. 부산의 고정동으로부터는 단지 한 개의 haplotype (PR6)을 얻어 가장 낮은 유전적 다양도 ( $H=0$ )를 나타낸 반면 전라북도 무주는 7개의 haplotype중 4개가 발견되어 각 집단 중 가장 높은 haplotype 다양도 ( $H=0.75$ )를 나타내었다. 이러한 결과는 MSD,  $\pi$ , MPD 등에도 반영되어 종합적으로 무주는 상대적으로 큰 유전적 집단을 형성하고 있는 것으로 나타난 반면 부산은 최저의 유전적 다양도 지수를 나타내었다. 한편 단지 두 개의 haplotype이 발견된 경상남도 남해는 PR7의 유전적 이질성으로(다른 haplotype으로부터 0.7~1.2%의 염기 치환율; Table 2)  $H$ 는 낮지만 상대적으로 높은 유전적 다양도 지수를 나타내었다 (MSD=1.0%, MPD=1.00,  $\pi=0.0025$ ).

**유전자 이동**

집단간 사이의 유전적 거리 ( $F_{ST}$ ), 공동조상 계수 ( $D$ ) 및 세대당 이동 압력 ( $Nm$ )은 Fig. 5와 같다. 집단간

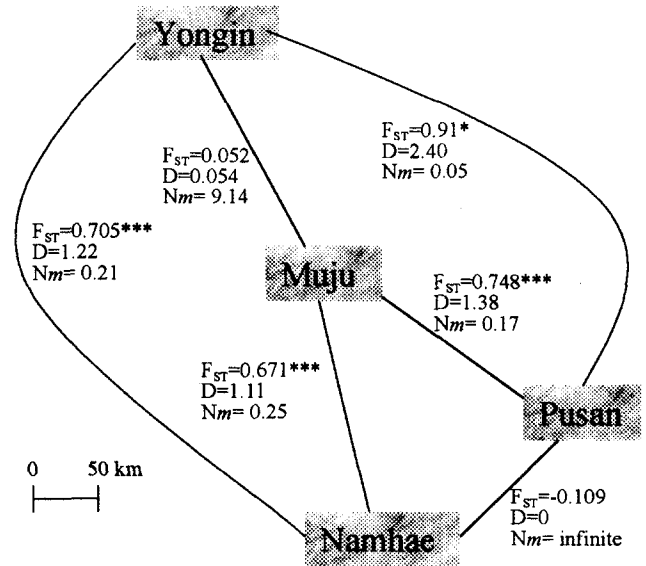


Fig. 5. Diagrammatic summary of genetic distance ( $F_{ST}$ ), per generation migration rate ( $Nm$ ), and coancestry coefficient ( $D$ ) in a geographic context. Note significant  $F_{ST}$  values (\* $p < 0.05$  or \*\*\* $p < 0.001$ ) when Yongin and Muju were compared to Pusan and Namhae, respectively.

의 공동조상계수 ( $0 =$  동일공동조상)는 0~2.40으로 전반적으로 높은 수치 ( $\geq 1$ )는 용인과 무주를 부산과 남해에 비교하였을 경우 나타났으나 용인과 무주 ( $D = 0.054$ ) 그리고 부산과 남해 ( $D = 0$ ) 사이에서는 매우 낮은 수치를 나타내었다. 이동률 ( $Nm$ )의 측정치 역시 이와 상응하여 부산과 남해와의 비교에서 ( $Nm = infinite$ ) 그리고 무주와 용인과의 비교에서 ( $Nm = 9.14$ ) 아주 높은 수치가 나타났으나 다른 경우에는 매우 낮은 유전자 이동률이 나타났다 ( $Nm = 0.05 - 0.25$ ). 짝짓기 비교에 의한 지역간의 유전적 거리 ( $F_{ST}$ )는  $-0.109 \sim 0.91$ 로 역시 용인과 부산사이에서 가장 높은 수치가 나타났으며 이는 통계적으로 유의하였다 ( $p < 0.05$ ). 반면, 가장 낮은  $F_{ST}$  수치는 부산과 남해와의 비교에서 나타났다 ( $F_{ST} = -0.109$ ).  $D$ 와  $Nm$  측정치와 일관되게 통계적으로 유의한  $F_{ST}$  수치는 용인과 무주를 부산과 남해에 비교하였을 경우 나타났으나 용인과 무주와의 비교시 그리고 부산과 남해와의 비교시에는 전혀 나타나지 않았다.

**계층적 집단유전구조**

Holsinger and Mason-Gamer 방법 (1996)에 의한 집단간의 계층적 관련성의 분석결과, 4개의 지역은 두 개의 유전적 그룹으로 나뉘어졌다 (Fig. 6). 즉, 남해와 부산으로부터 채집된 늦반딧불이는 무주와 용인 개체들로부터 통계적으로 매우 유의한 정도의 유전적 거

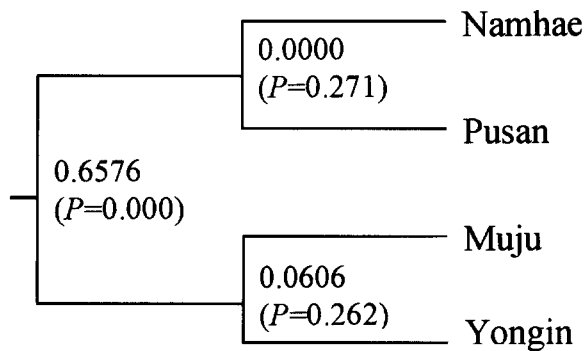


Fig. 6. Hierarchical relationships among localities analyzed using Holsinger and Mason-Gamer method (1996). The value at each node is the distance between its two daughter nodes and the  $p$  value is the significance of differentiation (based on 10,000 random resamplings).

리 ( $p=0.000$ )를 나타내었다. 반면, 지리적으로 가까운 남해와 부산의 늦반딧불이가 하나의 독립적인 그룹을 그리고 무주와 용인의 늦반딧불이는 또 다른 독립적인 그룹을 형성하였으며 각 그룹은 매우 낮은 유전적 거리를 보이며 이는 통계적으로도 유의하지 않았다 (각  $p=0.271$  및  $p=0.262$ ).

## 고 찰

### 유전적 변이 및 집단유전적 구조

본 연구는 mtDNA의 COI gene 염기서열을 이용, 국내 늦반딧불이 (*Pyrocoelia rufa*)의 지리적 유전변화를 연구한 첫 번째 연구이다. 한국의 4개 지역(무주, 용인, 부산, 남해)에서 채집한 26마리의 늦반딧불이로부터 7개의 mtDNA haplotype (PR1-PR7)을 얻었으며 이들 haplotype 사이의 염기치환율은 0.2~1.2%로 COI gene을 사용한 다른 곤충연구와 비교한 결과, 유사하였다 (Table 2). 예를 들면, 잎말이나방과의 *Choristoneura fumiferana*의 유전적 분화율은 ~0.4% (Sperling and Hickey, 1994), 벼멸구 *Nilaparvata legens*와 *Sogatella furcifera*는 각 0.23%와 0.12% (Mun *et al.*, 1999), *Heliconius* 나비류는 0.5% (Brower, 1994), 배추좀나방 *Plutella xylostella*는 1.4% (Kim *et al.*, 2000), 잎벌레과의 *Ophraella communa*는 3.8% (Funk *et al.*, 1995)이었다.

늦반딧불이의 mtDNA 변이에 있어 흥미로운 점은 부산의 늦반딧불이는 하나의 haplotype으로 고정되어 있다는 점이다. 연구된 4개 지역은 모두 최소한 두 개 이상의 haplotype을 보유하고 있지만 유독 부산만은 하나의 haplotype으로 고정되어 있었다 (Table 3). 더우기 부산에서는 다른 지역과 달리 두 지점(괴정동 및

Table 3. Within-locality diversity estimates

Locality	SS <sup>a</sup>	NH <sup>b</sup>	H <sup>c</sup>	NP <sup>d</sup>	MSD <sup>e</sup> (%)	MPD <sup>f</sup>	$\pi$ <sup>g</sup>
Namhae	8	2	0.25	4	1.0	1.00	0.0025
Muju	9	4	0.75	4	1.0	1.22	0.0030
Koejong-dong	4	1	0.00	0	0.0	0.00	0.0000
Yongin	4	2	0.50	1	0.2	0.50	0.0012

<sup>a</sup>Sample size

<sup>b</sup>Number of haplotypes

<sup>c</sup>Haplotype diversity

<sup>d</sup>Number of polymorphic sites

<sup>e</sup>Maximum sequence divergence

<sup>f</sup>Mean number of pairwise differences

<sup>g</sup>Nucleotide diversity

용호동; 최소한 13 km 거리)에서 늦반딧불이를 채집하였지만 이들은 모두 하나의 haplotype (PR6)으로 고정되어 있었다. 집단내에서 큰 mtDNA 변이를 유지하는 방법은 오랜 시간 안정적이고 큰 집단을 유지하거나 (Slakin and Hudson, 1991) 역사적으로 독립적으로 존재해온 계통유전적 그룹이 최근의 이동에 의해 혼합된 집단을 구성하는 것이라고 할 수 있다 (Avisé *et al.*, 1987). 반대로 비교적 가까운 과거에 집단의 병목현상을 경험하였다면 빈도가 낮은 haplotype의 높은 유실 가능성으로 필연적으로 매우 낮은 다양성을 나타내거나 하나의 계통으로 고정될 것이라고 알려져 있다 (Wilson *et al.*, 1985). 이러한 이론적 배경과 연관하여 부산에서의 haplotype 고정은 우선, 도시화와 공업화에 따른 산림지와 농지의 전용 및 훼손 등으로 적합한 늦반딧불이의 서식처 감소에 따른 결과라고 여겨지며 아울러 서식처의 분획화 (도로, 주거지역, 공단 등)로 격리된 작은 집단에서 나타나는 유전자 표류에 의한 드문 haplotype의 유실이 그 원인으로 작용했을 것으로 추측된다 (Neigel and Avisé, 1986).

무주의 반딧불이 집단은 본 연구지역 중 가장 높은 haplotype 수와 유전적 다양도 지수를 보유하고 있었다 (Table 3). 무주는 비교적 개발이 자제된 농업/산림 지역으로 반딧불이의 서식 환경이 양호한 편으로 무주군내 82개소로부터 반딧불이의 발생이 확인된 바 있다. 특히 일부 서식처는 최근 우리 나라에서 발생하고 있다고 알려진 세 종(늦반딧불이, 애반딧불이, 파파리반딧불이)의 반딧불이가 공통적으로 발생하고 있으며 우리 나라에서는 유일하게 반딧불이 보전을 위한 체계적인 노력이 진행되고 있는 지역으로 82년 무주의 반딧불이와 그 서식처는 천연기념물 제 322호로 지정되었다. 이러한 점으로 미루어 무주 집단에서의 상대적으로 많은 haplotype 수와 높은 유전적 다양도 지수는 이러한 보전 노력의 결과로 여겨진다.

남해 집단에서의 최대염기치환율은 내륙내의 무주와 동일한 1.0%로 나타났다. 전 개체간 비교시 얻어



진 최대염기치환율이 1.2%인 점을 감안한다면 상당히 큰 염기치환율이 남해 집단에 존재하고 있음을 알 수 있다. 이론적으로는, 섬집단이 물리적으로 격리되어 있다면 평형상태 하에서 한 섬에서 무작위로 선택된 두 개체가 haplotype을 공유할 수 있는 확률은  $1/1 + \theta$  (population parameter  $\theta$ 는 effective female population size  $N_e \times$  돌연변이율  $\mu$ ; Ewens, 1990)이므로 격리된 섬에서의 낮은 유전적 다양도가 기대된다고 할 수 있으나 본 연구결과는 이와 다소 상반되었다. 이처럼 대륙으로부터 격리된 남해 집단이 육지내 부산 및 용인에 비하여 보다 크거나 무주에 비하여 상응하는 유전적 다양도를 유지하는 것은 우선, 남해는 자연환경이 잘 보존되어 늦반딧불이 서식처의 훼손이 적었던 결과라고 생각될 수 있다.

그러나 haplotype의 계통분석 결과, 남해의 한 개체 (F57; Table 1)에서 발견된 haplotype (PR7)은 다른 haplotype으로부터 다소 격리되어 그 자체가 독립적인 그룹을 형성함으로 (Figs. 3, 4) 이에 대한 추가적인 설명이 요구되는 실정이다. 한 지역 내에서 두 가지의 매우 독특한 mtDNA 계통의 공동 발생은 곤충을 포함한 다양한 종에서 보고 된 바 있다 (Taberlet *et al.*, 1992; Pumo *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 1999). Avise *et al.* (1984, 1987)에 따르면 mtDNA 계통의 통계확률적인 멸절 가능성으로 두 가지의 계통유전적 그룹이 한 집단내에서 오랜 시간 공존하기란 거의 불가능함으로 그 원인은 본질적으로 자매 종인 두 종이 우연히 분석된 경우나 지역적으로 격리된 집단이 비교적 가까운 과거에 이주하여 다시 공존하는 경우라고 설명하였다.

남해의 늦반딧불이의 경우, 다른 곤충에서의 COI의 진화율에 비추어 3~4의 mutational steps (0.7~1.0%)을 보인 PR7을 다른 독립적인 종이나 아종으로 간주하기에는 그 크기가 너무 적으므로 현재의 결과로는 본질적으로 자매 종이 우연히 분석에 포함되었을 가능성은 매우 낮을 것으로 보인다. 또한 늦반딧불이의 암컷 성충은 퇴화된 뒷날개를 소유하여 이동범위가 제한적인 바, 수 킬로의 섬 사이로의 이동을 통해 모성 유전의 mtDNA의 유전자 이동이 아주 최근의 사건, 즉 집단 크기의 획기적인 증가와 이에 따른 이동에 의해 두 계통이 형성되었을 가능성은 확률적으로 전무하거나 매우 낮을 것으로 생각된다. 그러므로 남해에서의 haplotype의 분포는 다소 역사적인 분포와 이후 비교적 가까운 과거의 유전자 이동에 의한 결과라고 추측해 볼 수 있다.

즉, 지질학적 연구에 의하면 제주도는 약 12,000년 전에 마지막으로 섬의 형태가 되었으며 한반도에 연결된 섬은 해면 수위가 현재와 같은 깊이로 상승했던 약 7,000년 전에 형성된 것으로 알려져 있다 (Oshima,

1990). PR7과 같이 그 빈도가 아주 낮으며 계통적으로 독특한 haplotype은 남해의 형성시기를 전후하여 존재하던 것으로 비교적 격리된 가운데 유전자 표류에 기인하여 같은 계통의 haplotype이 유실한 결과 낮은 빈도로 존재하고 있는 것으로 생각된다. 반면, 부산과 남해에서 높은 빈도로 발견된 PR6 (46.2%)은 비교적 가까운 과거 높은 빈도로 존재하던 가운데 한반도 (예를 들면 부산)로부터 남해로 이주해온 결과, 남해는 부산과 공통적으로 발생하며 가장 높은 빈도를 가진 PR6과 함께 아주 낮은 빈도를 보이며 계통적으로 독특한 PR7이 동시에 발생하는 집단유전적 구성을 나타내는 것으로 여겨진다. 이러한 해석은 haplotype의 분포에 대한 비교적 일반적인 해석의 하나이긴 하지만 (Kim *et al.*, 1998) 집단 크기의 증가, 그 시점, 동일 haplotype의 현재 분포, 생물체의 생태 및 행동 특성이 동시에 고려된 복잡한 설명으로 연구 지역의 확충에 의해 보다 구체적인 생물지리 역사를 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

7개의 haplotype 중 PR6은 46.2% (26개체 중 12개체)로 가장 높은 빈도를 보였으며 단지 부산과 남해에서만 발견된 반면 PR1은 26.9% (26개체 중 7개체)로 단지 무주와 용인에서만 발견되었다. 또한 이들은 각 무주-용인 또는 부산-남해 개체의 높은 빈도를 차지하였다 (각 13개체 중 12 또는 13개체 중 7). 이처럼 높은 빈도를 보이는 두 haplotype이 각각 지역적 한계를 가짐으로 (무주-용인 대 부산-남해)  $F_{ST}$ 와 계통적 분석결과, 무주와 용인이 하나의 큰 유전집단을 형성하는 가운데 부산과 남해가 또 다른 유전집단을 형성하였다 (Figs. 5, 6). 이처럼 mtDNA의 haplotype 분포가 지역적 구조를 나타내는 것은 이들 두 유전그룹은 상당한 기간동안 적어도 모체에 근거한 유전자 이동이 상당히 제한되어 왔음을 나타내고 있다. Chesser (1983)는 유전자 이동에 반한 세 가지 형태의 장벽을 제시하였다 (지리적 장애, 생태적 장애, 행동적 장애). 부산에서 가까운 무주가 오히려 용인과 같은 유전적 그룹에 속하는 점으로 미루어 늦반딧불이 집단의 지역적 구조가 지리적 거리를 반영하고 있다고 믿기는 어려워 보인다 (예를 들면 거리의 증가에 따른 유전적 격리의 증가). 또한 늦반딧불이는 산기슭, 발 주변, 논 주변, 하천변, 계곡 등 비교적 도시화가 이루어지지 않은 곳에서 발생하는 종이긴 하지만 서식처의 지역적 특이점이 존재한다는 보고는 존재하지 않는 실정이다 (Kim *et al.*, 미발표문헌). 또한 각 그룹에서 높은 빈도로 발생하는 두 haplotype은 상호간의 염기치환율이 0.7%이긴 하지만 다른 haplotype과 관련하여 연속적인 변이를 나타내는 점을 고려할 때 우리나라의 늦반딧불이가 오랜 시간 행동적 격리 (예를 들면, 발광 유형)를 경험하였다고 설명되기도 어렵다. 그러나

일본의 경우, 우리 나라 파파리반딧불이가 속한 속내의 종인 *H. parvula*와 우리 나라와 공통적으로 발생하고 있는 애반딧불이 *L. lateralis*는 발광유형의 지역적 차이가 존재하며 이로 인한 명백한 유전적 차이 또한 존재한다고 보고된 바 있다(Suzuki, 1997). 현재 왜 이러한 지역적 구조가 발생하고 있는지에 대한 확실한 답은 갖고 있지 않지만 홍적세 후반과 완신세에 이은 한반도내에서의 마지막 빙하의 역사와 깊은 관련이 있을 것으로 생각되나 후속적인 연구를 통해 보다 많은 생물지리적 지식이 축적될 수 있을 것으로 기대된다.

## 인용문헌

- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history, and evolution. Chapman and Hall. 511pp. New York.
- Avise, J.C., J.E. Neigel and J. Arnold. 1984. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. *J. Mol. Evol.* 20: 99~105.
- Avise, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb and N.C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu Rev Ecol Syst* 18: 489~522.
- Bandelt, H.-J., P. Forster, B.C. Sykes and M.B. Richards. 1995. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics* 141: 743~753.
- Brower, A.V.Z. 1994. Phylogeny of *Heliconius* butterflies inferred from mitochondrial DNA sequences (Lepidoptera: Nymphalidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 3: 159~174.
- Chesser, R.K. 1983. Isolation by distance: relationship to the management of genetic resources. pp. 66~77 in *Genetics and Conservation: a reference for managing wild animal and plant populations*, eds. by C.M. Shonewald-Cox, S.M. Chambers, B. MacBryde and L. Thomas. 722pp. The Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- Ewens, W.J. 1990. Population genetic theory-the past and the future. pp. 177~227 in *Mathematical and Statistical Developments of Evolutionary theory*, ed. by S. Lessard, 363 pp. Kluwer Academic Publishing, Boston.
- Excoffier, L., P.E. Smouse and J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479~491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 29: 783~791.
- Funk, D.J., D.J. Futuyma, G. Ortí and A. Meyer. 1995. Mitochondrial DNA sequences and multiple data sets: a phylogenetic study of phytophagous beetles (Chrysomelidae: *Ophraella*). *Mol. Biol. Evol.* 12: 627~640.
- Holsinger, K.E. and R.J. Mason-Gamer. 1996. Hierarchical analysis of nucleotide diversity in geographically structured populations. *Genetics* 142: 629~639.
- Kim, K.J. 1994. Human beings and Biodiversity pp. 15-24 in *Biodiversity Korea 2000*, eds. by I.K. Lee, K.J. Kim, J.M. Cho, D.W. Lee, D.S. Cho and J.S. Yoo. 405pp. Minumsa, Seoul.
- Kim, C.W. and S.H. Nam. 1981. Present status of the Korean fire-flies and their conservation. *Bull. Korean Asso. Conser. Nature, Ser. 3*: 311~324.
- Kim, I., C.J. Phillips, J.A. Monjeau, E.C. Birney, K. Noack, D.E. Pumo, R.S. Sikes and J.A. Dole. 1998. Habitat islands, genetic diversity, and gene flow in a Patagonian rodent. *Molecular Ecology* 7: 667~678.
- Kim, I., B.Y. Min, M.H. Yoon, M.S. Yoo and D.H. Kim. 1999. Unusual mitochondrial DNA polymorphism of the blue mussel (*Mytilus edulis*) species complex on the southern coast of Korea. *Korean J. Biol. Sci.* 3: 79~87.
- Kim, I., J.S. Bae, K.H. Choi, B.R. Jin, K.R. Lee and H.D. Sohn. 2000. Haplotype diversity and gene flow of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), in Korea. *Korean J. Appl. Entomol.*, 39: 43~52.
- Kim, J.K., S.E. Kim, J.Y. Choi, S.R. Yang, S.H. Lim, K.R. Lee, H.J. Kang and L. Ohba. 1998. Investigation of distribution, physiology, and ecology of the Korean fireflies. 58 pp. in *Abstract of Korean J. Appl. Entomol.*
- Kim, S.E. 1999. The symbol of environmental conservation: firefly. *Firefly Soc. Korea* 1: 1~8.
- Kocher, T.D., W.K. Thomas, A. Meyer, S.V. Edwards, S. Pääbo, F.X. Villablanca and A.C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 6196~6200.
- Moriz, C. 1994. Application of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review *Molecular Ecology* 3: 401~411.
- Mun, J.H., Y.H. Song, K.L. Heong and G.K. Roderick. 1999. Genetic variation among Asian populations of rice planthoppers, *Nilaparvata legens* and *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae): mitochondrial DNA sequences. *Bull. Entomol. Res.* 89: 245~253.
- Nei, M. 1982. Evolution of human races at the gene level. pp. 167~181 in *Human genetics, Part A: the unfolding genome*, Proceedings of the sixth international congress of human genetics, eds. by B. Bonné-Tamir, T. Cohen and R.M. Goodman. 619 pp. Alan R Liss Incorporation, New York, NY.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. 512 pp. Columbia Univ. Press, New York.
- Neigel, J. and J.C. Avise. 1986. Phylogenetic relationships of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. pp. 515~534 in *Evolutionary processes and*

- theory, eds. by E. Nevo and S. Karlin. 768 pp. Academic Press, New York, NY.
- Ohshima, K. 1990. The history of straits around the Japanese Islands in the Late-Quaternary. *Quart. Res.* 29: 193~208.
- Pumo, D.E., I. Kim, J. Remsen, C.J. Phillips and H.H. Genoways. 1996. Molecular systematics of the fruit bat, *Artibeus jamaicensis*: origin of an unusual island populations. *J. Mamm.* 77: 491~503.
- Reynolds, J., B.S. Weir and C.C. Cockerham. 1983. Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767~779.
- Schneider, S., J.-M. Kueffer, D. Roessli and L. Excoffier. 1996. Arlequin: a software package for population genetics. Genetics and Biometry Lab., Department of Anthropology, Univ. of Geneva.
- Simon, C., F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu and P. Flook. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a composition of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87: 651~701.
- Slakin, M. and R.R. Hudson. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 29: 555~562.
- Soulé, M.E. 1986. *Conservation Biology: the science of scarcity and diversity*. 584 pp. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Sperling, F.A.H. and D.A. Hickey. 1994. Mitochondrial DNA sequence variation in the spruce budworm species complex (*Choristoneura*: Lepidoptera). *Mol. Biol. Evol.*, 11: 656~665.
- Suzuki, H. 1997. Molecular phylogenetic studies of Japanese fireflies and their mating systems (Coleoptera: Cantharoidae). *TMU Bull. Natl. His.* 3: 1~53.
- Swofford, D.L. 1990. PAUP: phylogenetic analysis using parsimony, ver. 3.0 Illinois Natural History Survey, Champaign (on disk).
- Taberlet, P., A. Meyer and J. Bouvet. 1992. Unusual mitochondrial DNA polymorphism in two local populations of blue tit *Parus caeruleus*. *Molecular Ecology* 1: 27~36.
- Weir, B.S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358~1370.
- Wilson, E.O. 1992. *The Diversity of Life*. 406 pp. Belknap Press of Harvard Univ. Cambridge, Mass.
- Wilson, A.C., R.I. Cann, S.M. Carr, M. George, U.B. Gyllenstein, K.M. Helm-Bychowski, R.G. Higuchi, S.R. Palumbi, E.M. Prager, R.D. Sage and M. Stoneking. 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biol. J. Linn. Soc.* 26: 375~400.

(2000년 1월 17일 접수, 2000년 8월 28일 수리)