

ORIGINAL ARTICLE

DNA 분석에 의한 팔색조의 암수 구분 및 암수별 피해 현황 그리고 크기 차이에 관한 연구

김은미 · 전연선²⁾ · 정길상³⁾ · 김세재¹⁾ · 강창완⁴⁾ · 오미래⁴⁾ · 노푸름³⁾ · 원현규^{*}

국립산림과학원 난대아열대산림연구소, ¹⁾제주대학교 생물학과, ²⁾이화여자대학교 환경공학과,
³⁾이화여자대학교 에코과학부, ⁴⁾한국조류보호협회 제주지회

The Study on the Sexual Difference in the Cause and the Time of Casualty and in the Size of the Fairy Pitta (*Pitta nympha*) through DNA Analysis in Republic of Korea

Eun-Mi Kim, Yeon-Seon Jeon²⁾, Gil-Sang Jeong³⁾, Se-Jae Kim¹⁾, Chang-Wan Kang⁴⁾,
Mi-Rea Oh⁴⁾, Pu-Reum Noh³⁾, Hyun-Kyu Won^{*}

Warm-temperate and Subtropical Forest Research Center, Korea Forest Research Institute, Seogwipo 697-050, Korea

¹⁾Department of Biology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

²⁾Department of Environment Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

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

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

Abstract

The differentiation of sex is important for species preservation. However, Fairy Pitta is sexually monomorphic and sex of an individual is indistinguishable with its external characteristics. We determined the sex of Fairy Pitta through DNA analysis and investigated the causes and time of injury and mortality and the size based on sex. We collected 21 samples at Jeju Island, Korean Peninsula from 2004 to 2013 and extracted DNA from them and amplified chromo helicase DNA-binding gene from Z and W chromosomes through Polymerase Chain Reaction (PCR). We confirmed their sex with the banding pattern through Agarose gel electrophoresis, i.e. male (ZZ): one banded and female (ZW) two banded. We distinguished the sex of 17 of 21 samples resulting in 9 males and 8 females. Most casualties were recorded in adult of both sexes. Causes of injury and mortality proved that female casualties occurred from window strikes, dehydration, car accident, predation by natural enemies, and male occurred from window strikes, car accident and dehydration. The time of injury and mortality in adults differ by sex. There was no difference between sexes in any of the six size parameters. As the time of injury and mortality differ by sex, the survey on the role and ecological nature by sex in breeding season must be carried out in the future. External measurements may not be reliable for sexing of Fairy Pitta and other traits such as vocal or characteristics are required to identify the sex of individuals in the field.

Key words : Preservation, DNA, Sex, Size, Adult, Time of injury and mortality

Received 17 December, 2013; Revised 11 August, 2014;

Accepted 12 August, 2014

*Corresponding author: Hyun-Kyu Won, Warm-temperate and Subtropical Forest Research Center, Korea Forest Research Institute, Seogwipo 697-050, Korea
Phone: +82-64-730-7280
E-mail: hkwon@forest.go.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. 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, provided the original work is properly cited.

1. 서론

팔색조는 우리나라를 비롯하여 중국, 대만, 일본 등에서 번식을 하며 보르네오에서 월동을 하는 조류이다. 이들 번식지는 동북아시아에 제한되어 있어 분포권이 좁다 (BirdLife International, 2001; Brazil, 2009). 그리고 일본에서는 19세기 연료용으로, 20세기에는 산림플랜테이션이 성행하여 별채가 이루어졌고 세계에서 가장 번식 밀도가 높았던 중국 동남부는 농업이나 목재를 위해 서식지가 훼손되었고 대만은 도로나 댐 등 대규모 경제개발로 인해 원시림이 사라졌다. 19세기, 20세기를 거치면서 팔색조의 개체수가 급감하였고 현재 전세계적으로 10,000마리 이하의 개체수가 생존하고 있는 것으로 추정되고 있으며 국제적인 멸종위기종 중 취약종으로 분류되어 적색목록에 포함되어 있다 (BirdLife International, 2001). 팔색조의 멸종을 막기 위해 팔색조가 서식하는 각 국가마다 보호대책을 마련하고 있을 뿐만 아니라 네트워크 형성을 통해 국가 간 협력 또한 구상되고 있다.

소규모 집단에 대한 연구에서 성비에 대한 연구는 필수적이라 할 수 있다 (Double과 Olsen, 1997; Komdeur 등, 1997). 특히 멸종위기에 처해 있는 야생조류인 경우 암수구분은 종 보전을 위해 중요하고 (An 등, 2007; Robertson 등, 2006) 수집된 자료의 가치를 높이며 (Fletcher와 Foster, 2010), 개체군의 생태연구에 있어 중요한 부분을 담당한다 (Huang 등, 2012). 국제적 멸종위기종인 팔색조는 외형적으로 암수 구분이 어렵기 때문에 (Lambert와 Woodcock, 1996) 생태와 관련하여 암수의 습성이나 번식과정 중 암수의 역할 차이 등 성비나 암수와 관련한 정보가 부족한 실정이다.

포유류의 성염색체인 X와 Y 염색체와 달리 조류의 성염색체는 Z와 W 염색체로 진화했다 (Ellegren와 Carmichael, 2001). 암컷은 이형의 성염색체인 Z와 W 염색체를 가지고 있고 수컷은 동형의 성염색체인 Z 염색체를 두 개 가지고 있다 (Handley 등, 2004). 이런 암수의 성염색체의 차이로 인해 DNA 분석이 조류의 성감별을 위해 이용되고 있다 (Griffiths 등, 1998; Ito 등, 2003).

여기서는 멸종위기종인 팔색조를 대상으로 DNA 적인 기법을 이용하여 피해를 입고 구조된 팔색조의 암수 성비를 파악하고 성별 피해 원인, 피해 시기 그리고 외부 측정치를 비교해 보고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 샘플 확보

팔색조는 천연기념물이기 때문에 사단법인 한국조류보호협회 제주지회를 비롯하여 야생동물유전자원은행 등 천연기념물을 관리할 수 있는 단체의 도움을 받아 2004년부터 2013년까지 구조되거나 회수된 사체에서 21개의 샘플을 확보하였고 살아있는 팔색조인 경우 혈액을 채취하였으며 사체는 근육, 간, 혀, 깃털 등을 채취하여 분석에 이용하였다.

2.2. 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 사용 예는 아래와 같다.

혈액에 $20\ \mu\text{l}$ proteinase K를 첨가하였고 조직의 경우 200ul의 ATL에서 pestle을 이용해 파쇄 후 $20\ \mu\text{l}$ proteinase K를 첨가하였다. 그리고 $200\ \mu\text{l}$ AL을 첨가한 후 56°C 에서 10분을 두었다. 그후 $200\ \mu\text{l}$ 에탄올(분자생물학급)을 넣고 완전히 섞이게 vortexing하여 상기액을 Column으로 옮겼다. 옮긴 상기액을 6000 g에서 1분간 원심분리하였다. 원심분리된 하층액은 collection 튜브 채 버리고 새 튜브에 옮긴 용액은 $500\ \mu\text{l}$ AW1을 넣고 6000 g에서 1분간 원심분리하였다. 원심분리해서 형성된 하층액은 collection 튜브 채 버리고 column을 새 collection 튜브에 옮겼다. 여기에 $500\ \mu\text{l}$ AW2를 넣고 20000 g에서 3분간 원심분리하였으며 용액이 남지 않도록 주의하고 남아 있는 경우 다시 원심분리하였다. Column을 1.5 ml 튜브에 옮긴 후 $200\ \mu\text{l}$ AE 첨가 1분 후 6000 g에서 1분간 원심분리하여 DNA 추출을 완료하였다. 추출된 genomic DNA는 -20°C 냉장고에 보관하였다.

2.3. PCR을 통한 암수 판별

본 실험의 분석구간은 성염색체의 CHD (chromo helicase DNA binding) gene으로, 이 구간을 증폭하기 위해 Maxime PCR PreMix kit (Intron biotechnology, Korea)와 한 쌍의 프라이머 p29f(5'-AAC AGA GTM CTG ATT TTC TCW CAG AT-3')와 plongr(5'-CCT

TTT ATT GAT CCA TCA AGT CTC TAA-3')를 사용하였다(NIBR, 2012). PCR 증폭을 위한 적정 조건은 Initial denaturation을 94°C에서 5분, denaturation은 94°C에서 30초, annealing은 55°C에서 1분, extension은 72°C에서 1분으로 34 cycles을 실시한 뒤, final extension은 72°C에서 7분간 실시하였다. 증폭된 PCR 산물은 2% agarose gel에서 50 V로 60분간 전기영동을 하고 밴드를 확인하였다. 몇몇 샘플(J1, J8)에 대해서는 pseudo gene은 아닌지, W와 Z가 분리되지 않아서 하나의 band로 보이는 건 아닌지 확인하기 위해 gel cutting을 하고 purification, sequencing 과정을 거쳤다.

2.4. 분석

암수별 피해 개체에 차이가 있는지, 그리고 피해원인과 피해시기에 있어 암수별 차이가 있는지 알아보기 위해 χ^2 검정(Fisher's exact test)을 실시하였다. 피해시기는 번식기 암수의 피해 정도를 알아보기 위해 성조만을 분석대상으로 하였으며 번식초기(5월 말경 ~ 6월 중순: 세력권 형성 및 산란기)와 번식 중반기(6월 말경 ~ 7월: 새끼 키우는 시기)로 나누었다. 분석에 이용한 외부측정치는 전장(cm), 날개길이(cm), 꼬리길이(cm), 부리길이(mm), 두척길이(mm), 부척(mm)였고 무게는 탈진 등으로 인해 먹이를 못해 구조된 경우 상당한 감량이 있을 수 있기 때문에 일반적인 팔색조의 무게라고 판단할 수 없어 비교에서 제외시켰다. 성별 크기 이형성(%SSD)은 암컷과 수컷의 평균치의 차이를 나타내는 것으로 Croxall (1995)에 의해 사용된 방법을 따랐다. 외부측정치에 있어 암수간 평균 차이가 있는지 유의성을 분석하기 위해 독립표본 t-검정(independent t-test)를 실시하였다. 통계 분석은 SPSS(v. 12, SPSS Inc., Chicago, IL., USA)를 이용하여 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. PCR 분석을 통한 암수 구분 및 피해 현황

이번 연구에서는 총 21개의 샘플이 확보되었는데 이들 중 9개체가 생존한 개체들이었고 깃털, 혀, 근육 등과 같은 일부 조직만을 확보한 것이 8개체로 대부분 샘플들이 생식기를 통해 암수를 판별할 수 없는 샘플이었다. 사망한 개체에 대해서는 복부 절개를 통해 생식기의 차이

를 살펴봄으로서 암수 구분이 가능하지만 생존하거나 일부 조직만을 확보한 경우는 불가능하였다. 또한 팔색조는 국제적 멸종위기종이기 때문에 각각의 개체가 종의 멸종을 막기 위해 중요하며 따라서 생존 개체에 대해 암수 구분을 위해 다른 방법이 필요하였으며 최근에 가장 많이 이용되고 가장 효과적인 방법이 PCR을 통한 분석이었다. 최근 PCR을 위해 일반적으로 이용되는 혈액과 깃털, 근육 샘플 등(Wellbrock 등, 2012)은 대부분 구조되거나 치료 과정에서 사망하기 때문에 샘플 채취시 생존에 영향을 미치지 않아 확보가 비교적 용이하였다. 하지만 생존 개체에 대해서 혈액, 깃털 등의 샘플 채취는 번식성공이나 생존에 부정적인 영향을 미치며(Sheldon 등, 2008; Voss 등, 2010; McDonald와 Griffith, 2011) 최근 Cliff Swallows라는 종에 대한 연구에서 혈액 채취가 종의 평균 생존율을 21-33% 감소시킨다는 보고가 있어(Brown와 Brown, 2009) 채취하는 양을 제한하였다. 특히 신체 이상으로 인해 구조되었던 개체들이기 때문에 생존에 더 큰 영향을 미칠 것으로 판단되며 신체조직에 영향을 주지 않으면서 쉽게 분석용 샘플을 확보할 수 있는 방법을 모색할 필요가 있다.

조류의 성감별과 관련한 연구에서 전통적으로 P2와 P8 primer의 조합을 이용하였다(Cerit와 Avanus, 2007; Griffiths 등, 1998). 하지만 이 조합은 참새목을 비롯하여 아비목, 매목 등 여러 목에 적용할 경우 제대로 작동하지 않는 예들이 많아(Chang 등, 2008; Ito 등, 2003) 팔색조의 성감별에는 부적합하였다. 그리고 기존에 많이 이용하던 P2-NP-MP primer 조합 또한 뚜렷한 밴드 양상이 나타나지 않았다. 따라서 참새목에 특이적으로 개발된 CHD primer set인 P29f, Plongr을 이용하여 분석을 시도하였으며(NIBR, 2013) 암컷은 2개의 밴드가, 수컷은 1개의 밴드가 확인되었다(Fig. 1).

성별이 확인된 총 17개체 중 8개체가 암컷으로, 9개체가 수컷으로 나타났다. 조류에 있어 암컷과 수컷의 비율은 연구자들로부터 많은 관심을 받아왔고 알이 부화되는 시점이나 새끼들이 둥지를 떠나는 이소시점에서 종종 연구가 되어 왔지만 유조나 성조의 성비는 알려지지 않은 것이다(Mayr, 1939; Donald, 2007; Becker 등, 2008). 그리고 왜곡된 성비는 야생조류 집단에서 흔하며 국제적인 멸종위기종들은 성비가 더 왜곡되기 쉽다(Bugoni 등, 2011). 이번 연구는 국제적 멸종 위기종인 팔색조를 대

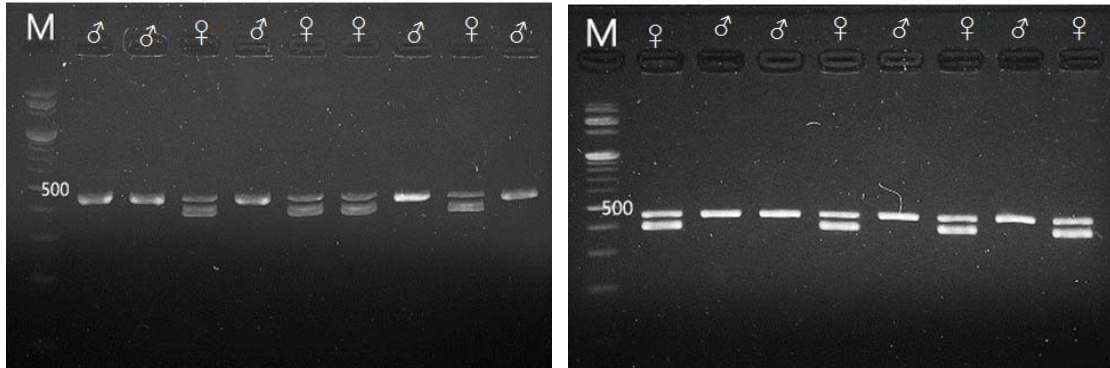


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis at 2% of the CHD gene fragments amplified by PCR with the primers P29f and Plongr.

상으로 시도한 것이며 피해를 입은 팔색조 중 암수 성비에 대해 확인할 수 있었고 이 자료는 종 보전 대책을 세우는 데 중요한 자료로 이용될 수 있다고 본다.

성별이 확인된 개체 중 성조가 12개체이고, 유조가 2개체, 새끼가 3개체였고 암컷과 수컷 모두 성조가 주로 피해를 입었다. 피해원인에 있어 암컷은 유리창충돌로 가장 많이 구조되었고 탈진, 차량 충돌, 천적 등의 피해를 입는 것으로 확인되었고 수컷은 유리창 충돌, 차량충돌, 탈진 등으로 구조되었고 유리창 충돌, 차량 충돌 등 인위적인 요인에 의한 피해와 자연적으로 발생한 피해 사이에 유의한 차이는 없었다($\chi^2_1=0.152, P=1.000>0.05$, Fig. 2). 성조 중 수컷은 짝을 찾거나 세력권을 방어하는 번식초기에 피해를 입었고 암컷은 대부분 새끼를 키우는 번식 중반기에 피해를 입는 것으로 확인되었고 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다($\chi^2_1=4.482, P=0.015<0.05$, Fig. 3). 이번 연구에서 피해를 입은 팔색조 중 암컷과 수컷의 비율과 피해원인은 비슷하였지만 피해 시기에서 차이를 나타냈다. 암컷은 유리창충돌로 인한 피해가 가장 많았고 그 다음으로 탈진이었지만 수컷은 유리창 충돌, 차량 충돌, 탈진이 같은 비율로 발생하였다. 암수 피해가 인위적 혹은 자연적으로 발생하고 있지만 인위적인 요인으로 인한 피해는 개체군에 큰 영향을 미치며(Yoo 등, 2010) 인간에 의해 발생요인을 감소하거나 제거할 수 있기 때문에 보호측면에서 더 많은 연구가 필요하다. 피해시기는 성조 암수별로 유의한 차이를 보였는데 번식 초기에는 수컷이, 번식 중반기에는 암컷이 많이 피해를 입는 것으로 나타났다. 팔색조과의 조

류는 세력권을 가지고 있으며 수컷은 소리를 통해 그들의 세력권을 방어한다. 필요한 경우, 수컷은 자신의 세력권 내에 침입한 침입자를 쫓아가서 공격하기도 하며 이런 방어 행동은 알을 낳는 시기 전까지 이어진다

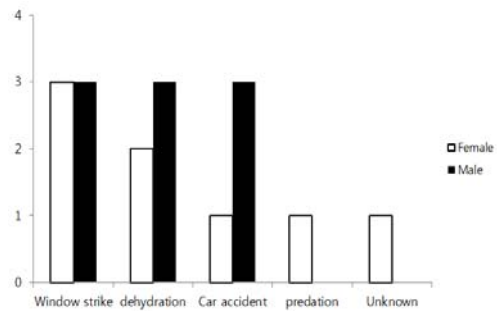


Fig. 2. Cause of injury and mortality by sex.

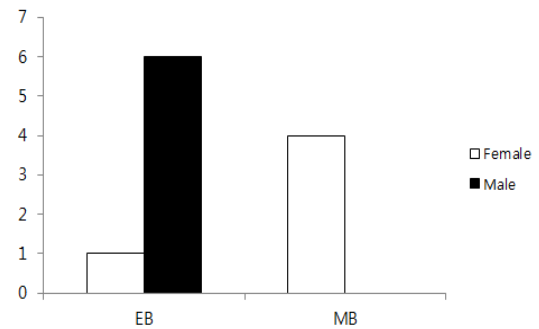


Fig. 3. Time of injury and mortality by sex in adults (EB: the early stage of breeding, MB: the middle stage of breeding).

(Erritzoe, 2004; Lambert와 Woodcock, 1996; Lok 등, 2009). 번식초기 수컷의 피해가 많은 것은 세력권 방어와 관련이 있을 가능성이 높다고 본다. 그리고 번식과정에 들어가면 팔색조의 조류는 암수가 번갈아가며 알을 품고 새끼를 먹인다(Erritzoe, 2004; Kemp와 Bruce, 2003; Lambert와 Woodcock, 1996; Kim 등, 2012). 하지만 이번 결과는 알을 품는 단계까지 수컷의 피해가 컸으며 이는 알을 품는 단계에서 암수의 역할이나 포란에 대한 비중이 다를 수 있음을 암시한다고 본다. 그리고 암컷은 새끼를 키우는 번식 중반기에 사망이나 구조가 많았는데 이는 새끼를 키우는 과정에서도 암컷과 수컷이 새끼에게 먹이를 공급하는 횟수나 먹이량 등 암수간 다를 수 있음을 암시하는 것으로 앞으로 번식생태와 관련하여 연구가 필요하다고 판단된다.

3.2. 암수별 크기 차이 분석

피해를 당한 팔색조 중 9개체(수컷 6개체, 암컷 3개체)에 대해 외부 크기를 측정하였다. 비교한 외부 측정치 중 암수별 차이는 나타나지 않았고 성별 크기 이형성(%SSD)로 계산된 크기 차이는 0.1%에서 5.1%(absolute value)로 작게 나타났다(Table 1). 팔색조의 외부측정치를 비교한 기존의 자료를 보면 날개, 부리, 꼬리에서 수컷이 다소 크고 부리는 암컷이 다소 컸지만 크기 차이가 1 mm 정도로 미미했다(Erritzoe와 Erritzoe, 1998). 그리고 대만에서 암수별 날개길이에 대해 암수간 크기 차이가 단지 4 mm 정도로 수컷이 다소 컸지만 외형적인 특징에 의해 암수를 구분하는 것은 유용하지 않다는 보고가 있었다(Mees, 1977). 이번 측정 결과는 기존의 보고와

다소 차이를 나타냈는데 날개 길이는 암컷이 수컷에 비해 길었다. 하지만 통계적으로 유의하지 않았고 암컷 샘플수가 적었기 때문에 추가적인 샘플 확보를 통해 유의성을 검증해 볼 필요성이 있다고 본다. 그리고 나머지 5개 부위에 대한 암수 외부측정치를 살펴보았을 때 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않아 크기를 가지고 야외에서 암수를 구별하는 것은 어렵다고 판단된다.

4. 결 론

암수구분은 종 보전을 위해 중요한데 팔색조는 암컷과 수컷이 형태, 크기, 몸의 색깔 등에서 육안으로는 구분이 어렵다. DNA분석을 통해 피해를 입은 팔색조의 암수를 구별하여 암수별 피해원인, 피해시기 그리고 크기를 파악하였다. 2004년부터 2013년까지 제주도와 한반도에서 수집한 팔색조 샘플 21개를 가지고 DNA를 추출하여 PCR 증폭을 거쳐 전기영동을 통해 밴드가 하나인 수컷(ZZ)과 band가 둘인 암컷(ZW)을 확인하였다. 총 21개의 샘플 중 17개의 샘플에서 암수 성별을 구분할 수 있었다. 성별이 확인된 총 17개체 중 8개체가 암컷으로, 9개체가 수컷으로 나타났다. 암컷과 수컷 모두 성조가 주로 피해를 입었다. 피해원인에 있어 암컷은 유리창충돌로 가장 많이 구조되었고 탈진, 차량 충돌, 전적 등의 피해를 입는 것으로 확인되었고 수컷은 주로 유리창 충돌, 차량충돌, 탈진 등으로 인해 구조되었다. 성조 중 암컷은 대부분 번식 중반기에 피해를 입었고 수컷은 주로 번식 초기에 피해를 입은 것으로 확인되었다. 외부측정치는 암수별로 차이가 없었다. 이번 연구 결과, 암수별 피해 시

Table 1. The external measurements of Fairy Pitta Pitta nympha in Republic of Korea

	Male				Female				t	P	%SSD ^b
	Mean±SD	Range	N	CV ^a	Mean±SD	Range	N	CV			
Total length(mm)	202.8±4.0	199.0-208.0	5	2.0	200.7±4.0	197.0-205.0	3	2.0	0.732	0.492	-1.1
Maximum wing(mm)	127.3±1.8	124.0-129.0	6	1.5	129.4±0.5	129.0-130.0	3	0.4	-1.940	0.094	1.8
Tail(mm)	41.4±1.4	40.0-44.0	6	3.7	41.3±1.5	40.0-43.0	3	3.7	0.240	0.818	-0.7
Tarsus(mm)	42.0±1.4	40.0-43.8	6	3.6	42.0±1.9	39.9-43.3	3	4.4	-0.047	0.964	0.1
Head(mm)	54.7±0.8	53.8-56.1	6	1.7	54.9±1.6	53.2-56.4	3	2.9	-0.294	0.778	0.5
Bill(to feather)(mm)	24.0±0.9	23.2-25.7	6	4.0	23.0±0.7	22.5-23.7	3	2.9	1.924	0.103	-5.1

^a CV(coefficient of variation)=[(SD/mean)×100]

^b %SSD(sexual size dimorphism)=[(female mean/male mean)-1]×100]

기가 다르기 때문에 번식기간 동안 암수의 역할이라든지 생태적 습성의 차이와 관련한 연구가 병행되어야 할 것으로 판단된다. 그리고 외부측정치를 가지고 야외에서 관찰을 통해 암수를 구분하는 것은 어려우며 소리나 생태적 특성 등을 이용하여 암수를 구분하는 방법을 찾을 필요성이 있다고 본다.

참고문헌

- An, J., Lee, M. Y., Min, M. S., Lee, M. H., Lee, H., 2007, A molecular genetic approach for species identification of mammals and sex determination of birds in a forensic case of poaching from South Korea, *Forensic. Sci. Int.*, 167, 59 - 61.
- Becker, P. H., Ezard, T. H. G., Ludwigs, J. D., Sauer-Gürth, H., Wink, M., 2008, Population sex ratio shift from fledging to recruitment: consequences for demography in a philopatric seabird, *Oikos*, 117, 60 - 68.
- BirdLife International, 2001, Threatened birds of Asia: The birdlife international red data book, BirdLife International, Cambridge, UK, 1937-1938.
- Brazil, M., 2009, The birds of East Asia: China, Taiwan, Korea, Japan, and Russia, Princeton University Press, Princeton, 290-291.
- Brown M. B., Brown C. R., 2009, Blood sampling reduces annual survival in Cliff Swallows (*Petrochelidon pyrrhonota*), *Auk*, 126, 853 - 861.
- Bugoni, L., Griffiths, K., Furness, R.W., 2011, Sex-biased incidental mortality of albatrosses and petrels in longline fisheries: differential distributions at sea or differential access to baits mediated by sexual size dimorphism?, *J. Ornithol.*, 152, 261 - 268.
- Cerit, H., Avanus, K., 2007, Sex determination by CHDW and CHDZ genes of avian sex chromosomes in *Nymphicus hollandicus*, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 31(6), 371-374.
- Chang, H. W., Chou, T. C., Gu, D. L., Cheng, C. A., 2008, An improved PCR method for gender identification of eagles, *Mol. Cell Probes*, 22, 184- 188.
- Croxall, J. P., 1995, Sexual size dimorphism in seabirds, *Oikos*, 73, 399 - 403.
- Double, M., Olsen, P., 1997, Simplified polymerase chain reaction (PCR)-based sexing assists conservation of an endangered owl, the Norfolk Island Boobook *Ninox novaeseelandiae undulata*, *Bird Conserv. Int.*, 7, 283-286.
- Donald, P. F., 2007, Adult sex ratios in wild bird populations, *Ibis*, 149, 671 - 692.
- Ellegren, H., Carmichael, A., 2001, Multiple and independent cessation of recombination between avian sex chromosomes, *Genetics*, 158, 325-331.
- Erritzoe, J., 2004, Order Passeriformes. Family Pittidae (Pittas). In: del Hoyo, J., Elliot, A., Sargatal, J.(Eds.), *Handbook of the Birds of the World: Broadbills to Tapaculos*, Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- Erritzoe, J., Erritzoe, H. B., 1998, *Pittas of the world: A Monograph on the Pitta Family*, The Lutterworth Press, Cambridge, U.K.
- Fletcher, K., Foster, R., 2010, Use of external biometrics to sex Carrion Crow *Corvus corone*, Rook C. *frugilegus* and Western Jackdaw C. *monedula* in Northern England, *Ringling & Migration*, 25, 47-51.
- Griffiths, R., Double, M. C., Orr, K., Dawson, R. G. J., 1998, A DNA test to sex most birds, *Mol. Ecol.*, 7, 1071-1075.
- Handley, L. J., Ceplitis, H., Ellegren, H., 2004, Evolutionary strata on the chicken Z chromosome: implications for sex chromosome evolution, *Genetics*, 167, 367-376.
- Huang, X., Zhou, X., Lin, Q., Fang, W., Chen, X., 2012, An efficient molecular sexing of the vulnerable Chinese egret (*Egretta eulophotes*) from feces samples, *Conservation Genet. Resour.*, 4, 391 - 393.
- Ito, H., Sudo-Yamaji, A., Abe, M., Murase, T., Tsubota, T., 2003, Sex identification by alternative polymerase chain reaction methods in Falconiformes, *Zool. Sci.*, 20, 339 - 344.
- Kemp, A., Bruce, M., 2003, Pittas. in: Perrins, C.(ed), *The New Encyclopedia of Birds*, Oxford Univeristy Press, Oxford, 418-420.
- Kim, E. M., Choi, C. Y., 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., Park, C. R., Kang, C. W., Kim, S. J., 2012, The nestling diet of fairy pitta *Pitta nympha* on Jeju Island, Korea, *Open Journal of Ecology*, 2(4), 178-182.
- Komdeur, J., Daan, S., Tinbergen, J., Mateman, C., 1997, Extreme adaptive modification in sex ratio of the

- Seychelles warbler's eggs, *Nature*, 385, 522-525.
- Lambert, F., Woodcock, M., 1996, Pittas, Broadbills and Asities, Pica Press, Sussex, 162-166.
- Lens, L., Galbusera, P., Brooks, T., Waiyaki, E., Schenck, T., 1998, Highly skewed sex ratios in the critically endangered Taita thrush as revealed by CHD genes, *Biodiversity and Conservation*, 7, 869-873.
- Loery, G., Nichols, J.D., Hines, J.E., 1997, Capture-recapture analysis of a wintering blackcapped chickadee population in Connecticut, 1958 - 1993, *Auk*, 114, 431 - 442.
- Lok, A. F. S. L., Khor, K. T. N., Lim, K. C., Subaraj, R., 2009, Pittas(Pittidae) of Singapore, *NATURE IN SINGAPORE*, 2, 155-165.
- Mayr, E., 1939, The sex ratio in wild birds, *Am. Nat.*, 73, 156 - 179.
- McDonald P. G., Griffith S. C., 2011, To pluck or not to pluck: the hidden ethical and scientific costs of relying on feathers as a primary source of DNA, *J. Avian Biol*, 42, 197 - 203.
- Mees, G. F., 1977, Additional records of birds of from Formosa (Taiwan), *Zoologische mededelingen*, 51, 223-264.
- National Institute of Biological Resources(NIBR), 2013, The Study on the drawing up of a dendrogram and DNA barcode analysis on birds in Korea, No. 11-1480592-000414-01, National Institute of Biological Resources, Seoul, Korea.
- Perrins, C. M., 1991, Constraints on the demographic parameters of bird populations. In: Hiron, G. J. M. (ed.), *Bird Population Studies: Relevance to Conservation and Management*, Oxford University Press, New York, 190 - 208.
- Robertson, B. C., Gemmell, N. J., 2006, PCR-based sexing in conservation biology: Wrong answers from an accurate methodology?, *Conservation Genetics*, 7, 267 - 271.
- Roth, R. R., Johnson, R. K., 1993, Long-term dynamics of a wood thrush population breeding in a forest fragment, *Auk*, 110, 37 - 48.
- Sheldon L. D., Chin E. H., Gill S. H., Schmaltz G., Newman A. E. M., Soma K. K., 2008, Effects of blood collection on wild birds: an update, *J. Avian Biol.*, 39, 369 - 378.
- Sodhi, N. S., 2002, A comparison of bird communities of two fragmented and two continuous southeast Asian rainforests, *Biodiversity and Conservation*, 11, 1105 - 1119.
- Yoo, S. H., Lee, K. S., Park, C. H., 2010, Accident cases and causes of electric line collision of Cranes at Cheorwon, Korea, *Kor. J. Orn.*, 17(4), 331-343.
- Voss M., Shutler D., Werner J., 2010, A hard look at blood sampling of birds, *Auk*, 127, 704 - 708.
- Wellbrock A. H. J., Bauch C., Rozman J., Witte K., 2012, Buccal swabs as a reliable source of DNA for sexing young and adult common swifts (*Apus apus*), *J. Ornithol.*, 153, 991-994.