



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

국내에서 구조된 어린 올빼미의 종과  
성감별 및 성장에 따른 혈액화학치의 변동

제주대학교 대학원

수의학과

장진호

2016년 2월

국내에서 구조된 어린 올빼미의 종과  
성감별 및 성장에 따른 혈액화학치의 변동

지도교수 윤 영 민

장 진 호

이 논문을 수의학 석사학위 논문으로 제출함

2015년 12월

장진호의 수의학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 \_\_\_\_\_(인)

위 원 \_\_\_\_\_(인)

위 원 \_\_\_\_\_(인)

제주대학교 대학원

2015년 12월

## Abstract

# Molecular Identification of Species and Sex, Normal Reference of Blood and Plasma Chemistry on Rescued Young Tawny Owl(*Strix aluco*) in Korea

JinHo Jang

(Supervised by Prof. Youngmin Yun)

Department of Veterinary Medicine, Graduate School,  
Jeju National University, Jeju, Korea

Most of rescued young tawny owls are missing individuals in Spring and it is very important to morphologically distinguish another little avian family entity like Strigidae. There are no data of the normal reference of blood and plasma biochemistry values for assessing health status during tawny owls growth process.

In this study, the rescued young tawny owls on May 2014, 2015 are identified species and sex using molecular biological methods and five objects of them are done a blood test and the measurement of body weight per a month until returning of nature on December 2014. There are three types of samples such as 3 objects of young tawny owls from Conservation Genome Resource Bank for Korean Wildlife, 8 objects in 2014 and 1 object in 2015 of the rescued little Tawny owls from Chungnam Wild Animal Rescue Center to be identified conspecific and done sex identification.

Species identification was carried out sequencing analysis of mitochondrial genetic code for Cytochrome c oxidase 1 (*COI*) and sex identification was implemented using the amplification of the Chromo-helicase-DNA binding(*CHD*) gene, and resulted in confirming W(900-1,000 bp) and Z(500-600 bp), and found out 3 males(ZZ) and 6 females(ZW) among 9 individuals.

Tendency of first increase and then decrease of ALPK and Ca after basic blood test and plasma biochemistry examination was observed, and in general PCV, TP, ALB, GLOB were increased and LDH, CK were decreased but AST, GLU, URIC were confirmed to be free from changing during examination. The basic data of healthy individuals through the change of measuring body weight and physical measurement were identified.

These results indicate that the species and the sex identification of rescued young tawny owls, and the normal reference of blood and plasma biochemistry values during growth progress will be useful in the field of clinical evaluation of owl's species save, treatment and protection management as a basic data of species conservation and research.

---

**Key words : Sexing, Species, Hematology, Plasma chemistry, Tawny Owl**

# 목 차

## 영 문 초 록

I. 서	론	.....	1
II. 재료 및 방법	.....	3	
III. 결	과	.....	8
IV. 고	찰	.....	16
V. 결	론	.....	22
VI. 참 고 문 헌	.....	23	

## I. 서 론

올빼미(Owls) 또는 부엉이라고 불리는 종은 7대륙중 6대륙에 존재하며, 가면 올빼미과(Tytonidae)와 올빼미과(Strigidae) 2개의 뚜렷한 과(Family)에서 214 종(Species)으로 나뉘어져 있다. 크기가 13~14 cm (체중 41 g) 정도인 가장 작은 엘프올빼미(Elf Owl, *Microathene whitneyi*)부터 가장 큰 수리부엉이(Eurasian Eagle Owl, *bubo bubo*)는 60~70 cm (체중 1,500 g~4,200 g)로 다양하다. 올빼미는 자연계의 상위 포식자로 생태계 건강을 평가하는데 유용한 생물 지표이다(4).

올빼미(Tawny Owl, *Strix aluco*)는 올빼미목(Strigiformes) 올빼미과(Strigidae)에 속하는 야행성 맹금류이다. 문화재청 천연기념물 제 324-1호로 지정되어있으며 환경부지정 멸종위기 야생동물 II급으로 분류되어 있다. 한반도 전역에서 번식하는 비교적 드문 텃새로 몸길이는 약 35~38 cm이며, 둥근 머리의 중형 올빼미이다. 몸은 회색이며 배와 등의 세로줄무늬에는 가로줄이 섞여있으며, 가슴과 배는 잿빛을 띠는 흰색으로 갈색의 점무늬가 많다. 눈은 검은색이며 구부러진 부리는 푸른빛을 띤 회색이고 발은 잿빛이다. 나무에서 생활하는 흔하지 않은 텃새로, 낮에는 나뭇가지에서 앉아 움직이지 않고 밤에 활동한다. 들쥐, 작은 조류와 곤충류 등을 먹고 산다. 주로 고목에 둥지를 틀기 때문에 산림간벌 및 고목 제거에 의한 서식지 파괴와 훼손으로 개체군 서식에 위협을 받고 있다(1, 2).

야생조류에 대한 관심이 증가함에 따라 동물의 건강 상태를 평가하는 새로운 기준들이 필요하다. 실험실 연구를 통해 얻은 결과를 비교할 수 있는 참고 수치가 필요하지만 단지 소쩍새(Collared Scops Owls, *Otus lettia*) (7), 황조롱이(American Kestrels, *Falco sparverius*) (8), 올빼미(Tawny owl, *Strix aluco*) (9), 말뚝가리(Common buzzards, *Buteo Buteo*) (10) 등에 대한 해외연구만이 혈액검사 및 생화학검사 결과에 대한 참고 수치가 있다. 야생조류의 혈액검사 및 생화학검사 연구는 개체의 영양 및 건강상태를 제공하는 소중한 자료로

임상 치료와 야생동물 보존 및 관리에 있어서 중요하다. 야생조류의 혈액 및 생화학 검사 수치는 건강한 개체에서도 나이, 성별, 계절의 영향을 받는다(19). 자연복귀는 신체검사, 체중변화, 비행평가와 성공적인 먹이활동 등의 건강상태 및 적응능력을 확인한 후에 결정한다(5). 올빼미의 건강상태는 임상증상, 혈액검사와 생화학 검사를 바탕으로 평가하지만 혈액을 통한 평가에 있어서 충분한 기초자료가 없는 실정이다. 특히 어린 개체 성장과정에 따른 혈액 및 혈청 생화학 검사 참고자료는 없다.

일반적 종동정은 형태학적으로 이루어지고 있으나 부정확하거나 불가능한 경우가 많다. 특히 어린 개체의 경우에는 종동정 자체가 어려운 경우가 많다. 깃털이나 조직의 일부만으로 동정을 해야할 경우에는 유전자 검사로 동정한다. 미토콘드리아 유전자에 있는 Cytochrome c oxidase subunit 1 (*CO1*) 그리고 Cytochrome *b* genes 염기서열 분석은 DNA를 바탕으로 하는 가장 일반적이고 정확한 방법이다. 미토콘드리아의 Cytochrome c oxidase 1 (*CO1*)은 동물의 종동정을 위해 사용되기에 DNA barcode라 불리며, 종을 확인하거나 동정하는데 사용되고 있다(6).

성감별은 수의학, 임상의학, 유전학, 생태학, 종보전 및 질병연구 등 다양한 분야에서 활용되고 있다(10). 일부를 제외하고 대부분의 조류에서 외형적 성감별은 불가능하다. 특히 맹금류 중에서 어린 개체는 외형상 성감별이 거의 되지 않는다. 암수간의 크기가 다소 다른 점으로 구분한다(9). 포유류의 성염색체에서 수컷은 XY, 암컷은 XX인 반면 조류에서 수컷은 ZZ, 암컷은 ZW 이다(10). 조류에서 W와 Z 염색체에 있는 Chromo-helicase-DNA binding (*CHD*) 유전자의 증폭(PCR)을 통한 성감별이 가장 간편하고 정확한 방법이다(11). *CHD-W* 유전자는 암컷에게 특정적으로 나타나지만 *CHD-Z* 유전자는 양쪽 성 모두에 나타난다.

본 연구에서 어린 올빼미의 성장과정에 따른 체중, 혈액 및 생화학 검사, 신체계측, 분자생물학적 방법으로 올빼미의 종과 성감별을 조사하여 향후 올빼미 구조 및 관리에 기초자료를 확립하고자 하였다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 대상동물

혈액 및 생화학적 검사를 위해서 2014년 충남야생동물 구조센터(Chungnam Wild Animal Rescue Center)에서 구조된 어린 올빼미(4-5주령) 5개체(공주:2, 서천:1, 예산:1, 청양:1)를 대상으로 하였다(Table 1). 2014년 12월 자연으로 복귀되기 전까지 한 달 간격으로 건강상태를 체크하였으며, 먹이로 초생추(1-day-old chick), 메추리(quail)와 생쥐(mouse)를 격주로 공급하였다.

종동정 및 성감별 검사를 위해서 야생동물유전자원은행(Conservation Genome Resource Bank for Korean Wildlife)에서 암수가 확인된 올빼미 3개체의 시료(cgrb690: female, cgrb799: male, cgrb8236: female)를 분양받아 대조군으로 하였으며, 2014년 충남야생동물구조센터에서 구조 접수된 8개체 및 2015년 구조된 1개체 총 9개체를 대상으로 하였다(Table 1).

### 2. 신체계측

혈액검사 및 생화학검사를 대상으로 한 올빼미 5개체를 구조된 후부터 12월 자연으로 복귀되기 전까지 한 달 간격으로 체중과 국립공원 조류가락지 부착조사 안내서 (Bird Banding Manual) 측정방법에 따라 몸길이(T.L: Total length), 자연날개길이(WL(N): Wing length(natural)), 최대날개길이(WL(M): Wing length(Maximum), 꼬리길이(TAIL: Tail length), 부척길이(TARSUS: Tarsus length), 부리길이(BILL(C): Bill tip to Cere), 부리높이(BD: Bill Depth), 부리폭(BW: Bill Width), 머리길이(HB: Head to bill), 체중(MASS: Body Weight.) 에 대한 신체를 계측하였다(3).

Table 1. Information of Tawny Owl for the Species and the Sex Identification

Sample ID	Sample	Classes of age	Accident cause	Sampling date	Rescue Date & sites (GPS-N/E)	Result
cgrb690	heart	unknow	unknow	2003.1.1	unknow	died
cgrb799	liver	unknow	clash of vehicles	2004.4.22	unknow	died
cgrb8236	heart	unknow	unknow	2008.11.1	unknow	died
2015-0281	blood	juvenile	missing	2015.6.1	2015-06-01 36.49.102/127.12.587	pending
2014-0343	blood	juvenile	missing	2014.11.26	2014-06-18 36.18.448/127.25.031	Permanent disability
2014-0170*	blood	nestling	missing	2014.11.26	2014-05-17 36.08.012/126.41.147	Release
2014-0142	blood	nestling	missing	2014.5.12	2014-05-10 36.20.428/127.17.086	transferred
2014-0140	blood	nestling	missing	2014.5.9	2014-05-09 37.15.222/126.46.019	DOA
2014-0133*	blood	nestling	missing	2014.11.26	2014-05-03 36.39.114/126.52.529	Released
2014-0119*	blood	nestling	missing	2014.11.26	2014-05-05 36.24.284/126.59.515	Released
2014-0118*	blood	nestling	missing	2014.11.26	2014-05-04 36.20.153/127.02.553	Released
2014-0117*	blood	nestling	missing	2014.11.26	2014-05-04 36.21.287/127.12.346	Released

\* : These Tawny Owls were used to examine for Blood and Plasma Chemistry

### 3. 혈액학적 검사

혈액검사 및 생화학 검사를 위해서 금식 12시간이 지난 오후 중에 채혈하였다. 형태학적으로 암수가 구분되지 않아 성별은 고려하지 않았다. 올빼미 5마리 각 개체의 익하정맥(Brachial vein)에서 26G 1 ml 주사기를 사용하여 1 ml씩 채혈후 EDTA-3K와 Lithium heparin 항응고 처리하여 각각 0.5 ml씩 분주하였다. 모든 검사는 2시간 내에 실시하였으며 이동시에는 냉장 보관하였다.

## 1) 혈액검사

혈액검사에는 충전세포용적(packed cell volume, PCV), 혈장 단백질(total plasma protein, TP), 혈당(blood glucose)항목으로, 충전세포용적은 미세모세관(microcapillarytube)내 혈액을 채워서 5분간 고속 원심분리 (12,500-15,000 rpm)하여 측정하였으며, 혈장 단백질은 간이굴절계(Grand index, USA), 혈당은 간이 혈당측정기(Johnson & Johnson Medical Co. Korea)로 측정하였다.

## 2) 생화학검사

생화학검사는 IDEXX VetTest8008 (IDEXXLaboratories Inc, USA)를 사용하여 Albumin (ALB), Alkaline phosphatase (ALKP), Aspartate aminotransferase (AST), Calcium (Ca), Creatine kinase (CK), Globulin (GLOB), Glucose (GLU), Lactate dehydrogenase(LDH), Total protein (TP)과 Uric acid (URIC) 총 10가지 항목을 측정하였다.

## 4. 종동정 및 성감별 검사

혈액검사를 위해서 채취한 혈액중 EDTA-3K tube내 혈액으로 종동정 및 성감별 검사를 하였다. EDTA 항응고 처리된 혈액은 DNA 추출시까지 -25℃보관하였다.

### 1) DNA 추출

Genomic DNA (gDNA)는 EDTA-3K 처리한 10 $\mu$ l 전혈로부터 DNeasy Blood & Tissue Kit (250) (QIAGEN, USA)를 사용하여 추출하였으며, NanoDrop 분광광도계 (ND-1000, Denmark)를 이용하여 추출된 DNA 농도가 200 ng/ $\mu$ l가 되도록 TE buffer로 조정하였다.

## 2) 중합효소연쇄반응(PCR)

야생동물유전자은행에서 받은 시료와 구조된 올빼미 혈액으로 DNA를 추출하고 AccuPower PCR PreMix (Bioneer, Korea) 키트를 사용하여 Thermo cycler (Eppendorf, USA)로 유전자 증폭을 실시하였고 PCR 산물은 100 bp ladder marker (DyneBio, Korea)와 함께 2.5% agarose gel 전기영동하여 확인하였다. 종동정의 경우 Bird F1/R1 Primer set 을 사용하였으며, 성감별은 CHD 1F/1R Primer set 을 사용하였다(Table 2). PCR 조건은 선행 연구를 참고로 하여 수행하였다(Table 3).

Table 2. The sequence of primer sets for the species (Bird) and sex (CHD) identification

Primer	Sequence	Reference
Bird F1	TTCTCCAACCACAAAGACATTGGCAC	Yoo <i>et al</i> , 2006(20)
Bird R1	ACGTGGGAGATAATTCCAAATCCTG	
CHD1F	TATCGTCAGTTTCCTTTTCAGGT	Lee <i>et al</i> , 2010(15)
CHD1R	CCTTTTATTGATCCATCAAGCCT	

Table 3. PCR Condition for the species (Bird) and sex (CHD) identification

Primer		Temperature	Time	Cycle
Bird F1/Bird R1	Initial denaturation	94℃	5min	1
	Denaturation	94℃	45sec	
	Annealing	54℃	1min	35
	Extension	72℃	45sec	
	Final extension	72℃	7min	1
CHD1F/CHD1R	Initial denaturation	95℃	5min	1
	Denaturation	94℃	45sec	
	Annealing	50℃	45sec	30
	Extension	72℃	1min	
	Final extension	72℃	5min	1

### 3) 염기서열 분석

야생동물유전자원은행에서 분양받은 올빼미 3개체의 시료와 충남야생동물구조 센터에서 구조된 9개체를 종동정하기 위해 *CO1* (cytochrome c oxidase 1)의 PCR 산물을 1.2% agarose gel 전기영동한 후 밴드 크기를 확인하였으며, 염기서열은 국내 회사(Macrogen, Korea)에 의뢰 분석하였다.

### 5. 종동정관계 분석

MEGA 6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Tamura K *et al.*) 프로그램을 이용하여 NCBI (National center for Biotechnology information, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)와 BOLD (The Barcode of Life Data Systems, <http://www.boldsystems.org>)에 있는 DB 자료중 칙부엉이 (Long-eared Owl, *Asio otus*), 쇠부엉이 (Short-eared Owl, *Asio flammeus flammeus*), 수리부엉이 (Eagle Owl, *Bubo bubo*), 소쩍새 (Scops Owl, *Otus scops*), 솔부엉이 (Brown Hawk Owl, *Ninox scutulata*)와 매과 (Falconidae) 조류인 매 (Peregrine falcon, *Falco peregrinus*), 황조롱이 (Common Kestrel, *Falco tinnunculus*)의 cytochrome oxidase subunit 1 (*CO1*) gene을 바탕으로 상동관계 분석 및 phylogenetic tree를 작성하였다. ClustalW를 이용하여 multiple alignment를 실시하였으며 neighbor-joining method 이용하여 phylogenetic tree를 제작하였다.

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 체중 및 신체계측 변화

구조된 어린 수컷 올빼미의 경우에 초기 332(g)에서 자연복귀전 568(g)으로 증가하였으며, 암컷의 경우에  $336.5 \pm 26.2$ (g)에서  $751 \pm 17.8$ (g)으로 증가하였다. 외부 신체계측에서 올빼미 몸길이, 자연 날개길이, 최대 날개길이는 암컷이 수컷보다 약간 큰 수치가 측정되었다. 암컷이 수컷에 비해 약 1.3배 체중증가가 관찰되었다(Table 4, 5).

#### 2. 혈액 및 생화학 검사

혈액 및 생화학 검사를 위해서 채혈한 혈액시료에서 지방혈증이나 용혈은 관찰되지 않았다. 한 달 간격으로 어린 올빼미의 혈액검사를 실시하였다.

##### 1) 혈액검사

어린 올빼미의 PCV는 봄에 구조되어 겨울에 자연복귀 전까지 성장하면서 개체에 따라 약간 차이가 있지만 구조 당시  $31.4 \pm 2.73$ (%)이었으나 자연 복귀시에는  $42.8 \pm 3.43$ (%)으로 증가하는 경향이 관찰되었다.

구조된 어린 올빼미에서 간이굴절계를 사용한 총단백질은  $3.92 \pm 0.23$ (g/dl)에서 자연복귀전  $6.74 \pm 0.29$ (g/dl)로 증가하는 것으로 관찰되었으며, 혈당은  $322.0 \pm 0$ (mg/dl)에서  $341.6 \pm 28.35$ (mg/dl)증가하는 것이 관찰되었다(Table 6).

## 2) 생화학 검사

생화학 검사에서 ALKP 활성도와 Ca 수치는 각각  $184.0 \pm 93.69$  (U/L)에서  $28.4 \pm 12.11$  (U/L)으로,  $7.4 \pm 0.66$  (mg/dl)에서  $7.8 \pm 0.06$  (mg/dl) 증가하다 감소하는 경향이 관찰되었다. TP 농도는  $3.0 \pm 0.38$  (g/dl)에서  $4.2 \pm 0.29$  (g/dl)로 증가하고, ALB 농도는  $1.2 \pm 0.16$  (g/dl)에서  $1.4 \pm 0.09$  (g/dl)로 증가하며 GLOB 농도는  $1.8 \pm 0.24$  (g/dl)에서  $2.8 \pm 0.26$  (g/dl) 증가하는 경향이 관찰되었다. LDH 활성도는  $1913.2 \pm 530.16$  (U/L)에서  $571.4 \pm 72.67$  (U/L)으로 증가가, 반면 CK 활성도는  $796.3 \pm 131.12$  (U/L)에서  $208.2 \pm 38.41$  (U/L)으로 감소하는 경향이 관찰되었다. AST, GLU, URIC는 검사 기간동안 큰 변동이 없음을 확인하였다(Table 6).

Table 4. Body weight measurement of released young Tawny Owl (g)

Sample ID	Sex	2014.5.**	2014.5.23	2014.6.5	2014.6.19	2014.7.6	2014.7.30	2014.9.4	2014.9.23	2014.10.27	2014.11.26	2014.12.23
2014-0117	male	332	384	408	468	468	468	446	466	464	490	568
2014-0118	female	378	486	508	574	582	582	566	562	586	764	754
2014-0119	female	314	484	500	582	588	588	558	608	658	768	776
2014-0133	female	314	428	470	526	534	534	508	524	550	740	748
2014-0170	female	340	392	430	520	520	520	514	516	520	678	726



Table 5. Physical measurement of released young Tawny Owl (mm)

ID	DATE	SEX	AGE	TL	WL(N)	WL(M)	TAIL	TARSUS	BILL(C)	BD	BW	HB
2014-0117	14.12.23	Male	JUV	396	269	280	178	55.5	21.5	14.5	10.3	72.2
2014-0118	14.12.23	Female	JUV	401	286	294	181	59.4	21.9	15.1	12.5	74.5
2014-0119	14.12.23	Female	JUV	400	285	297	176	54	22.2	14.6	10.5	73.6
2014-0133	14.12.23	Female	JUV	401	290	295	185	56.6	21.6	15.4	10.4	72.8
2014-0170	14.12.23	Female	JUV	397	277	284	181	57.5	21	15.1	10	72.4

TL: Total length , WL(N): Wing length(natural), WL(M): Wing length(Maximum), TAIL: Tail length, TARSUS: Tarsus length, BILL(C): Bill tip to Cere LE, BD: Bill Depth, BW: Bill Width, HB: Head to bill.

Table 6. Mean value of manual and biochemical examination in young Tawny Owl (Mean±SD) (Max / Min)

Date	Manual			Biochemical examination									
	PCV %	TP g/dl	Glucose mg/dl	Albumin g/dL	ALKP U/L	AST U/L	Calcium mg/dL	CK U/L	Glucose mg/dl	LDH U/L	TP g/dl	Uric Acid mg/dl	Globulin g/dl
2014. 5.**	31.4±2.73 (35/27)	3.9±0.23 (4.3/3.6)	322.0±0 (322/322)	1.2±0.16 (1.4/1)	184.0±93.69 (294/44)	226.2±54.15 (317/170)	7.4±0.66 (8.3/6.4)	796.3±131.12 (918/575)	301.6±41.80 (374/250)	1913.2±530.16 (2800/1359)	3.0±0.38 (3.6/2.6)	10.3±6.69 (20/3.7)	1.8±0.24 (2.2/1.6)
2014. 5.23	32.4±1.62 (35/30)	4.4±0.32 (4.8/4.1)	326.0±15.53 (353/312)	1.1±0.09 (1.2/1)	234.8±48.40 (311/172)	175.0±16.26 (195/149)	8.7±0.16 (8.9/8.4)	830.0±93.70 (998/751)	298.6±15.03 (328/288)	1649.8±221.75 (1974/1343)	2.9±0.22 (3.2/2.5)	12.0±4.31 (20/7.7)	1.8±0.16 (2/1.5)
2014. 6.5	35.8±2.64 (40/33)	5.0±0.36 (5.6/4.6)	319.8±15.04 (343/301)	0.7±0.13 (0.9/0.6)	164.4±56.55 (251/94)	155.2±23.17 (191/129)	8.5±0.20 (8.8/8.2)	474.6±88.81 (624/372)	302.6±17.60 (337/290)	1319.8±408.67 (2043/922)	2.7±0.26 (3.1/2.5)	6.6±1.75 (9.5/4.6)	2.0±0.14 (2.2/1.9)
2014. 6.19	34.2±0.98 (35/33)	4.8±0.44 (5.4/4.2)	366.4±17.30 (398/535)	0.7±0.17 (1/0.5)	99.8±31.92 (140/62)	125.6±18.37 (143/92)	8.5±0.28 (8.8/8.1)	569.6±135.74 (754/396)	321.8±4.53 (327/316)	1389.4±272.75 (1788/1040)	2.8±0.34 (3.2/2.3)	11.7±2.63 (16.8/9.6)	2.1±0.19 (2.3/1.8)
2014. 7.6	37.6±1.74 (39/35)	5.8±0.21 (6/5.5)	309.6±16.16 (338/295)	0.9±0.12 (1/0.7)	46.4±13.03 (70/30)	113.0±12.93 (132/94)	8.6±0.33 (9/8.1)	386.4±106.82 (528/240)	318.0±17.94 (341/292)	846.2±163.83 (1044/654)	3.3±0.26 (3.5/2.8)	16.5±3.35 (20/11.1)	2.3±0.15 (2.5/2.1)
2014. 7.30	38.0±1.67 (40/36)	4.0±0.30 (4.4/3.5)	325.4±29.26 (364/275)	0.9±0.15 (1.1/0.7)	37.6±2.87 (40/32)	120.0±21.22 (145/89)	8.2±0.34 (8.8/7.8)	352.6±26.64 (385/318)	327.2±21.77 (341/284)	1085.0±196.92 (1403/797)	2.9±0.34 (3.4/2.5)	14.8±3.71 (20/10)	2.0±0.19 (2.3/1.8)
2014. 9.4	39.4±2.42 (42/35)	5.4±0.32 (6/5.1)	300.0±10.26 (318/287)	1.3±0.13 (1.5/1.1)	26.0±5.02 (32/19)	125.8±14.51 (148/111)	8.0±0.56 (9.8/7.3)	181.0±32.98 (219/141)	301.2±12.64 (319/284)	551.6±148.81 (801/341)	4.1±0.29 (4.6/3.8)	9.3±1.46 (11.8/7.7)	2.9±0.15 (3.1/2.7)
2014. 9.23	39.0±2.76 (43/35)	5.3±0.20 (5.6/5)	309.2±14.13 (334/294)	1.2±0.10 (1.3/1.1)	26.2±2.14 (30/24)	132.0±16.52 (164/117)	7.7±0.51 (8.1/6.7)	236.4±76.78 (383/165)	303.0±14.18 (321/284)	549.0±109.33 (748/439)	3.8±0.19 (4.1/3.6)	11.8±2.54 (16.5/8.9)	2.6±0.10 (2.8/2.5)
2014. 10.27	39.4±0.80 (40/38)	5.8±0.42 (6.2/5.2)	331.4±26.73 (355/283)	1.2±0.14 (1.4/1)	18.0±3.16 (24/15)	191.4±82.75 (331/119)	7.6±0.19 (7.9/7.4)	291.0±169.62 (604/140)	343.2±16.07 (361/316)	767.2±309.37 (1332/471)	3.8±0.23 (4.1/3.5)	8.7±2.03 (12.4/6.2)	2.6±0.12 (2.8/2.5)
2014. 11.26	42.8±3.43 (48/38)	6.7±0.29 (7.3/6.5)	341.6±28.35 (395/312)	1.4±0.09 (1.5/1.3)	28.4±12.11 (46/17)	187.6±23.28 (216/159)	7.8±0.05 (7.8/7.7)	208.2±38.41 (255/156)	374.4±9.69 (386/359)	571.4±72.67 (666/470)	4.2±0.29 (4.7/3.9)	16.1±2.57 (20/12.2)	2.8±0.26 (3.2/2.5)

\*\* : Rescued date is different

### 3. 종동정 결과

구조된 올빼미(CNWARC) 9개체와 분양 받은 올빼미 2개체의 시료(cgrb690, cgrb799)의 종동정 결과, 노르웨이(GU571634.1)와 이탈리아(KF452084.1) 올빼미 개체와 상동성이 확인되었기에 올빼미(Tawny Owl, *Strix aluco*)로 종동정하였다.

분양받은 나머지 1개체의 시료(cgrb8236)는 노르웨이(GU571637.1), 러시아(GQ482682.1) 및 일본(AB843783.1)의 개체와 상동성이 확인되어 긴점박이 올빼미(Ural Owl, *Strix uralensis*)로 확인이 되었다(Figure 1).



#### 4. 성감별 결과

Agarose gel 전기영동 상에서 W의 밴드 크기는 900–1,000bp, Z는 500–600bp으로 관찰되었다. 야생동물유전자원은행에서 암수가 확인된 올빼미 2개체의 시료(cgrb690: female .cgrb799: male)를 대조군으로 설정하여 암컷(ZW)은 2개 밴드, 수컷(ZZ)은 1개의 밴드를 확인하였다. 충남야생동물구조센터의 9개의 시료중 암컷이 6개체, 수컷이 3개체임을 확인하였다(Figure 2).

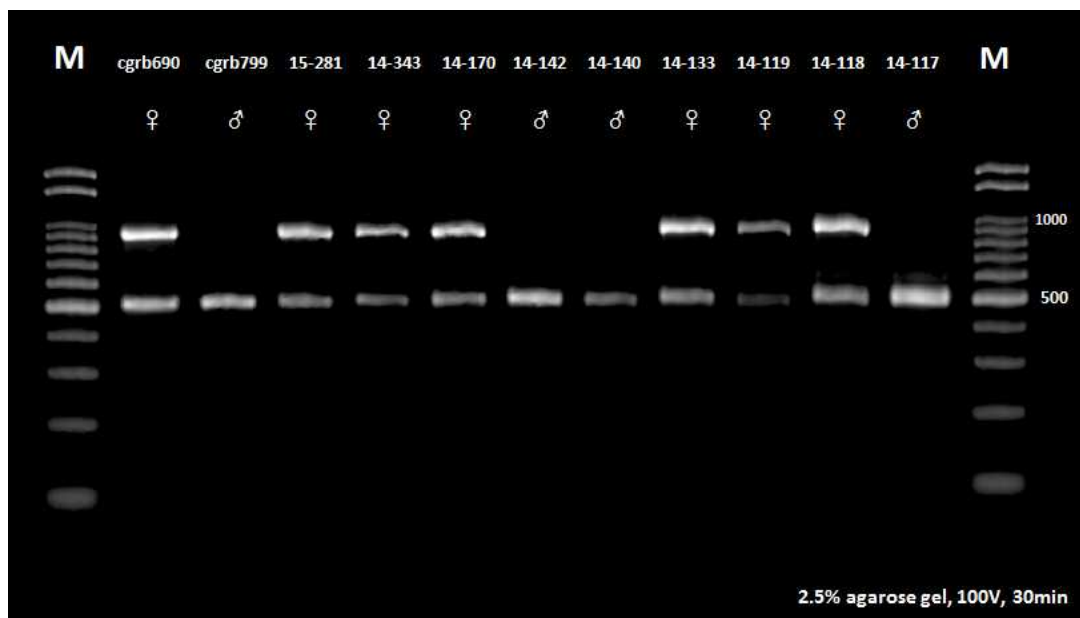


Figure 2. Electrophoresis pattern of CHD Z/W gene in 11 young Tawny Owl after PCR with CHD1F/CHD1R primer set. (Band size W: 900–1000bp / Z: 500–600bp)

## IV. 고 찰

최근 사람들의 무분별한 개발로 인하여 야생동물의 서식지가 감소하며 야생동물의 개체수가 줄어들고 있다. 특히 맹금류의 경우 생태계 먹이 사슬의 정점에 있어 환경오염, 먹이부족, 성비의 불균형 및 서식지 감소에 매우 민감하게 반응한다. 이러한 결과로 야생동물을 보호하기 위해 야생동물구조관리센터와 같은 기관들이 점진적으로 증가하고 있다. 특히 멸종위기종이나 천연기념물과 같은 야생동물들을 보존하기 위해서는 그 종의 생물학적, 생태학적 기본지식이 바탕이 되어야 한다. 그리고 정확한 중동정 뿐만아니라 성감별도 필요하다. 올빼미의 성장에 따른 기본 혈액검사와 생화학검사의 결과는 건강상태, 질병의 진단 및 진행 정도를 평가하고, 건강한 올빼미의 자연복귀를 결정하는데 중요한 자료가 될 수 있다.

일반적으로 androgens에 의한 적혈구 생성 작용으로 조류 수컷의 PCV 수치가 암컷보다 높다. 그러나 황조롱이의 혈액검사에서 PCV와 체중 또는 PCV와 성별에 따른 상관관계가 없는 것처럼 올빼미 성별에 따른 PCV의 차이점은 발견하지 못했다(7, 8). 조류의 경우 겨울의 PCV가 여름보다 높고 나이와 상관관계가 있다(8). 어린 올빼미의 경우 봄에 구조되어 겨울에 자연복귀하기 전까지 성장하면서 개체에 따라 약간 차이가 있지만 증가하는 경향이 관찰되었다.

총단백질(TP) 농도는 PCV와 함께 탈수와 빈혈 상태를 평가하는데 간단하면서도 중요한 지표이다(7). 일반적으로 총단백질은 어린 새의 경우 성장하면서 증가된다(8). 구조된 어린 올빼미에서 총단백질은 증가하는 경향이 관찰되었다. 매뉴얼 검사를 통한 총단백질 수치는 생화학검사를 통한 검사수치보다 높게 측정되었다. 2014년 7월 30일의 경우에는 총단백질 수치가 낮게 측정되었는데 원인은 먹이 섭식과 관련이 있는 것으로 판단된다. 황조롱이의 경우 어린 개체의 무게와 총단백질 사이에는 상관관계가 없는 것처럼 올빼미의 경우 어린 개체 각각의 측정 무게와 총단백질과의 상관관계는 없는 것으로 관찰되었다(8). 성장하

면서 체중과 총단백질이 증가하는 경향은 있으나 상관관계가 있다고 말할 수는 없다. PCV와 총단백질의 경우 영양상태에 따라 변동되므로 건강상태를 평가하는 적절한 검사항목이 될 수 있다.

ALKP 활성도는 골아세포 활성이 있을 때 증가하며 어린동물의 성장, 골절로 인한 회복, 골수염 및 종양으로 인한 골질의 변화에서도 증가한다(13, 19). ALKP 활성도는 올빼미 성장과정에서 감소하는 경향이 관찰되었다. 개체마다 약간의 차이는 있지만 2014-0118, 2014-0119, 2014-0133 3개체의 경우는 구조된 처음 검사수치는 두 번째 검사 수치보다 낮게 측정되었으며 평균을 보면 성장시기에는 ALKP가 증가하다가 감소하는 경향이 관찰되었다.

AST 활성도는 간세포 손상에 대한 특이 지표로 간손상이 있을시에 증가한다(13). 특히 근육 특이 효소인 CK 활성도와 함께 간손상과 근육 손상을 나타내는데, 몇 개체에서 CK와 AST 활성도가 같이 증가하는 경우는 혈액검사를 위한 포획과정에서 근육손상이 있었던 것으로 사료된다.

LDH 활성도는 조류 대부분의 조직에서 확인되며 조류의 임상적 연관성은 거의 없다. 조류의 재활훈련 및 자연복귀전 건강상태를 평가하기 위해서 사용되는 지표로 훈련 전과 후의 LDH 활성도를 비교하여 평가한다(14).

CK 활성도는 근육에 많이 존재하는 효소로 근육손상의 지표로 사용된다(14, 19). 붉은꼬리말뚝가리(red tailed hawks, *buteo jamaicensis*)의 경우 비행 훈련을 통한 근육의 비대와 신경근육의 기능 향상은 CK 활성도 수치를 낮춘다(14). 자연으로 복귀가능한 시기에 비행이나 활동성이 증가하는 올빼미에서 CK 활성도가 낮게 측정되는 이유이다. 구조된 어린 올빼미의 경우 어느 정도 비행이 가능해지고 비행 능력이 증가하면서 CK 활성도 수치가 낮아지는 것이 관찰되었다. 개체별로 CK 활성도를 확인해보면 계속 감소하는 것은 아니지만 처음 수치에서 약간 증가한 후 감소하는 경향이 관찰되었다. 혈장 CK 활성도가 체중과 역비례한다는 연구결과가 있으나 올빼미의 성장과정과 비교해볼 때 CK 활성도와

체중과의 관계에서 특이점은 발견하지 못했다(7).

건강한 조류의 혈당 농도는 일반적으로 >150 mg/dL로 유지된다. 맹금류의 경우 혈당 농도가 80 mg/dL 이하로 떨어질 경우 저혈당으로 발작이 발생한다(13). 혈액검사에서는  $322.0 \pm 0$  (mg/dl)에서  $341.6 \pm 28.35$  (mg/dl)로, 생화학 검사에서는  $301.6 \pm 41.80$  (mg/dl)에서  $374.4 \pm 9.69$  (mg/dl)으로 관찰되었다. 성장과정에서 다소 증감이 있었으나 증가하는 경향이 관찰되었다.

칼슘 농도는 제공된 먹이를 통해 섭취하는 뼈나 다른 부분으로부터 얻기 때문에 야생에서 생활하는 조류의 수치가 더 낮다(7, 13). 칼슘을 수송하는 단백질의 역할 때문에 칼슘과 총단백질과 상호 연관성이 있다는 보고가 있으나 검사결과 성장과정에서 올빼미의 칼슘과 총단백질 농도의 상호 연관성은 없는 것으로 관찰되었다(13). 칼슘 농도는 성별 및 특정 시기에 따라 정확한 임상적 수치가 요구된다. 칼슘 농도는 어린동물의 성장과 관계가 있는 ALKP 활성도와 상관관계가 있으며 성장과정 동안 처음에 증가한 후 서서히 감소하는 경향이 있다.

요산 농도는 단백질 분해의 최종산물이며 육식 조류는 상대적으로 요산 농도가 높다(13). 올빼미 성장과정에서 요산 농도가 일정한 경향을 나타내지 않는 것은 개체에 따라 먹이 습관과 량의 차이라고 판단되며 24시간 금식 후에 채혈하지 않은 결과라고 생각된다.

개체나 종에 따라 활동 수준이나 근육발달, 먹이의 양과 질, 건강상태, 포획시 스트레스, 먹이 습관에 따라 생화학 검사 수치에 차이가 있다(7). 올빼미의 기본 혈액 및 생화학 검사를 위해서 포획시 최소한의 스트레스를 주고 채혈하였으며 채혈시간도 금식 12시간이 지난 후에 실시하여 야생상태에 근접한 수치가 나오도록 하였다. 향후 추가적으로 많은 개체수의 올빼미 혈액을 확보하여 혈액 및 생화학 검사에 대한 정상 범위를 확립하면 야생동물 구조센터에 구조된 올빼미의 임상적 상태를 평가할 수 있으며, 더 나아가 혈액검사, 생화학 검사와 나이, 체중, 성별과의 상관관계가 있음을 확인할 수 있을 것으로 사료된다. 혈액검사와



생화학검사 뿐만아니라 완전혈구계산(CBC)를 통해서 혈색소, 적혈구 지수, 백혈구수, 혈소판수치를 검사할 필요가 있다.

올빼미의 성장기간 동안 체중의 변화를 기록한 결과, 처음에는 증가하다가 6월 19일부터 개체에 따라 9월 23일 또는 10월 27일까지 체중의 변화가 거의 없음이 관찰되었다. 2014년 12월 23일 자연으로 복귀되는 시기에 측정된 체중으로 보면 수컷 2014-0117은 568(g)으로 측정된 반면 암컷 4마리(2014-0118, 0119, 0133, 0170)는  $751 \pm 17.8$ (g)으로 측정되었다. 암컷이 수컷에 비해 약 1.3배 체중이 더 나가는 것으로 확인되었다. 올빼미 몸길이(T.L:Total length), 자연날개길이(WL(N):Wing length(natural)), 최대날개길이(WL(M):Wing length(Maximum))는 암컷이 수컷보다 다소 높은 수치로 측정되었다. 다른 신체 부위의 경우 암수간의 차이에서 특이한 점을 발견할 수는 없었다. 좀 더 많은 개체수의 성숙한 올빼미의 체중 및 신체 계측을 통해서 계절, 번식기 및 성별에 따른 체중과 신체의 변화를 조사할 필요가 있다.

야생동물유전자원은행에서 분양받은 올빼미 3개체의 시료(cgrb690, cgrb799, cgrb8236)중 cgrb690, cgrb799 두 개체는 올빼미(Tawny Owl, *Strix aluco*)로 확인되었으며, cgrb8236 개체는 긴점박이올빼미(Ural Owl, *Strix uralensis*)로 확인되었다. 야생동물유전자원은행에서 긴점박이올빼미를 올빼미로 잘못 동정한 것이거나 너무 어린개체인 경우 종동정이 어려웠던 것으로 판단된다. 긴점박이올빼미 (TL: 50 Cm)는 올빼미 (TL: 38 Cm) 보다 약간 크며 올빼미는 가슴에 회색바탕에 세로 줄무늬와 가로줄무늬가 섞여 있지만 긴점박이올빼미는 가슴의 흰색바탕에 가로줄무늬만 있는 것으로 외부 형태상 매우 흡사하다. 부리는 올빼미가 푸른빛을 띤 회색인 반면 긴점박이올빼미는 노란색 부리를 가지고 있는 것이 특징이다(1). 성조의 경우도 외부형태가 유사하여 정확히 알지 못하면 종동정이 어렵다. 특히 어린개체의 경우에는 더욱 종동정이 어렵다. 새롭게 확인되는 종들이 기존의 종들과 겹치는 것을 보면 이중교배가 가능하다고 예상되며 이로 인해서 외부 형태상으로만 종동정하는 것은 힘들다. 이러한 교배종들은 우수종 또는 종의 복합체로써 유전적 유사성이 거의 일치한다(12). 향

후 이러한 교배종들이 발견될 가능성을 염두에 두고 종동정에 관한 기초 자료가 절실히 필요하다.

맹금류의 경우 외부 형태상으로 암수구별하기 힘들며 차이점이 있다면 약간의 신체 크기가 다르다는 것이다(11). 그러므로 집단 생물학이나 종보전을 위한 연구를 위해 외부 특징으로 성비를 결정짓는 것은 어려우며 어린개체의 경우 성감별하기 더욱 어렵다. 성감별을 하기 위한 많은 기술들이 있으나 비침습적이면서 정확하고 간편하게 할 수 있는 것은 PCR을 기본으로 한 분자생물학적 성감별이다(9). 성감별을 위한 기본은 W chromosome에 있는 CHD-W 유전자이며 이것은 암컷에만 존재한다. 상응하는 CHD-Z 유전자는 Z chromosome에 존재하지만 암수에 모두 존재한다. 결국 암컷은 ZW를 가지며 수컷은 ZZ를 가지고 있다(17). primer를 이용하여 특정 chromosome에 있는 intron 크기 차이로 PCR 생성물을 전기영동을 실시하면 수컷은 1개의 밴드, 암컷은 2개의 밴드를 확인하여 성감별을 한다(10).

성감별을 하기 위해 일반적으로 사용하는 CHD1-linked primer는 P2/P8, 1237L/1272H, 그리고 2550F/2718R 이다(20). 올빼미 성감별 실험에서 사용한 CHD 1F/1R Primer set는 2550F/2718R로 부터 설계한 것이다(15). CHD 1F/1R 과 P2/P8은 성감별 뿐만 아니라 종동정에도 사용된다(15). P2/NP/MP primer set를 사용한 ARMS (Amplification Refractory Mutation System) 방법을 사용하여 올빼미를 포함한 25종의 성감별을 하였다(16). 올빼미의 경우 P2/P8을 사용하면 CHD-W와 CHD-Z를 생산하지만 크기가 너무 비슷하여 3% agarose gel에서는 구별할 수 없어 작은 조각을 생성하는 CHD 1F/1R을 사용하였다(9). CHD 1F/1R Primer set를 사용하여 58종을 성감별한 결과 큰소쩍새(Collared Scops Owl, *Otus lettia*)와 왕펭귄(King penguin, *Aptenodytes patagonicus*)을 제외한 나머지종은 Z조각 크기가 W조각보다 크다(15). 이번 실험에서 CHD 1F/1R Primer set를 사용한 결과 2.5% Agarose gel 전기영동 상에서 밴드 크기는 각각 W: 900-1000bp / Z: 500-600bp으로 W조각의 크기가 Z조각의 크기보다 크다는 것이 관찰되었다. 충남야생동물구조센터의 9개의 시료중 암컷이 6개체 수컷이 3개체임을 확인하였다.

본 연구는 구조된 어린 올빼미(약 4-5주령)를 대상으로 자연으로 복귀하기 전까지 한 달 간격으로 성장과정에 따른 체중, 혈액 및 생화학 검사 그리고 신체 계측을 실시하였다. 또한 올빼미의 분자생물학적 종동정 및 성감별 방법을 실시하였다. 향후 어린 시기에 구조된 올빼미의 기본 정보 및 건강상태를 평가하는 기초자료 확립과 올빼미 종보존 및 연구에 도움이 될 것으로 사료된다.

## V. 결 론

올빼미 성장 과정상의 건강상태를 평가하기 위한 기본적인 혈액검사, 생화학검사, 신체계측 및 종동정과 성감별 검사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 4-5주령에 구조된 어린 올빼미의 성장과정에서 혈액 및 생화학 검사에서 ALKP 활성도와 Ca 농도는 증가하다 감소하는 경향을 보였으며, PCV, TP, ALB, GLOB 농도는 증가 LDH와 CK 활성도는 감소하는 경향을 나타내었다. AST, GLU, URIC 항목은 검사 기간동안 큰 변동이 없었다. 자연으로 복귀하기 전 올빼미 체중에서 암컷이 수컷보다 약 1.3배 증가된 것을 확인하였다.
2. 충남야생동물구조센터에서 구조되어 접수된 9개체(CNWARC)는 올빼미 (Tawny Owl, *Strix aluco*)로 확인되었다.
3. 충남야생동물구조센터에서 얻는 어린 9개체 올빼미는 암컷이 6개체, 수컷이 3개체임을 확인하였다.

이상의 결과로 성장과정중의 혈액검사, 생화학검사, 체중 및 신체 계측을 통해 올빼미 건강상태를 평가하는 기본 자료를 얻었으며, 종동정 및 성감별 방법을 확립하여 올빼미를 연구하는 기초자료를 확보하였다. 향후 지속적으로 좀 더 많은 개체 확보와 자료 추가가 필요할 것으로 사료된다.

## VI. 참 고 문 헌

1. 김영준, 이항, 김영대, 김종택. 천연기념물(야생동물)의 구조, 치료 및 관리 . 대전 : 문화재청 . 2008: 89-91
2. 한국의 멸종위기 야생동,식물 적색자료집 조류. 인천 : 국립생물자원관 . 2011: 134-136
3. 채희영, 박종길, 홍길표, 김성현, 원일재, 김성진, 최창용, 빙기창. 조류 가락지 부착조사 안내서. 신안 : 국립공원 연구원 철새연구센터 . 2007: 69-82.
4. Ammersbach M, Beaufriere H, Rollick AG, Tully T. Laboratory blood analysis in Strigiformes-Part I: hematologic reference intervals and agreement between manual blood cell counting techniques. Vet Clin Pathol 2015; 44: 94-108.
5. Black PA, McRuer DL, Horne. LA. Hematologic Parameters in Raptor Species in a Rehabilitation Setting Before Release. Journal of Avian Medicine and Surgery 2011; 25: 192-198.
6. Cai YS, Yue BS, Jiang WX, Xie SQ, Li J, Zhou M. DNA barcoding on subsets of three families in Aves. Mitochondrial DNA 2010; 21: 32-37.
7. Chan FT, Lin PI, Chang GR, Wang HC, Hsu TH. Hematocrit and Plasma Chemistry Values in Adult Collared Scops Owls (*Otus lettia*) and Crested Serpent Eagles (*Spilornis cheela hoya*). J Vet Med Sci 2012; 74: 893-898.

8. Dawson RD, Bortolotti GR. Variation in Hematocrit and Total Plasma Proteins of Nestling American Kestrels (*Falco sparverius*) in the Wild. *Comp Biochem Physiol* 1997; 117: 383-390.
9. Griffiths R. Double, M., Orr, K., Dawson, R.J. 1998. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology* 1998; 7: 1071-1075.
10. Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM. Identification of Birds through DNA Barcodes. *PLoS Biology* 2004; 2: 1657-1663.
11. Ito H, Sudo-Yamaji A, Abe M, Murase T, Tsubota T. Sex identification by alternative polymerase chain reaction methods in Falconiformes. *Zool Sci* 2003; 20: 339-344.
12. Kahn N, St John J, Quinn T. Chromosome-specific Intron Size Differences in the Avian CHD Gene Provide an Efficient Method for Sex Identification in Birds. *The Auk* 1998; 115: 1074-1078.
13. Kendal E. Harr. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. *Vet Clin Pathol* 2002; 31: 140-151.
14. Knuth ST, Chaplin SB. The effect of exercise on plasma activities of lactate dehydrogenase and creatine kinase in Red-tailed Hawks. *J Raptor Res* 1994; 28: 27-33.
15. Lee JC, Tsai LC, Hwa PY, Chan CL, Huang A, Chin SC, Wang L.C, Lin JT, Linacre A, Hsi HM. A novel strategy for avian species and gender identification using the CHD gene. *Molecular and Cellular Probes* 2010; 24: 27-31.

16. Lee MY, Hong YJ, Park SK, Kim YJ, Choi TY, Lee H, Min MS. Application of Two Complementary Molecular Sexing Methods for East Asian Bird Species. *Genes & Genomics* 2008; 30: 365–372.
17. Morinha F, Cabral, JA, Baston E. Molecular sexing of birds: A comparative review of polymerase chain reaction (PCR)–based methods. *Theriogenology* 2012; 78: 703–714.
18. Spagnolo V, Crippa V, Marzia A, Alberti I, Sartorelli P. Hematologic, biochemical, and protein electrophoretic values in captive tawny owls (*Strix aluco*). *Vet Clin Pathol* 2008; 37: 225–228.
19. Spagnolo V, Crippa V, Marzia A, Alberti I, Sartorelli P. Reference intervals for hematologic and biochemical constituents and protein electrophoretic fractions in captive common buzzards (*Buteo Buteo*). *Vet Clin Pathol* 2006; 35: 225–228.
20. Yoo HS, Eah JY, Kim JS, Kim YJ, Min MS, Paek WK, Lee H, Kim CB. DNA Barcoding Korean Birds. *Mol Cells* 2006; 22: 323–327.