

제주도에 도래하는 떼까마귀 집단에 대한 분자 종 동정 및 계통 유연관계¹

한상현^{2,3} · 김태욱² · 김유경² · 박준호² · 김동민² · Pradeep
Adhikari² · 박수곤² · 박선미² · 김가람² · 이준원² · 오홍식^{2*}

Molecular identification and Phylogenetic relationship of the rook (*Corvus frugilegus*) population in Jeju-do Province, South Korea¹

Sang-Hyun Han^{2,3}, Tae-Wook Kim², Yoo-Kyung Kim², Jun-Ho Park², Dong-Min Kim², Pradeep Adhikari²,
Su-Gon Park², Seon-Mi Park², Ga-Ram Kim², Jun-Won Lee², Hong-Shik Oh^{2*}

요 약

동절기에 제주도 지역에서 도래하는 떼까마귀의 유전적 특성과 집단 간 유연관계를 구명하기 위해, 미토콘드리아 *COI* 유전자 서열의 다형성에 기반한 모계 계통 구조와 계통 유연관계를 분석하였다. 떼까마귀 DNA는 우도와 제주도 내에서 발견된 깃털과 사체 시료에서 분리하였다. 결정된 *COI* 서열들(n=41)은 떼까마귀(*Corvus frugilegus*)에서 기존에 보고된 서열들과 97.0% 이상 일치하였다. 제주도 떼까마귀 *COI* 서열들은 3가지 haplotype(J01-J03)으로 구분되었으나 지역-특이적인 양상을 보이지 않아, 이들이 하나의 모계 기원에서 유래한 집단임을 알 수 있었다. 떼까마귀 전체 *COI* 서열에서 8개의 *COI* haplotype들이 발견되었다. 이 중 3가지 haplotype들은 러시아 동부, 몽골, 한국 등 동북아시아의 *COI* 서열들을 포함하였고, 나머지 5가지는 중앙아시아, 중동아시아, 러시아 서부, 유럽국가의 떼까마귀에서 발견되었다. 계통수 상에서 떼까마귀의 *COI* 서열들은 축소적 종분화 단계인 2아종, *C. f. frugilegus*와 *C. f. pastinator*인 2개의 모계 계통으로 뚜렷하게 구분되었다. DNA barcoding 분석을 통한 연구결과는 모계 계통의 구조, 계통 유연관계 및 분자생태를 이해하는 데 중요한 정보를 제공할 것이다.

주요어: 모계 계통, *COI*, 유전적 특성, 분자 생태

ABSTRACT

In order to identify the species and to reveal the phylogenetic relationship of rook populations found in Jeju-do Province in winter seasons, we determined the sequences of mitochondrial cytochrome c oxidase I (*COI*) gene and analyzed the genetic structure of maternal lineages and phylogenetic relationship. The rook DNAs were isolated from the post-mortem specimens and plumages collected from agricultural farms in Jeju-do Province including U-do Island. The obtained *COI* sequences (n=41) showed over 97.0% identities with those previously reported from *Corvus frugilegus*. Three *COI* haplotypes (J01-J03) were detected from *COI* sequences of the rooks obtained in Jeju-do Province but those did not show the site-specific patterns, showing that they might be derived from a common maternal origin. Eight maternal haplotypes were detected from all *COI* sequences

1 접수 2015년 7월 20일, 수정 (1차: 2015년 10월 2일), 게재확정 2015년 10월 3일

Received 20 July 2015; Revised (1st: 2 October 2015); Accepted 3 October 2015

2 제주대학교 과학교육학부 Faculty of Science Education, Jeju National Univ., Jeju 63243, Korea

3 제주대학교 교육과학연구소 Educational Science Research Institute, Jeju National Univ., Jeju 63243, Korea

* 교신저자 Corresponding author: Tel: +82-64-754-3280, Fax: +82-64-725-4902, E-mail: sciedu@jejunu.ac.kr

obtained. Among those three haplotypes contained the *COI* sequences from Northeast Asia including eastern Russia, Mongolia and South Korea. On the other hand, the other five haplotypes contained the *COI* sequences reported from Central Asia, Middle East, western Russia and European countries. The *COI* sequences from Jeju-do Province were located on three haplotypes (CF01-CF03) belonging to Northeast Asian rook lineages. The NJ tree showed the distinct branch patterns suggesting two different maternal lineages of *C. frugilegus*, which proposed as two parapatric subspecies, *C. f. frugilegus* (Western) and *C. f. pastinator* (Eastern). These findings using DNA barcoding approaches will be contributed to provide the information about avian fauna for understanding the genetic structure of maternal lineage, phylogenetic relationship and their molecular ecology.

KEY WORDS: MATERNAL LINEAGE, COI, GENETIC STRUCTURE, MOLECULAR ECOLOGY

서론

까마귀과(Corvidae)는 전 세계 130종이 알려져 있으며, 우리나라에는 11종이 기록되어있다(Lee *et al.*, 2014). 떼까마귀(*Corvus frugilegus*)는 구북구 북위 30-60°지역에서 발견되며, 온대지역에서 월동하는 겨울철새로, 농경지나 개활지에서 수십-수천 마리씩 무리를 형성하기도 한다(Lee and Lee, 2003; Haring *et al.*, 2007; Kim, 2011; Lee *et al.*, 2014). 현재까지 떼까마귀는 중앙아시아와 유럽에 걸쳐 분포하는 *C. f. frugilegus*와 중국, 몽고, 러시아의 연해주 등 동북아시아에 분포하는 *C. f. pastinator* 등 2아종으로 구분되는 것으로 보고되었다(Haring *et al.*, 2007, 2012; Jønsson *et al.*, 2012).

우리나라에는 매년 5-6만 개체 정도의 떼까마귀가 월동하며, 설악산, 제주도를 포함한 전국적으로 발견되고(Rhim *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2014), 울산 태화강 주변에서 대규모 월동집단도 관찰되고 있다(Lee and Lee, 2003; Lee, 2005; Kim, 2012). 제주도에는 까마귀, 큰부리까마귀, 떼까마귀, 갈까마귀 등 까마귀류 4종이 기록되어 있으며, 이 중 큰부리까마귀와 까마귀는 한라산을 중심으로 서식하는 텃새이며, 떼까마귀와 갈까마귀는 겨울철새로, 중산간 지역과 저지대 농경지, 목장, 초지에서 관찰된다(Kim, 2006; Kim *et al.*, 2012). 제주도에 도래하는 떼까마귀는 제주도 동부지역에서 몇몇의 대규모 집단으로 관찰되며, 중산간 지역뿐만 아니라, 해안, 인근 도서에서도 발견된다. 이들의 먹이활동과정에서 경작지 농작물에 대한 피해가 보고되고 있으며, 이에 따라 관리대상종 지정 요구와 수렵에 의해 개체 수 조절요구 등 사회적 문제를 야기하고 있다(Kim, 2006).

미토콘드리아는 포유동물의 거의 모든 세포에서 발견되고, 세포 내에 많은 수의 사본이 존재하며, 미토콘드리아

아 DNA(mtDNA)는 핵 DNA 보다 변이율이 높고 진화속도가 빨라 종의 유전적 다양성 분석에 이용되고 있다(Brown *et al.*, 1979; Clayton, 1982; Haring *et al.*, 2007; Prusak *et al.*, 2011). 최근 조류의 mtDNA *cytochrome c oxidase subunit I(COI)* 유전자 서열은 DNA barcoding 분자로 제안된 이후, 조류 종의 분자적 동정, 유전적 모계와 계통 유연관계 분석과 집단유전학 분석에 많이 이용되었다(Herbert *et al.*, 2004; Yoo *et al.*, 2006; Kerr *et al.*, 2007, 2009; Campagna *et al.*, 2010; Huang and Ke, 2014). 떼까마귀에 대한 연구는 지능이 뛰어난 종의 특성을 이용한 인지능력과 사회적 협력활동, 행동양식에 대한 연구들(Seed *et al.*, 2006, 2008; Bugnyar, 2008; Schmidt *et al.*, 2011)과, 감염성 질병, 항생제 내성에 대한 연구 등이 진행되었으며(Loncaric *et al.*, 2013; Oravcova *et al.*, 2013; Nourani *et al.*, 2014), 까마귀과 전반에 대한 형태, 유전적 다양성에 근거한 종간 비교와 생물지리학적 분포에 대한 연구 보고 수준이다(Haring *et al.*, 2007; Jønsson *et al.*, 2012).

제주도에 도래하는 떼까마귀 집단에 대해 DNA barcoding 분자인 mtDNA *COI* 유전자의 다형성을 바탕으로 분자유전학적 종 동정, 집단별 모계 계통 구조 분석을 통해 제주도 본섬과 우도에 도래하는 집단 사이의 상관관계를 조사하고, 한반도 및 타 지역에서 보고된 집단과의 계통 유연관계를 조사하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

연구방법

1. 연구 대상지역

본 연구는 2011년 2월부터 2015년 2월까지 제주도 내 제주시 아라동, 제주시 조천읍 교래리, 구좌읍 송당리와 행원리, 제주시 우도면 등에서 발견된 떼까마귀 집단을 대상

으로 수행하였다(Figure 1).

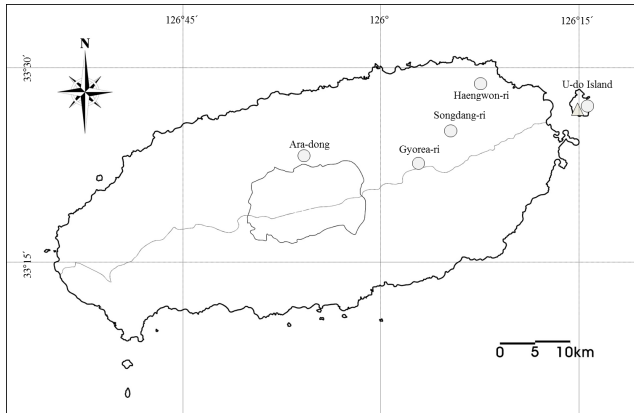


Figure 1. Map of collection sites in Jeju-do Province. Circle and triangle indicate the collection sites for feathers and postmortems of corvid, respectively

2. 분석 시료 수집과 DNA 분리

제주시 우도면 우도에서 포획된 떼까마귀 16개체에서 각각 분리한 근육을 제공받았다. 또한 우도봉 일대(n=6), 제주시 아라동(n=8), 제주시 조천읍 교래리(n=8), 제주시 구좌읍 송당리(n=6)와 행원리(n=11) 일대의 도로, 야초지, 오름, 농경지 등에서 까마귀류의 날개깃으로 추정되는 깃털을 수

집하였다(Figure 1). 동일한 개체에서 탈락된 깃털의 반복적인 수집을 피하기 위해 떼까마귀 집단이 100개체 이상 관찰되는 곳을 찾은 후, 10m 이상 떨어진 곳에서 크기가 비슷한 까마귀류의 날개깃을 1개씩 수집하였다. 수집한 깃털에 대한 동일개체 유래 여부는 조류연구 전문가 2인에 의해 상태와 분리시점을 판독하였고, 동일개체로 추정되는 시료들은 모두 분석에서 제외하였다. 근육과 깃털에서의 DNA 분리는 Wizard Genomic DNA Purification Kit(Promega, USA)를 이용하였다.

3. 미토콘드리아 DNA COI 절편의 PCR 증폭

조류에서 DNA barcoding 분자로 제안된 COI 유전자 절편(694-bp)을 증폭하기 위해 Herbert *et al.*(2004)과 Kerr *et al.*(2009)이 보고한 universal primer들을 이용하였다. PCR 방법은 Kerr *et al.*(2009)의 방법에 준하여 수행하였고, Maxime PCR Premix(iNtRON Biotechnology, Korea)로 반응한 후, Thermal Cycler 2720(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 증폭하였다. PCR 산물은 1% agarose gel 상에서 전개하여 확인하고, 증폭산물은 정제 후 DNA 서열 결정에 이용하였다.

4. 염기서열 결정 및 계통 유전학적 분석

증폭된 PCR 산물은 QIAexII Gel Extraction Kit(Qiagen, USA)를 이용하여 정제하고, PCR primer를 이용하여 DYEnamic

Table 1. Accession numbers of COI sequences used in this study

Species	Subspecies	COI		
		Acc. no.	Locality	Reference
<i>C. frugilegus</i>	<i>C. f. frugilegus</i>	KT257185-87	South Korea	This study
		GQ481638	Mongolia	Kerr <i>et al.</i> , 2009
		GQ481640	Eastern Russia	Kerr <i>et al.</i> , 2009
	<i>C. f. pastinator</i>	JF498770-71, JF498773	Iraq	Kerr and Dove, 2011
		JF498772	Iran	Kerr and Dove, 2011
		GQ481637	Kazakhstan	Kerr <i>et al.</i> , 2009
		JN801302	England	Stoeckle, 2011
		GU571352	Norway	Johnsen <i>et al.</i> , 2011
		GU571840-41	Sweden	Johnsen <i>et al.</i> , 2011
		GQ481639	Western Russia	Kerr <i>et al.</i> , 2009
<i>C. corone</i>		GU571838	Sweden	Johnsen <i>et al.</i> , 2011
<i>C. corax</i>		GU571348	Norway	Johnsen <i>et al.</i> , 2011
<i>C. macrorhynchus</i>		AB842678	Tokyo, Japan	Saitoh <i>et al.</i> , 2015
<i>C. splendens</i>		GU326327	Sri Lanka	Wedage <i>et al.</i> , 2011
<i>C. dauuricus</i>		JQ174547	Mongolia	Schindel <i>et al.</i> , 2011
<i>Pica pica</i>		HM185339	China	Dai <i>et al.</i> , 2010
<i>Dicrurus macroceros</i>		KJ442635	India	Oommen <i>et al.</i> , 2015

ET-Dye Terminator Kit(GE Healthcare, USA)로 dye-termination 반응을 수행한 후, MegaBase1000(Amersham Pharmacia, USA)을 이용하여 염기서열을 결정하였다. 결정된 서열을 육안으로 확인한 후, BLAST 검색을 통해 NCBI database(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)에 보고된 서열과 비교하였다. 연구를 통해 얻은 3개의 haplotype 서열들은 NCBI database 상에 등록하였다(Acc. nos KT257185-87). 결정된 COI 유전자 서열들은 기존에 NCBI에 보고된 서열들을 모두 수집한 후, 동일한 영역에 해당하는 660-bp의 서열들을 CLUSTAL W program(Larkin *et al.*, 2007)을 이용하여 다중정렬을 수행하였다. 정렬된 서열의 haplotype 결정과 집단별, 집단 간 다양도(diversity)는 DnaSP v5(Librado and Rozas, 2009)를 이용하여 결정하였다. 계통 유연관계의 분석은 MEGA 6.0. program(Tamura *et al.*, 2013)을 이용하였다. 염기서열 사이의 거리지수는 best model test를 통해 선정된 Tajima-Nei's method (Tajima and Nei, 1984)를 이용하였다. 변이 지점에 대한 비율 변이는 gamma 분포를 모델로 하였다. 계통수 작성은 떼까마귀에서 발견된 8개의 haplotype 서열들과 근연종인 큰부리까마귀(*C. macrorhynchus*), 까마귀(*C. corone*), 큰까마귀(*C. corax*), 집까마귀(*C. splendens*), 갈까마귀(*C. monedula*) 등을 포함하였고, 공통조상에서 분지되는 양상의 확인을 위해 까마귀과 내 근연 속인 까치(*Pica pica*)와 검은바람까마귀(*Dicrurus macrocercus*)의 COI 서열을 outgroup rooting에 이용하였다(Table 1). 산출된 거리지수에 대한 1,000회 bootstrap하여 neighbor-joining tree를 작성하였다.

결과 및 고찰

1. COI 유전자 서열을 이용한 분자 종 동정

제주도 본섬과 우도에서 수집된 까마귀류의 깃털과 우도에서 포획된 떼까마귀 사체의 COI 서열에 대한 유사도 검

색에서, 전체 55개 시료 중에서 PCR 증폭에 실패한 7개 시료를 제외한 48개 COI 서열들은 떼까마귀(n=41), 큰부리까마귀(n=2), 까마귀(n=1), 까치(n=4) 등으로 확인되었다(Table 2). 현재 제주도에서 보고된 까마귀과(Family Corvidae) 동물은 큰부리까마귀, 떼까마귀, 까마귀, 까치, 갈까마귀(*C. dauuricus*), 어치(*Garrulus gladiator*) 등 총 6종이나(Kim, 2006; Kim *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2014), 본 연구에서 갈까마귀와 어치의 COI 서열은 확인되지 않았다. 이 결과는 이들 종들의 분포에 대한 간접적인 자료이자 유전자원이 될 수 있을 것이다. DNA barcoding 분자에 대한 연구 결과는 종의 동정과 조류상에 대한 정보를 제공함으로써 생태학과 계통분류의 자료로 활용될 수 있으며, 미기록종의 방문이나 서식 확인 등에 대한 분자적 증거로 활용되고 있다(Hebert *et al.*, 2004; Kerr *et al.*, 2007, 2009; Dove *et al.*, 2008; Oh *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2012; Huang and Ke, 2014; Jin *et al.*, 2014). 본 연구의 결과 역시 기존의 제주도 조류상 연구(Kim, 2006; Kim *et al.*, 2012)에 모두 보고되었지만, 이들 4종이 겨울철에 제주도에 도래하여 활동하고 있다는 분자적인 증거로써 학술적 자료가 될 것으로 기대된다.

2. 제주도 떼까마귀 집단의 COI 서열 다형성과 지역별 분포

제주도 떼까마귀 전체 41개 서열은 3가지 haplotype (J01-J03)으로 구분되었다(Table 3). J01은 32개의 서열을 포함하였고, 모든 장소에서 가장 높은 빈도를 나타내었다. J02는 우도와 교래리, 송당리, 행원리, J03은 우도, 아라동, 교래리, 행원리의 서열들을 포함하고 있었다. 우도 집단이 3가지 haplotype을 모두 갖는 것으로 보아, 모계의 다양성이 가장 높다고 할 수 있으나 제주도 본섬 내 시료들을 함께

Table 2. Species identification of the samples through COI gene sequence

Collection site		No. of samples	Species of maximum similar sequence				Samples failed in PCR
			<i>C. frugilegus</i>	<i>C. macrorhynchus</i>	<i>C. corone</i>	<i>Pica pica</i>	
Postmortem	U-do	16	16	0	0	0	0
Feather	U-do	6	2	0	1	2	1
	Ara-dong	8	4	2	0	1	1
	Gyora-ri	8	6	0	0	0	2
	Songdang-ri	6	5	0	0	1	0
	Haengwon-ri	11	8	0	0	0	3
Total		55	41	2	1	4	7

Table 3. Three types of haplotype and the number each type of haplotype observed in this study

Haplotype	No. of sequences	U-do (n=18)	Ara-dong (n=4)	Gyora-ri (n=6)	Songdang-ri (n=5)	Haengwon-ri (n=8)
J01	32	15	3	4	4	6
J02	5	2		1	1	1
J03	4	1	1	1		1

분석했을 때, 제주도 본섬과 우도 집단의 모계는 특별한 차이가 없는 동일한 계통들로 구성된 집단임을 알 수 있다. 다시 말해 적어도 3가지 이상의 다양한 모계 계통으로 구성된 떼까마귀 집단이 제주도에 도래하며, 이들 중 일부가 우도에까지 이르거나, 제주도 본섬과 우도 사이를 왕래하고 있다고 추정할 수 있다.

3. 떼까마귀 COI haplotype의 국제적 분포와 계통 유연관계

본 연구에서 결정된 서열과 NCBI databse에 보고된 서열들을 이용하여 haplotype의 구성과 계통 유연관계를 분석하였다. Haplotype의 국제적인 분포는 Table 4에 나타내었다. 전체 COI 서열은 8개(CF01-CF08)의 haplotype으로 구분되었으며, 제주도 집단의 J01-J03은 CF01-CF03에 위치하였다. CF01는 제주도, 몽골, 러시아 동부의 서열들을 포함하였고, CF02와 CF03은 제주도 집단의 서열들만을 포함하였다. CF04는 이란과 이라크, CF05는 이라크와 카자흐스탄 등 중동과 중앙아시아 지역의 서열들, CF06-CF08는 러시아 서부, 스웨덴, 노르웨이, 영국 등에서 보고된 서열들을 포함하였다.

Table 4. Distribution of COI haplotypes in rooks

Haplotype	No. of sequences	Country								
		KOR	MGL	RUS**	KAZ	IRQ	IRI	ENG	SWE	NOR
CF01	34	32 (J01)	1	1						
CF02	5	5 (J02)								
CF03	4	4 (J03)								
CF04	5					4	1			
CF05	3				1	2				
CF06	2			1					1	
CF07	1									1
CF08	2							1	1	

*: KOR, South Korea; MGL, Mongolia; RUS, Russia; KAZ, Kazakhstan; IRQ, Iraq; IRI, Iran, ENG, England; SWE, Sweden; NOR, Norway

** : Two COI sequences were determined by Kerr *et al.* (2009) from eastern location (Primorskiy Kray, Spasskiy Rayon, Gayvoron) and western location (Moskovskaya Oblast, Beloomut) of Russia.

Table 5. Pair-wise genetic distances between COI gene sequences in rooks

		CF01	CF02	CF03	CF08	CF06	CF05	CF04	CF07
Group A	CF01	-							
	CF02	0.0017	-						
	CF03	0.0017	0.0033	-					
Group B	CF08	0.0290	0.0307	0.0272	-				
	CF06	0.0325	0.0342	0.0307	0.0033	-			
	CF05	0.0307	0.0325	0.0290	0.0017	0.0017	-		
	CF04	0.0325	0.0342	0.0307	0.0033	0.0033	0.0017	-	
	CF07	0.0325	0.0342	0.0307	0.0033	0.0033	0.0017	0.0033	-

Table 5는 떼까마귀 *COI* 서열에서 결정된 haplotype 유전적 거리지수를 나타낸 것이다. Group A에 속하는 CF01과 CF02, CF03 사이의 거리지수는 0.0017로, CF02와 CF03의 거리지수는 0.0033으로 나타나 이들이 매우 근연의 관계임을 보여주었다. 또한 group B 내에서도 0.0017-0.0033의 거리지수를 보여, CF04-CF08 역시 근연의 관계임을 보여주었다. 반면 group A와 B 사이에서는 0.010 이상의 유전적 거리지수 수준을 나타내어, group 사이의 유연관계가 멀다는 점을 알 수 있었다. 또한 이들 두 group에 대해서 각각의 group 내 다양도는 0.0023이었으나, group A와 B 사이의 다양도는 0.0148을 나타내었다. 이상의 결과에서, group A에 속하는 한국, 몽골, 러시아 동부 등 동북아시아 지역의 떼까마귀 집단과 group B에 속하는 중동, 중앙아시아-유럽의 떼까마귀 집단은 서로 확연히 구분되는 집단임을 보여주는 결과라 하겠다.

계통수 상에서 group A와 group B에 포함되는 *COI* 서열

들이 지리적 분포의 차이에 따른 경향성을 나타냄을 보여주었다. 비행능력을 보유한 조류의 지리적 격리는 큰 의미가 없는 것으로 보이나, 갈매기나 까마귀류를 비롯한 많은 조류 중에서 계통 간 생물지리학적 차이가 있다는 연구결과들이 보고되었다(Liebers *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2003; Haring *et al.*, 2007, 2012). Lee *et al.*(2003)은 까치속(*Pica*) 종들이 아종, 또는 종 수준에서 지리적 분포 범위의 차이를 보인다고 보고하였다. Haring *et al.*(2007, 2012)은 구북구의 까마귀류에 대한 계통지리학적 분포 연구에서, 까마귀, 떼까마귀, 까치 등은 적어도 5가지 이상의 아종(subspecies) 또는 자매종(sister species)으로 구분되며, 이들은 다시 동아시아와 중앙아시아-유럽, 또는 동아시아와 유럽 집단으로 구분됨을 제안하였다. 특히, 떼까마귀의 두 아종(*C. f. frugilegus*와 *C. f. pastinator*)은 구북구의 동-서 집단으로 구분되며(Haring *et al.*, 2007, 2012; Jönsson *et al.*, 2012), 축소적 종분화(parapatric speciation)과정으로 추정하였다

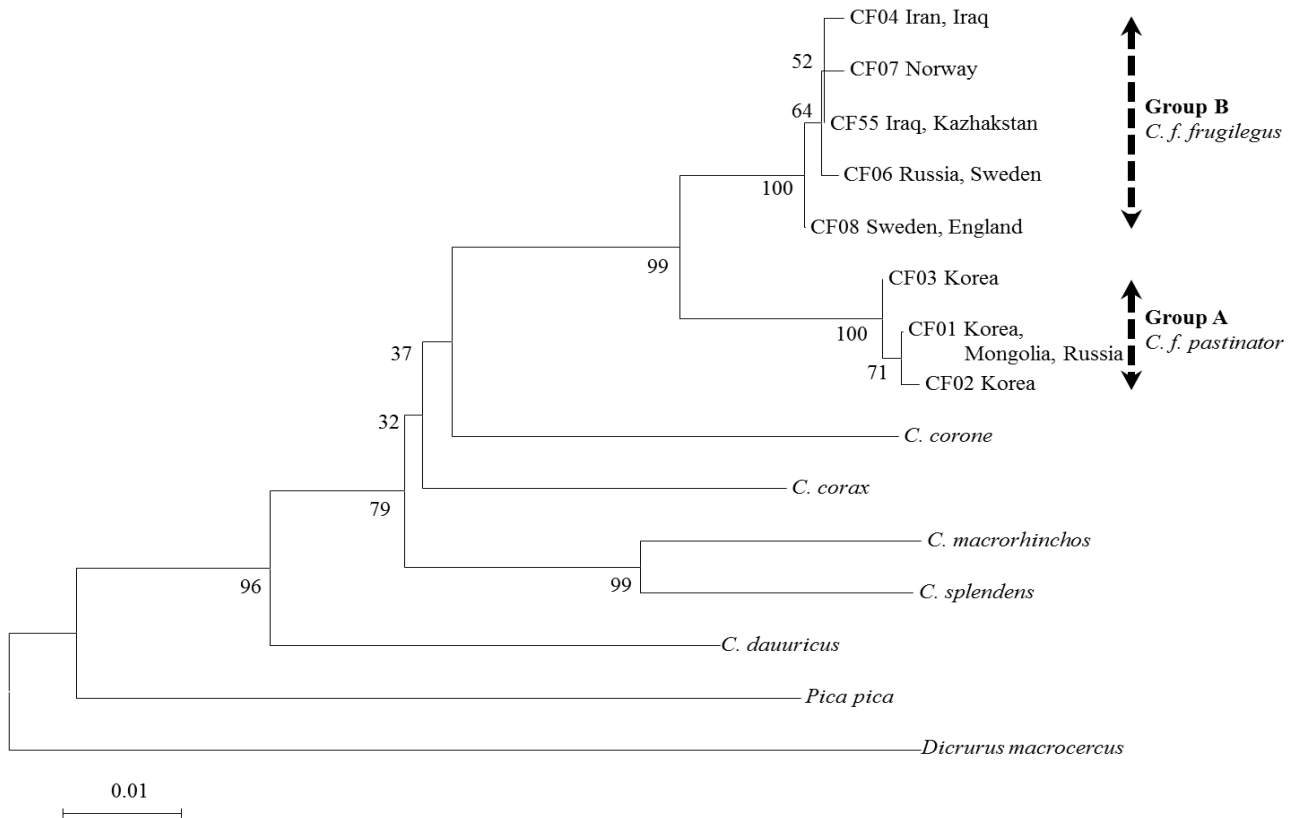


Figure 2. NJ tree based on the genetic distance using the Tajima-Nei's method (Tajima and Nei, 1984) for the *COI* gene sequences of the rooks and their related species. The *COI* sequences of *P. pica* and *D. macrocercus* were used for out-group rooting. Two *COI* sequences, which were determined by Kerr *et al.* (2009) from eastern Russia (Primorskiy Krai) of Group A and western Russia (Moskovskaya) of Group B, were used for phylogenetic analysis. Numbers below the nodes represent bootstrap support values calculated from 1,000 replications with neighbor-joining search

(Haring *et al.*, 2007).

NJ tree 상에서 유럽과 아시아 떼까마귀의 분지 양상이 Haring *et al.*(2007, 2012)의 결과와 유사하나, 분지된 haplotype의 수집장소는 다소 다른 결과를 보였다. 즉, 몽골, 러시아 동부와 우리나라의 개체들이 하나의 group A에서, 영국, 스웨덴, 노르웨이, 러시아 서부 개체들이 group B에서 발견되는 것은 기존의 보고와 일치하나, 이란, 이라크, 카자흐스탄 등 중동지역 및 중앙아시아의 개체들도 서부 집단인 group B에서 발견되기 때문에, Haring *et al.*(2007)에서 제안된 동-서 집단의 지리적 경계(Altai)에 대한 설정은 재고되어야 할 것으로 판단된다. 동-서 집단 사이의 유전자 교환 상태를 확인하기 위해서는 동-서 경계로 시료에 대한 추가 연구가 진행되어야 할 것이다.

4. DNA barcoding 기법의 응용과 까마귀류 연구

DNA barcoding 분자에 대한 연구를 통하여 구대륙과 신대륙 조류의 계통 유연관계의 분석, 지역적 조류상의 확립, 미기록종에 대한 동정, 항공기 조류 충돌 등 다양한 연구 결과들이 보고되고 있다(Hebert *et al.*, 2004; Kerr *et al.*, 2007, 2009; Dove *et al.*, 2008; Campagna *et al.*, 2010; Huang and Ke, 2014). 우리나라의 조류 연구 분야에서는 인공소상을 이용하는 조류, 폐사체나 미기록종의 동정, 조류 전염성질병 연구 등 다양한 분야에서 연구결과들이 보고되고 있다(Yoo *et al.*, 2006; Chung *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2010; Oh *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2011; Kim, 2012; Kwon *et al.*, 2012; Jin *et al.*, 2014). 본 연구는 DNA barcoding 분자인 COI 서열을 이용하여 제주도에 도래하는 떼까마귀에 대한 분자 종 동정을 수행하였고, 유전적 모계 계통구조에 대한 해석을 통해 우도와 제주도 본섬의 집단들이 별개의 집단이 아니라 동일한 계통 집단이며, 계통유전학적으로는 동아시아 아종인 *C. f. pastinator*의 한 집단으로 확인되었다. 이와 같이 조류 DNA barcoding 분자에 대한 분석을 통해 확보된 정보는 종의 동정, 집단의 유전적 구조 분석, 진화과정에 대한 해석과 생물지리학적 상관관계 분석 등 다양한 분야에서 유용한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다. 뿐만 아니라 우리나라 조류의 연구에 있어 DNA barcoding 분자의 정보는 조류상의 정립, 고유종의 특성 분석, 멸종위기종의 국제적 관리, 조류인플루엔자를 포함한 질병연구 등 다양한 조류 관련 연구에 기여할 것으로 기대된다.

REFERENCES

Brown, W.M., M.Jr. George and A.C. Wilson(1979) Rapid evolu-

tion of animal mitochondrial DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 76(4): 1967-1971.

Bugnyar, T.(2008) Animal cognition: rooks team up to solve a problem. Current Biology 18(12): R530-R532.

Campagna, L., D.A. Lijtmaer, K.C. Kerr, A.S. Barreira, P.D. Hebert, S.C. Loughheed and P.L. Tubaro(2010) DNA barcodes provide new evidence of a recent radiation in the genus *Sporophila* (Aves: Passeriformes). Molecular Ecology Resources 10(3): 449-458.

Clayton, D.A.(1982) Replication of animal mitochondrial DNA. Cell 28: 693-705.

Chung, I.H., H.S. Yoo, J.Y. Eah, H.K. Yoon, J.W. Jung, S.Y. Hwang and C.B. Kim(2010) A DNA microarray for identification of selected Korean birds based on mitochondrial cytochrome c oxidase I gene sequences. Molecules and Cells 30(4):295-301.

Dai, C., K. Chen, R. Zhang, X. Yang, Z. Yin, H. Tian, Z. Zhang, Y. Hu and F. Lei(2010) Molecular phylogenetic analysis among species of Paridae, Remizidae and Aegithalos based on mtDNA sequences of COI and *cyt b*. Chinese Birds 1(2): 112-123.

Dove, C.J., N.C. Rotzel, M. Hecker and L.A. Weigt(2008) Using DNA barcodes to identify bird species involoved in birdstrikes. The Journal of Wildlife Management 72(5): 1231-1236.

Haring, E., A. Gamauf and A. Kryukov(2007) Phylogeographic patterns in widespread corvid birds. Molecular Phylogenetics and Evolution 45(3): 840-862.

Haring, E., B. Däubel, W. Pinsker, A. Kryukov and A. Gamauf(2012) Genetic divergences and intraspecific variation in corvids of the genus *Corvus* (Aves: Passeriformes: Corvidae)—a first survey based on museum specimens. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research 50(3): 230-246.

Hebert, P.D.N., M.Y. Stoweckle, T.S. Zemplak and C.M. Francis(2004) Identification of birds through DNA barcodes. PLoS Biology 2: 1657-1663.

Huang, Z.H. and D.H. Ke(2014) DNA barcoding and evolutionary relationships of the Phasianidae family in China. Genetics and Molecular Research 13(3): 7411-7419.

Jin, S.D., I.H. Paik, S.Y. Lee, G.S. Han, J.P. Yu and W.K. Paek(2014) DNA barcoding of Raptor carcass collected in the Paju city, Korea. Korean Journal of Environment and Ecology 28(5): 523-530. (in Korean and English abstract)

Johnsen, A., E. Rindal, P.G.P. Ericson, D. Zuccon, K.C.R. Kerr, M.Y. Stoeckle and J.T. Lifjeld(2011). DNA barcoding of Scandinavian birds reveals divergent lineages in trans-Atlantic species. (unpublished data)

Jønsson, K.A., P.H. Fabre and M. Irestedt(2012) Brains, tools, innovation and biogeography in crows and ravens. BMC Evolutionary Biology 12: 72.

- Kerr, K.C.R., D.A. Lijtmaer, A.S. Barreira, P.D.N. Heberts and P.L. Tubaro(2009) Probing evolutionary patterns in neotropical birds through DNA barcodes. *PLoS ONE* 4: e3479.
- Kerr, K.C.R., M.Y. Stoweckle, C.J. Dove, L.A. Weigt, C.M. Francis and P.D.N. Hebert(2007) Comparative DNA barcode coverage of North American birds. *Molecular Ecology Notes* 7: 535-543.
- Kerr, K.C.R. and C.J. Dove(2011) Public data release of DNA barcodes for birds of Iraq, USNM. (unpublished data)
- Kerr, K.C., S.M. Birks, M.V. Kalyakin, Y.A. Red'kin, E.A. Koblik and P.D. Hebert(2009). Filling the gap - *COI* barcode resolution in eastern Palearctic birds. *Frontiers in Zoology* 6: 29.
- Kim, H.J., C.W. Kang, S.N. Park, H.M. Kang, N.J. Ji, E.M. Kim and J.H. Kim(2012) Identification of Fujian Niltava *Niltava davidi* La Touche using Morphological Characteristics and DNA Barcode. *Korean Journal of Ornithology* 19(2): 127-131. (in Korean and English abstract)
- Kim, S.S.(2012) Behavior Changes of the Migration Birds Habitating at the Taehwa River in Ulsan by the Climatic Conditions. Ph. D. Dissertation, Univ. of Kyungpook, Daegu, 86pp. (in Korean and English abstract)
- Kim, W.B.(2006) Bird fauna of Jeju Island. In *Animals in Mt. Halla. Jeju-do. Gak*, pp. 75-206. (in Korean)
- Kim, W.B., Y.H. Kim and H.S. Oh(2011) A Study about Checklist Research of the Birds of Jeju Island. *Korean Journal of Ornithology* 18(1): 93-113. (in Korean and English abstract)
- Kwon, Y.S., J.H. Kim, J.C. Choe and Y.C. Park(2012) Low resolution of mitochondrial *COI* barcodes for identifying species of the genus *Larus* (Charadriiformes: Laridae). *Mitochondrial DNA* 23(2): 157-166.
- Larkin, M.A., G. Blackshields, N.P. Brown, R. Chenna, P.A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I.M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J.D. Thompson, T.J. Gibson and D.G. Higgins(2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23(21): 2947-2948.
- Lee, D.H., H.J. Lee, Y.N. Lee, Y.J. Lee, O.M. Jeong, H.M. Kang, M.C. Kim, J.S. Kwon, J.H. Kwon, J.B. Lee, S.Y. Park, I.S. Choi and C.S. Song(2010) Application of DNA barcoding technique in avian influenza virus surveillance of wild bird habitats in Korea and Mongolia. *Avian Diseases* 54(1 Suppl): 677-681.
- Lee, J.N.(2005) Winter bird monitoring of lower Taehwa river in the Ulsan city. *Journal of Korean Wetlands Society* 7: 81-88. (in Korean and English abstract)
- Lee, J.N. and S.W. Lee(2003) As of Migratory Birds on the lower of Taehwa River, Ulsan. *Korean Journal of Ornithology* 10(2): 87-95. (in Korean and English abstract)
- Lee, S., C.S. Parr, Y. Hwang, D.P. Mindell and J.C. Choe(2003) Phylogeny of magpies (genus *Pica*) inferred from mtDNA data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29(2): 250-257.
- Lee, W.S., T.H. Ku and J.Y. Park(2014) A field guide to the Birds of Korea. LG Evergreen Foundation, Seoul, Korea, pp. 332-335. (in Korean)
- Librado, P. and J. Rozas(2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11): 1451-1452.
- Liebers, D., A.J. Helbig and P. De Knijff(2001) Genetic differentiation and phylogeography of gulls in the *Larus cachinnans-fuscus* group (Aves: Charadriiformes). *Molecular Ecology* 10(10): 2447-2462.
- Loncaric, I., G.L. Stalder, K. Mehinagic, R. Rosengarten, F. Hoelzl, F. Knauer and C. Walzer(2013) Comparison of ESBP-and AmpC producing Enterobacteriaceae and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from migratory and resident population of rooks (*Corvus frugilegus*) in Austria. *PLoS ONE* 8(12): e84048.
- Nourani, H., H.A. Dehkordi, S. Soltani and M. Khosravi(2014) First report of hepatic cysticercosis in a rook (*Corvus frugilegus*) (Passeriformes, Corvidae). *Annals of Parasitology* 60(4): 311-313.
- Oh, H.S., S.H. Han, S.Y. Kang, T.J. Kang, B.S. Kim, J.Y. Yi, T.K. Kim, S.G. Park, T.W. Kim and M.H. Chang(2010) Molecular Identification of Nesting-Birds in Artificial Wood Boxes Settled in Mount Halla, Jeju Island. *Korean Journal of Ornithology* 17(3): 127-131. (in Korean and English abstract)
- Oommen, M., R. Nisanth, S.V. Gopalan, S. Kumar and S. George(2015) Development of mitochondrial DNA markers of some common birds of Pathanamthitta district, Kerala, India. (unpublished data)
- Oravcova, V., A. Ghosh, L. Zurek, J. Bardon, S. Guenther, A. Cizek and I. Literak(2013) Vancomycin-resistant enterococci in rooks (*Corvus frugilegus*) wintering throughout Europe. *Environmental Microbiology* 15(2): 548-556.
- Park, H.Y., H.S. Yoo, G. Jung and C.B. Kim(2011) New DNA barcodes for identification of Korean birds. *Genes & Genomics* 33: 91-95.
- Prusak, B., B. Najbar, S. Mitrus, G. Gorecki, U. Rogalla, G. Grzybowski, A. Hryniewicz, R. Wroblewski, R. Bochen and T. Grzybowski(2011) Distribution of mitochondrial haplotypes (*cytb*) in Polish populations of *Emys orbicularis* (L., 1758). *Biologia* 66(5): 893-898.
- Rhim, S.J., W.H. Hur and W.S. Lee(2002) Characteristics of Attitudinal Bird Community in Mt. Seoraksan National Park. *Journal of Ecology and Environment* 25(2): 109-117. (in Korean and English abstract)
- Saitoh, T., N. Sugita, S. Someya, Y. Iwami, S. Kobayashi, H. Kamigaichi, A. Higuchi, S. Asai, Y. Yamamoto and I. Nishiumi(2015) DNA barcoding reveals 24 distinct lineages as cryptic bird species candidates in and around the Japanese Archipelago. *Molecular Ecology Resources* 15 (1), 177-186.

- Schindel, D.E., M.Y. Stoeckle, C. Milensky, M. Trizna, B. Schmidt, C. Gebhard and G. Graves(2011) Project description: DNA barcodes of bird species in the national museum of natural history, smithsonian institution, USA. *Zookeys* 152: 87-92.
- Schmidt, J., C. Scheid, K. Kotschal, T. Bugnyar and C. Schloegl(2011) Gaze direction - a cue for hidden food in rooks (*Corvus frugilegus*)? *Behavioural Processes* 88(2): 88-93.
- Seed, A.M., N.S. Clayton and N.J. Emery(2008) Cooperative problem solving in rooks (*Corvus frugilegus*). *Proceedings of The Royal Society B* 275: 1421-1429.
- Seed, A.M., S. Tebbich, N.J. Emery, N.S. Clayton(2006) Investigating physical cognition in rooks, *Corvus frugilegus*. *Current Biology* 16(7): 697-701.
- Stoeckle, M.Y.(2011) All birds barcoding initiative. (unpublished data)
- Tajima, F. and M. Nei(1984) Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Molecular Biology and Evolution* 1(3): 269-285.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar(2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30(12): 2725-2729.
- Wedage, I.R., D.K. Weerakoon, P.N. Dayawansa, S.W. Kotagama, C.D. Dangalle and N.D. Fernandopulle(2011) Pioneer effort of DNA barcoding birds of Sri Lanka. (unpublished data)
- Yoo, H.S., J. Eah, J.S. Kim, Y. Kim, M. Min, W.K. Paek, H. Lee and C. Kim(2006) DNA barcoding Korean birds. *Molecules and Cells* 22(3): 323-327.

Appendix 1. Multiple alignments of the *COI* gene sequences of eight haplotypes in rooks

```

CF01 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
CF02 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
CF03 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
CF04 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
CF05 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
CF06 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
CF07 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
CF08 CTAATCTTCGGAGCATGAGCCGGAATAGTAGGTACCGCCCTAAGCCTCCTTATCCGAGCAGAACTAGGCCAACCCAGGTGCTCTGCTAGGAGACGACCAAAATTTACAATGTAATCGTCACA
*****

CF01 GCTCATGCCTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
CF02 GCTCATGCCTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
CF03 GCTCATGCCTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
CF04 GCCCATGCTTTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
CF05 GCCCATGCTTTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
CF06 GCCCATGCTTTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
CF07 GCCCATGCTTTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
CF08 GCCCATGCTTTTCGTCATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATCATAATCGGAGGATTTGGAACTGACTAGTTCCTCTAATAAATGGTGGCCCGAGATATAGCATTCCCAGGAATAACAAC
**

CF01 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCCCATGCT
CF02 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCCCATGCT
CF03 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCCCATGCT
CF04 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCTCATGCT
CF05 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCTCATGCT
CF06 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCTCATGCT
CF07 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCTCATGCT
CF08 ATAAGCTTCTGACTCCTCCACCCCTCATTCCCTCCTCCTAGCTTCTTCAACAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAGGATGAACGTGTGTACCCACCCTAGCTGGTAACCTAGCTCATGCT
*****

CF01 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
CF02 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
CF03 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
CF04 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
CF05 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
CF06 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
CF07 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
CF08 GGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTTCTCCTCCTACCTAGCAGGTATTTCCCTCCATCCTAGGGGCAATTAACCTCATTACCACAGCAATCAACATGAAACCTCCAGCTCTATCACAGTAC
*****

CF01 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
CF02 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
CF03 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
CF04 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
CF05 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
CF06 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
CF07 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
CF08 CAAACCCCTCTGTTTCGTATGATCGTACTAATACCAGCAGTACTACTCCTCTCTCTCTACCCGTAATTTGCTGCAGGAATCACTATGCTCCTAACGGACCGAAACCTCAATACCACATTC
*****

CF01 TTTGACCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGA
CF02 TTTGACCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGA
CF03 TTTGACCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGA
CF04 TTTGATCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGC
CF05 TTTGATCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGC
CF06 TTTGATCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGC
CF07 TTTGATCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGA
CF08 TTTGATCCAGCCGAGGAGGAGATCCAGTACTATACCAACATCTATTCTGATTTCTCGGC
*****
    
```