

## Distribution Status and Phylogenetic Relationship of *Myotis aurascens* in Jeju Island

Yoo-Kyung Kim<sup>1</sup>, Su-Gon Park<sup>1</sup>, Tae-Wook Kim<sup>1</sup>, Jun-Ho Park<sup>1</sup>, Pradeep Adhikari<sup>1</sup>, Ga-Ram Kim<sup>1</sup>, Seon-Mi Park<sup>1</sup>, Jun-Won Lee<sup>1</sup>, Sang-Hyun Han<sup>2\*</sup> and Hong-Shik Oh<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Science Education, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

<sup>2</sup>Educational Science Research Institute, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Received October 5, 2015 / Revised October 30, 2015 / Accepted October 30, 2015

This study was aimed to investigate the distribution status and phylogenetic relationship of *Myotis aurascens* in Jeju Island, which has not clearly confirmed until now. We found three groups of *M. aurascens* from three different cave enforcements (CEs). The bat population of Jeju Island had smaller levels of HBL and Hfcu, but greater levels of TL, EL, FAL, and Tra than those of the Korean Peninsula population. Jeju bats had wide range in the lengths of FAL and Hfcu comparing to those of European bats. From the bimonthly monitoring to each finding site, we have actually failed to observe those again, estimating that they use those CEs as the daily-roosting place in activating seasons. The sequences of *CYTB* and *COI* genes showed identical sequences among Jeju bats tested, indicating that they are maternally related. The results from molecular phylogeny showed that the sequences of these bats located on the same branch with those for *M. aurascens* in the phylogenetic trees. Besides, the nucleotide sequences of the Jeju bats showed the closest relation with that of Korean Peninsula. Consequently, these findings indicate that the bats of *M. aurascens*, verified the natural distribution in Jeju Island, have originated from a single maternal origin and differences in morphological and genetic backgrounds from those of Korean Peninsula and the other countries, and had probably immigrated via Korean Peninsula. These findings will contribute as basic information for understanding the migration history and biogeographic relationship of mammals on Jeju Island in East Asia.

**Key words** : Distribution status, genetic structure, Jeju Island, *Myotis aurascens*, phylogenetic relationship

### 서론

박쥐류는 익수목(Chiroptera)에 속하는 포유류로, 전 세계에 1,300여 종이 알려져 있고[3], 나무가 자라지 못하는 추운 지역과 대양의 섬을 제외한 전 세계에 서식한다. 한국에서 서식하는 박쥐류는 관박쥐과(Rhinolophidae), 애기박쥐과(Vespertilionidae), 큰귀박쥐과(Molossidae)의 3과 10속 21종이 알려져 있다[25, 26]. 제주도는 용암동굴과 인공 진지동굴, 해안 절벽, 한라산국립공원과 꽃자왈 등의 삼림지대는 박쥐류가 서식할 수 있는 매우 좋은 환경을 제공하고 있다. 현재까지 제주도산 박쥐류에 대해서는 Mori [14]가 큰수염박쥐(윗수염박쥐, *Myotis mystacinus*)에 대한 보고를 시작으로 관박쥐(*Rhinolophus ferrumequinum*), 큰귀박쥐(*Tadarida teniotis*)를 비

롯하여 3과 7속 15종이 기록되어 있다[6, 7, 10, 16, 21, 26].

애기박쥐과(Vespertilionidae)에 속하는 *Myotis* 속의 박쥐들은 국내에 큰수염박쥐, 쇠큰수염박쥐(*M. ikonnikovi*), 우수리박쥐(*M. petax*), 붉은박쥐(*M. formosus*), 긴꼬리윗수염박쥐(*M. frater*), 큰발윗수염박쥐(*M. macrodactylus*), 흰배윗수염박쥐(아무르박쥐, *M. bombinus*), 대륙쇠큰수염박쥐(*M. aurascens*) 등 8종이 알려져 있다[6, 25, 26]. 최근 10년 동안의 조사결과를 정리한 보고에서 *Myotis* 속 3종(붉은박쥐, 큰발윗수염박쥐, 흰배윗수염박쥐)은 제주도에 서 지속적으로 관찰되고 있으나, 이외 4종(큰수염박쥐, 쇠큰수염박쥐, *M. brandtii*, 우수리박쥐)의 문헌기록은 서식확인이 요구되고, 일부 종들은 분류학적 정리의 필요성을 제안하였다[17, 18].

*Myotis* 속 박쥐종들은 형태적 유사성과 서식지의 공유, 이종간 공동육아집단의 형성 등에 따라 종종 분류학적으로 어려움을 겪어왔고, 국내에서도 학자들 사이에 의견이 달라 동일종에 대한 국명이 여러 가지로 기재되기도 하였다. 이 중 큰수염박쥐는 우리나라와 동아시아에서 *M. gracilis*, *M. brandtii* 등과 형태적 차이에 따른 분류학적 재검토가 제기되었고[25], *Myotis* 속 동물들에 대한 분자유전학 연구결과에서도 유럽과 아시아의 종들에 대한 전반적인 분류학적 재검토의 필요성이 제기되었다[8, 19]. Tsytsulina *et al.* [24]은 그간 동일종으로

#### \*Corresponding authors

Tel : +82-64-754-3280, Fax : +82-64-725-4902

E-mail : sciedu@jeju.ac.kr (Oh, Hong-Shik)

Tel : +82-64-754-3280, Fax : +82-64-725-4902

E-mail : hansh04@naver.com (Han, Sang-Hyun)

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.

간주되었던 큰수염박쥐가 아시아와 유럽 집단이 형태적, 유전적 차이가 있어, 아시아 집단은 대륙쇠큰수염박쥐(*M. aurascens*)로 명명하는 것이 더 타당하고, 한반도 큰수염박쥐로 동정된 개체들 중 일부는 대륙쇠큰수염박쥐일 가능성이 있음을 제안하였다. 이후 대륙쇠큰수염박쥐가 전국적으로 발견되나, 제주도에는 분포하지 않는 것으로 기재하였으며[6], Oh [15]는 제주도에서 1개체를 확인한 바 있다.

본 연구는 아직까지 분포 현황과 집단의 계통 유연관계에 대한 연구자료가 전혀 없는 제주도 대륙쇠큰수염박쥐의 분포 현황을 확인하고, 수집한 개체들에 대한 형태적, 분자유전학적 종 동정과 타 집단과의 비교를 통하여 계통 유연관계를 살펴보기 위하여 이루어졌다.

## 재료 및 방법

### 관찰 및 포획 조사

대륙쇠큰수염박쥐의 제주도 내 분포 현황을 확인하기 위하여 2014년 9월부터 2015년 8월까지 제주도 서귀포시 상례동, 대정읍, 안덕면, 성산읍 지역과 제주시 아라동, 오동동, 연동, 한림읍, 한경면, 우도면, 조천읍, 구좌읍 등 25개 지역에 대한 현장조사를 수행하였다(Fig. 1). 현장조사는 동절기 및 활동기 방문 조사와 mist-net을 이용한 포획조사로 수행하였다. 대륙쇠큰수염박쥐가 발견된 장소는 최초 발견 후 월 2회씩 추가로 방문하여 서식여부를 재확인하였다. 발견된 장소별로 성체 1-2개체를 실험실로 옮겨 종 동정을 위한 형태측정을 수행하였고, 액침표본을 제작하였다. 실험은 제주대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 2015-0020)을 받았으며 위원회의 동물실험 취급과 관리에 따른 규정에 준하여 수행하였다.

### 종 동정 및 외부 형태 측정

박쥐류 종 동정과 학명의 기재는 기존의 보고[5, 20, 25]를 따랐다. 외부형질 분석을 위해 체중(body weight, BM)과 모색, 특이사항을 기록한 후 다음 부위의 길이를 측정하였다: 머리-몸통(head body, HBL), 꼬리(tail length, TL), 전완(forearm, FAL), 귀(ear length, EL), 이주(tragus, Tra), 경골(tibia, Tib), 뒷발(hindfoot, Hfcu), 제 1지(digit 1, D1), 제 2지(digit 2, D2), 제 3지(digit 3, D3), 제 4지(digit 4, D4), 제 5지(digit 5, D5). 체중의 측정은 전자저울(MW11300, Cas, Korea)을 이용하여 0.1 g 단위까지 측정하였으며, 길이의 측정은 전자캘리퍼스(500-181-20, Mitutoyo, Japan)를 이용하여 0.01 mm 단위까지 측정하였다. 외부 형태 측정을 마친 시료들은 80% ethanol을 이용하여 액침표본을 제작하였다.

### DNA 추출 및 PCR 증폭

현장에서 포획한 박쥐의 비막 punching 시료에서 DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, USA)를 이용하여 DNA를 분리

하였다. 분리한 DNA는 PCR 반응을 위한 주형으로 이용하였다. 염기서열을 얻기 위해 NCBI database 상에 보고된 *Myotis* 속 박쥐류의 mtDNA 유전체 서열들(NC\_022694, *M. macrodactylus*; NC\_015828, *M. formosus*; NC\_022698, *M. ikonnikovi*)을 기준으로 *COI*, *CYTB* 유전자 증폭용 프라이머들을 Primer3 web program을 이용하여 고안하였다: BatCOI\_F, CAG GAT TGA AGC TGC TTC TTT GAA T; BatCOI\_R, CCR ATW AYA TTA TAG CTC AYA CTA T; BatCYTB\_F, GTG ACA CGA AAA ATC ACC GTT GT; BatCYTB\_R, TTC CCC TTY TCT GGT TTA CAA GA. 유전자 증폭을 위한 PCR 방법은 Kerr *et al.* [9]의 방법에 준하여 수행하고, Maxime PCR Premix (iNtRON Biotechnology, Korea)를 이용하여 반응한 후, Thermal Cycler 2720(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 증폭하였다. PCR 산물은 1% agarose gel 상에서 전개하여 확인하였고, 증폭산물은 정제 후 DNA 서열 결정에 이용하였다.

### 염기서열 유사도 검색 및 계통 유연관계 분석

증폭된 PCR 산물은 QIAexII Gel Extraction Kit (Qiagen, USA)를 이용하여 정제하고, PCR primer를 이용하여 DYEnamic ET-Dye Terminator Kit (GE Healthcare, USA)로 dye-termination 반응을 수행한 후, MegaBase1000(Amersham Pharmacia, USA)을 이용하여 염기서열을 결정하였다. 결정은 BLAST 검색을 통해 NCBI database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)에 보고된 서열과 비교하였다. 연구를 통해 얻은 794-bp *COI*, 1,140-bp *CYTB* 유전자 서열들은 NCBI database 상에 등록하였다(*CYTB*, KI777800; *COI*, KI777801). 결정된 mtDNA *COI*, *CYTB* 서열들과 기존에 NCBI에 보고된 서열들을 수집한 후, CLUSTAL W program [12]으로 다중정렬하고, haplotype의 결정은 DnaSP v5 [13]를 이용하였다. 수집된 모든 서열들에 대한 계통 유연관계의 분석은 MEGA 6.0 program [22]을 이용하였다. 서열들 사이의 유전적 거리지수는 best model test를 통해 선정된 Tajima-Nei's method [23]의 모델을 기준으로, 변이 지점에 대한 gamma 분포를 적용하였다. 계통수 작성은 대륙쇠큰수염박쥐에서 발견된 모든 haplotype 서열들과 근연종이면서 기존에 제주도에 서식하는 것으로 알려진 흰배윗수염박쥐(*M. bombinus*), 큰발윗수염박쥐, 붉은박쥐, 제주도 문헌기록종인 큰수염박쥐, *M. brandtii*, 우수리박쥐에서 보고된 서열들을 추가하였고(Table 1), 긴가락박쥐(*Miniopterus schreibersii*)의 서열을 outgroup rooting에 이용하였다. 산출된 거리지수에 대한 1,000회 bootstrap하여 neighbor-joining tree를 작성하였다.

## 결과 및 고찰

### 대륙쇠큰수염박쥐의 서식 확인 및 수집

현장조사 결과 대륙쇠큰수염박쥐는 2015년 5월과 6월에, 서

Table 1. Accession numbers and localities of *CYTB* and *COI* sequences used in this study

Species	CYTB		COI	
	Acc. no.	Locality	Acc. no.	Locality
<i>M. aurascens</i>	KT777800	Jeju Island, South Korea	KT777801	Jeju Island, South Korea
	AY665148	South Korea		
	DQ182698		JX008048	Mongolia
	AY665151-52		JX008050-52	
	AY665154-56	Western Russia	JX008054-56	
	AY665147	Central Russia	JF442851-53	Northeastern China
	AY665153	Moldavia	JX008063-67	Kazakhstan
	AY665157	Kyrgyzstan	JF442860-61	Ukraine
	AY665158	Eastern Kazakhstan	JF442854	Western Russia
	AY665159	Western Kazakhstan	JF442855-56	Central Russia
	AY665160	Turkmenistan	JF442858-59	
	AY665149-50	Iran	JF442862-63	
	AY665146	Central Kazakhstan		
<i>M. mystacinus</i>	AF376861		FR856706, F443993	
<i>M. bombinus</i>	EF555239-40		JF442875, JF442877	
<i>M. macrodactylus</i>	EF555238, AB621575			
<i>M. petax</i>	EF555236-37		JF443019, JX008076	
<i>M. formosus</i>	AB106592, AJ841950			
<i>M. brandtii</i>	AY665168, AM261886		JX008060, JF442915	
<i>M. schreibersii</i>	EF530348, AB444719		JF442828, KP247545	

귀포시 대정읍 송악산 해안진지동굴, 첫알오름 진지동굴, 제주시 한경면 가마오름 진지동굴 등 3개 지역에서 관찰되었다 (Fig. 1). 관찰된 지역들은 모두 제주도 서부지역에 위치하고 있으며, 자연 용암동굴이 아닌, 인공 진지동굴이었다. 이 중 송악산 해안 진지동굴의 경우는 입구가 만조 시 해안선에 거의 맞는 장소로, 대륙쇠큰수염박쥐가 이용하는 서식처나 휴식처에 대한 보고에서 처음 기록된 장소이다. 대륙쇠큰수염박쥐가 발견된 3개 지역 중 첫알오름 진지동굴은 길이가 1 km가 넘는 대형 진지동굴이지만, 가마오름 진지동굴은 오름에서 발견되는 여러 개의 동굴 중 길이가 80 m 정도의 작은 동굴이었으며, 송악산 해안 진지동굴은 길이 60 m 정도의 동굴이었다. 따라서 이들의 경우 동굴의 길이와는 큰 상관없이 여름철 활동기의 휴식처로 소규모의 인공 진지동굴도 이용하고 있는 것으로 판단된다.

발견된 대륙쇠큰수염박쥐(Fig. 2)는 송악산 해안 진지동굴에서 5월말 30여 개체의 암컷 무리 중에서 채집되었고, 이들 중 18개체를 현장에서 성별을 확인하고, 이 중 8개체를 수집하였다. 첫알오름 진지동굴에서 발견된 대륙쇠큰수염박쥐는 2개체였으나, 긴가락박쥐, 관박쥐들과 비행 중인 상태에서 관찰되었고, 이 중 수컷 1개체를 포획하였다. 가마오름 진지동굴에서 관찰된 대륙쇠큰수염박쥐는 동굴 천정 돌 틈에서 휴식 중인 수컷 1개체를 수집하였다. 최초로 발견하여 수집한 시점부터 1-2주 간격으로 9월초까지 서식의 지속성 여부를 추적하였다. 최초 30개체 이상의 집단이 발견되었던 송악산 해안동굴뿐만 아니라 첫알오름, 가마오름의 진지동굴에서도 이후 대

륙쇠큰수염박쥐는 재확인되지는 않았다. 또한 동절기 조사에서 동면중인 대륙쇠큰수염박쥐가 용암동굴이나 진지동굴에서 발견되지 않았다는 점에서 동면장소 확인을 위한 추가적인 조사가 필요하다고 하겠다.

제주도에서 대륙쇠큰수염박쥐의 기록은 Oh [15]가 1개체를 제주도 서부지역 첫알오름에서 발견하였다는 기록이 전부이다. 첫알오름은 본 연구의 조사지 중 하나인 첫알오름과 직접 연결되어 있으나 여러 개의 진지동굴이 구축되어 있어 이들이 서로 동일한 장소인지는 추가 확인이 필요하다. 1928년 Mori [14]에 의해 국내에서 큰수염박쥐를 발견하여 *M. m. gracilis*로 보고한 이후 큰수염박쥐는 한반도에서 지속적으로 발견되고 있는 것으로 알려져 있다. 하지만, 형태적 특성이 서로 다른 점에서 *M. m. gracilis*, *M. m. mystacinus*, *M. brandtii* 등이 개별 종으로 구분되어야 한다하였고[1, 4, 20], 이와 함께 우리나라 개체군에 대한 재검토도 제기되었다[25]. 또한, *M. alcatheae*, *M. mystacinus*, *M. aurascens*, *M. brandtii* 등은 특히 암컷과 어린 개체에서 동정이 매우 어렵고, 유전적으로도 구분할만한 marker가 충분하지 않다고 보고되었다[2]. 최근 Tsytsulina *et al.* [24]는 형태적인 특성 비교와 유전자 서열의 유사성을 근거로 대륙쇠큰수염박쥐가 큰수염박쥐와 구분되는 종이며, 한반도 표본 중 강원도에서 채집된 개체를 대륙쇠큰수염박쥐로 보고하였다. 산림성박쥐에 대한 연구보고에서 Han *et al.* [6]은 대륙쇠큰수염박쥐가 전국적으로 분포하지만, 제주도에는 분포하지 않는다고 기술하였다. 한반도 표본들과 마찬가지로 과거 제주도에서 채집, 관찰되었던 큰수염박쥐가 대륙쇠큰수염

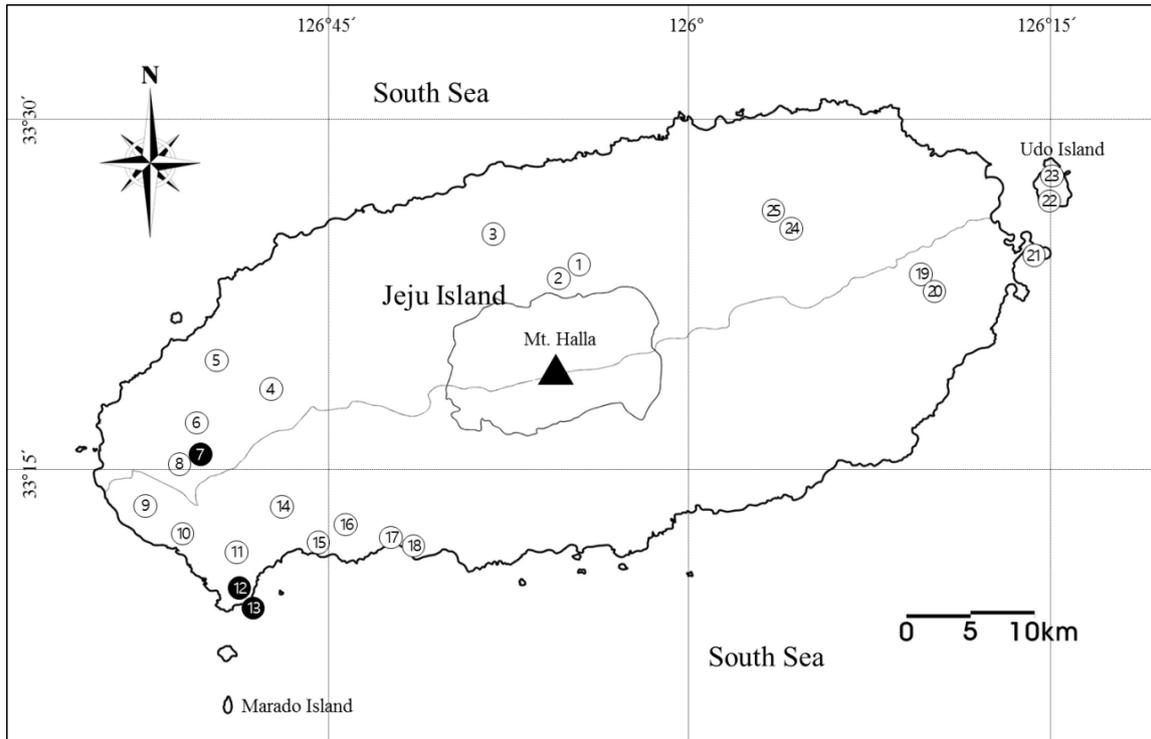


Fig. 1. Study site map. Circles indicate the survey sites of lava tubes (LT), sea caves (SC) and cave enforcements (CE): 1, Sameuiak CE; 2, Seosambong CE; 3, Gwangioreum CE; 4, Guemoreum CE; 5, Handeul-gul LT; 6, Igyeoreum CE; 7, Gamaoreum CE; 8, Saesinoreum CE; 9, Noknambong CE; 10, Gasiak CE; 11, Dansan CE; 12, Seotaloreum CE; 13, Songaksan shore CE; 14, Nonoreum CE; 15, Wollabong CE; 16, Gunsan CE; 17, Gaetgatdonggul SC; 18, Daramjui-gul SC; 19, Uitbeolari-gul LT; 20, Albeolari-gul LT; 21, Ilchulbong CE; 22, Udobong LT; 23, Udo-gul LT; 24, Utsanjeon-gul LT; 25, Bukoreum-gul LT. Black-colored circles indicate the observation and collection sites of *M. aurascens* in this study.



Fig. 2. *M. aurascens* collected in the Songaksan cave enforcement.

박쥐와 동일종일 가능성은 여전히 남아 있지만, 해당 표본들이 현재 확인되지 않고 있다. 문헌기록이 오동정이건, 기재상의 오류이건, 제주도 육상동물 중 박쥐류의 서식에 대한 체계적인 정리가 필요하다고 하겠다. 그럼에도 불구하고, Oh [15]의 보고와 본 연구를 통해 지속적으로 확인된다는 점에서 적어도 제주도 서부지역에서 대륙쇠큰수염박쥐가 서식하거나, 활동기 휴식처로 이용하고 있다는 것은 확실하다. 관찰된 개체들 중 일부의 표본을 확보하였다는 점은 향후 제주도와 한국 다른 지역의 박쥐류 연구에 있어 중요한 자료가 될 것이다.

**제주도 대륙쇠큰수염박쥐의 형태 변이**

제주도에서 수집한 대륙쇠큰수염박쥐의 외부 형태를 측정 한 결과는 Table 2에 제시한 바와 같다. 암컷 8개체와 수컷 2개체에서 측정한 자료에서는 암컷이 수컷에 비해 FAL, D2, D4의 길이가 더 긴 것으로 나타났으나, 개체 수가 적어 통계적인 유의성은 검출되지 않았다. 반면 Oh [15]의 기록에 제시된 우리나라 전체에서 수집된 7개체의 자료와 비교했을 때, HBL과 Hfcu는 한반도 집단이 1.47 mm, 0.39 mm 정도 더 길었고, TL, EL, FAL은 제주도 집단이 4.07 mm, 1.00 mm, 0.89 mm

Table 2. External characteristics of *M. aurascens* collected in Jeju Island

Trait*	This study						Oh (2013) (n=7)**		Dietz and von Helversen (2004)	
	Overall (n=10)		Male (n=2)		Female (n=8)		Range	Mean±SD	Range	Remark
	Range	Mean±SD	Range	Mean±SD	Range	Mean±SD				
BM (g)	5.70-7.10	6.43±0.42	5.70-6.20	5.95±0.35	6.00-7.10	6.55±0.36	-	-	-	-
HBL (mm)	42.64-46.40	44.53±1.21	43.66-44.83	44.25±0.83	42.64-46.40	44.60±1.32	40.80-48.00	45.97±2.52	-	-
TL (mm)	41.03-45.26	42.99±1.73	41.81-45.26	43.54±2.44	41.03-45.17	42.85±1.70	36.00-42.00	38.93±2.01	-	-
EL (mm)	13.06-14.98	14.09±0.64	13.44-14.43	13.94±0.70	13.06-14.98	14.13±0.67	11.00-15.00	13.10±1.46	-	-
FAL (mm)	34.71-38.21	36.52±1.06	34.71-35.58	35.15±0.62	35.97-38.21	36.87±0.84	33.80-37.30	35.61±1.21	32.0-37.4	-
Hfcu (mm)	6.42-7.68	7.10±0.43	6.80-6.97	6.89±0.12	6.42-7.68	7.15±0.47	7.00-10.00	8.49±0.96	6.8-8.7	>7.0
Tra (mm)	7.64-8.88	8.28±0.42	8.44-8.78	8.61±0.24	7.64-8.88	8.19±0.43	6.30-9.00	7.83±0.81	-	-
Tib (mm)	16.22-18.04	16.96±0.66	16.22-16.40	16.31±0.13	16.24-18.04	17.12±0.64	15.10-17.47	16.51±0.85	15.7-18.1	>16.1
D1 (mm)	5.49-6.76	6.10±0.45	5.50-5.78	5.64±0.20	5.49-6.76	6.21±0.43	-	-	5.2-7.0	>5.4
D2 (mm)	29.31-32.68	31.28±1.05	29.31-30.61	29.96±0.92	30.44-32.68	31.61±0.83	-	-	-	-
D3 (mm)	49.10-60.30	56.38±3.11	54.33-59.09	56.71±3.37	49.10-60.30	56.30±3.28	-	-	52-61	-
D4 (mm)	46.69-50.71	48.48±1.29	47.56-48.31	47.94±0.53	46.69-50.71	48.62±1.41	-	-	-	-
D5 (mm)	44.06-48.62	46.50±1.27	45.96-47.28	46.63±0.94	44.06-48.62	46.47±1.39	-	-	43-50	-

\*, abbreviations of each trait are given in the Materials and Methods section.

\*\* , one of those was collected in the Jeju Island by Oh (2013).

정도 더 길었다. 또한 Tra는 제주도 집단(8.28±0.42 mm)이 한반도 집단(7.83±0.81 mm)에 비해 0.47 mm 정도 더 길게 나타났다. 유럽의 박쥐류에서 보고[2]와 비교했을 때, 제주도 집단은 FAL의 범위가 34.7-38.2 mm 정도로 유럽 집단(32.0-37.4 mm)보다 더 길었다. 한편, Hfcu는 제주도 집단(6.42-7.68 mm)

이 유럽 집단(6.8-8.7 mm)에 비해 더 넓은 크기 변이를 나타내었고, Tib는 제주도 집단(16.22-18.04 mm)보다 유럽 집단의 변이 폭(15.7-18.1 mm)이 더 넓게 나타났다.

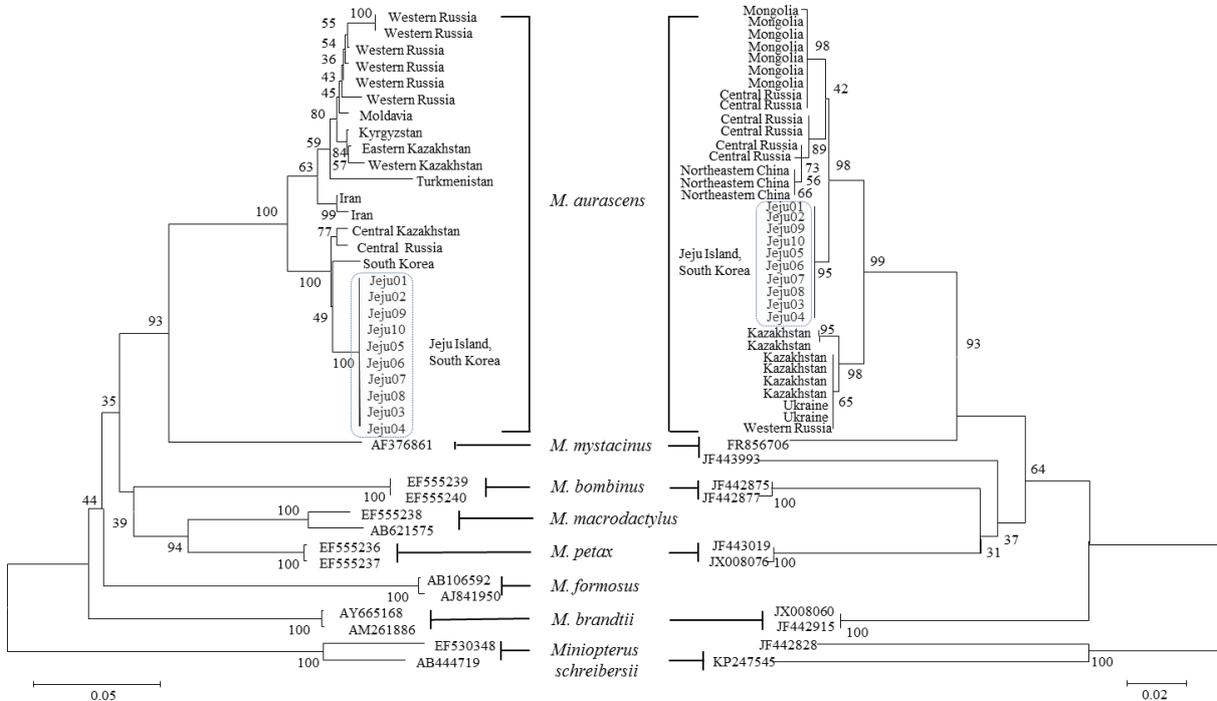


Fig. 3. Neighbor-joining trees based on the sequence polymorphisms of *CYTB* (left) and *COI* (right) of *M. aurascens* collected in Jeju Island and its related species. The *CYTB* and *COI* sequences of the Jeju Island population are found on the branches of both phylogenetic trees with those of *M. aurascens* previously reported in NCBI database. The number near the nodes is bootstrap value.

### 제주도 대륙쇠큰수염박쥐의 유전적 집단 구조와 계통 유연관계

NCBI database 상에 보고되어 있는 서열들과의 유사도 검색을 위한 BLAST search 결과 제주도에서 수집한 10개의 대륙쇠큰수염박쥐 *CYTB* 서열들은 우리나라 강원도에서 보고된 서열인 AY665148 [24]와 유사도 97.91%로 가장 유사하였고, 두 지역 개체 사이에서 20개의 염기치환이 발견되었다(자료 미기재). 제주도 대륙쇠큰수염박쥐 10개의 *COI* 서열 역시 모두 동일하였고, Mongolia에서 보고된 *COI* 서열인 JX008048 [11]과 유사도 98.78%로 가장 유사하게 나타났다. 유사도 검색에 따른 결과는 제주도에서 수집된 대륙쇠큰수염박쥐 시료들이 유전적으로 기존에 보고된 *M. auraszens* 서열들과 가장 유사하고, 유사도 97% 이상으로 동일종이라 판단되었다.

Fig. 3은 *CYTB*, *COI* 유전자 서열의 다형성에 근거한 NJ tree를 나타낸 것이다. 제주도와 강원도의 대륙쇠큰수염박쥐 서열들은 계통수 상에서 *M. auraszens*의 범주 내에 위치하여, 이들은 기존에 유럽(Western Russia, Moldavia)과 아시아(Kazakhstan, Kyrgyzstan, Turkmenistan, Iran, Central Russia)에서 보고된 *M. auraszens*와 동일종으로 판단하였다. *COI* 서열을 이용한 계통수에서도 제주도 집단은 모두 동일한 서열을 보유하고 있었고, 중국, Mongolia, Kazakhstan, Ukraine 등에서 보고된 *M. auraszens*의 *COI* 서열들과 같은 분지에 출현하였다.

이상의 결과를 정리해 보면, 제주도 내 서남부권인 서귀포시 대정읍 송악산 해안 진지동굴과 첫알오름 진지동굴, 제주시 한경면의 가마오름 진지동굴에서 채집된 암컷 8개체와 수컷 2개체는 모두 동일한 모계선조에서 유래된 것으로 추정되었다. 또한 *CYTB* 서열 계통수에서 강원도 영월군의 대륙쇠큰수염박쥐와 동일한 분지를 형성한다는 점에서 유럽이나 아시아의 타 지역 집단보다는 한반도 집단과 근연이며, 한반도를 통해 제주도로 이주한 집단일 가능성이 더 높다고 판단된다. 하지만, 계통 사이의 유연관계를 보다 명확하게 설명하기 위해서는 한반도와 중국 등 인근 아시아 집단의 정보를 확보하여 종합적인 분석을 수행하여야 할 것이다.

### 결론

본 연구를 통해 대륙쇠큰수염박쥐의 암컷과 수컷들이 집단 수준으로 제주도 서남부 지역의 해안 진지동굴과 오름 진지동굴에 서식하고 있음을 확인하였다. 이들이 큰수염박쥐로 기재되었던 과거의 문헌기록과 동일종인지 여부는 확인할 수 없으나, 제주도에 지속적으로 서식하고 있음은 확실하다. 최초 발견 지역에 대한 재확인 과정에서 추가로 확인되지 않았다는 점에서 진지동굴을 활동기 때 일시적으로 이용하는 것으로 추정되며, 동면 장소와 휴식처에 대한 지속적인 현장조사가 요구된다고 하겠다. 형태적으로 한반도에서 채집된 개체들에

비해서 HBL과 Hfcu는 다소 작고, TL, EL, FAL, Tra 등은 더 길었고, 또한 유럽 집단과도 변이의 폭에서 차이를 나타내어, 시료 확보와 함께 지역별 집단 사이의 비교연구가 수반되어야 할 것이다. 유전자 분석에 이용한 모든 개체들이 동일한 mtDNA 서열을 갖는다는 점에서 3개 지역에서 발견된 10개체들이 모두 하나의 모계선조 집단에서 유래되었을 가능성이 있음을 추정할 수 있다. 유전자 서열의 유사도가 한반도나 Mongolia의 개체들에서 보고된 것들과 가장 유사한 것으로 드러나 동아시아계열에 해당하는 집단으로 판단되나, 2% 이상의 염기치환율을 나타낸다는 점에서 유전자 서열을 이용한 계통 유연관계 분석이 요구된다고 하겠다. 결론적으로, 본 연구를 통해 대륙쇠큰수염박쥐의 제주도 서식을 확인하였으나, 한반도 집단, 유럽 집단과 형태적으로도 차이를 나타내며, 유전적으로도 한반도 집단과 다소 다른 양상을 나타냄으로써, 향후 다양한 분야의 연구가 진행되어야 할 것이다. 이러한 연구결과는 향후 제주도 포유동물 연구를 수행하는 데 중요한 자료가 될 것으로 판단된다.

### 감사의 글

본 연구는 제주녹색환경지원센터의 2014년도 연구개발사업 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

### References

1. Corbet, G. B. 1978. *The Mammals of the Palaearctic Region: A Taxonomic Review*. pp. 1-226. British Museum (National History), Oxford Univ. Press, London, UK.
2. Dietz, C. and von Helversen, O. 2004. Illustrated identification key to the bats of Europe. pp. 40-45. Electronic publication ver. 1.0. released 15. 12. 2004. Tuebingen & Erlangen, Germany.
3. Fenton, M. B. and Simmons, N. B. 2014. *A World of Science and Mystery Bats*. pp.10-11. The University of Chicago Press. Chicago, USA.
4. Hanak, V. 1970. Notes on the distribution and systematics of *Myotis mystacinus*. *Bijdr. Dierk.* **40**, 40-44.
5. Han, S. H. 2012. Vertebrates. In *National List of Species of Korea*. pp. 323-326. Ministry of Environment, National Institute of Biological Resources, Incheon, Korea.
6. Han, S. H., Fukui, D., Chong, C. U., Choi, Y. G., Kim, S. S. and Jun, J. M. 2011. *Biodiversity and Phylogenetic Research of Bats in Forests(1)*. pp. 63. National Institute of Biological Resources, Incheon, Korea.
7. Jo, Y. S., Kim, T. W., Choi, B. J. and Oh, H. S. 2012. Current status of terrestrial mammals on Jeju Island. *J. Species Res.* **1**, 249-256.
8. Kawai, K., Nikaido, M., Harada, M., Matsumura, S., Lin, L. K., Wu, Y., Hasegawa, M. and Okada, N. 2003. The status of the Japanese and East Asian bats of the genus *Myotis* (Vespertilionidae) based on mitochondrial sequences. *Mol.*

- Phylogenet. Evol.* **28**, 297-307.
9. Kerr, K. C. R., Birks, S. M., Kalyakin, M. V., Red'kin, Y. A., Koblik, E. A. and Hebert, P. D. N. 2009. Filling the gap-COI barcode resolution in eastern Palearctic birds. *Front. Zool.* **6**, 29.
  10. Koyanagi, K., Yoshino, H., Tamura, H. and Han, S. H. 2009. Faunal survey of bats in Jeju Island, Korea. *Bull. Asian Bat Res. Institute* **8**, 37-44.
  11. Kruskop, S. V., Borisenko, A. V., Ivanova, N. V., Lim, B. K. and Eger, J. L. 2012. Genetic diversity of northeastern Palearctic bats as revealed by DNA barcodes. unpublished.
  12. Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., Mcgettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J. and Higgins, D. G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* **23**, 2947-2948.
  13. Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* **25**, 1451-1452.
  14. Mori, T. 1928. On the Chiroptera of Korea. *Zool. Mag. Tokyo* **40**, 282-303.
  15. Oh, D. 2013. Geographical distribution of Korean bats and morphology of its skull. pp. 49-68. Master's thesis, Incheon Natl. Univ. Incheon, Korea.
  16. Oh, H. S., Chang, M. H. and Kim, B. S. 2007. Current status of mammals in Hallasan National Park. *Kor. J. Environ. Ecol.* **21**, 235-242.
  17. Park, S. G. 2015. A study on the biodiversity conservation and distribution of Chiropteran in Jeju Island, Korea. pp. 1-31. Master's thesis, Jeju Natl. Univ. Jeju, Korea.
  18. Park, S. G., Kim, Y. K., Kim, T. W., Park, J. H., Adhikari, P., Kim, G. R., Park, S. M., Lee, J. W., Han, S. H. and Oh, H. S. 2015. A study on the distribution of bats (Chiroptera) in Jeju Island, Korea. *Kor. J. Environ. Biol.* in processing.
  19. Ruedi, M., Stadelmann, B., Gager, Y., Douzery, E. J. P., Francis, C. M., Lin, L. K., Guillén-Servent, A. and Cibois, A. 2013. Molecular phylogenetic reconstructions identify East Asia as the cradle for the evolution of the cosmopolitan genus *Myotis* (Mammalia, Chiroptera). *Mol. Phylogenet. Evol.* **69**, 437-449.
  20. Simmons, N. B. 2005. Order Chiroptera. In *Mammal Species of the World, a Taxonomic and Geographic Reference*, third ed. (DE Wilson and DM Reeder, eds.), pp. 312-529. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, USA.
  21. Son, S. W. 2001. *Bats: Jiseong Natural History series 3*. pp. 92-105. Jiseongsa, Seoul, Korea.
  22. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* **30**, 2725-2729.
  23. Tajima, F. and Nei, M. 1984. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Mol. Biol. Evol.* **1**, 269-285.
  24. Tsytsulina, K., Dick, M. L., Maeda, K. and Masuda, R. 2012. Systematics and phylogeography of the steppe myotis *Myotis aurascens* Kuzyakin, 1935 (Chiroptera, Vespertilionidae). *Russ. J. Theriol.* **11**, 1-20.
  25. Yoon, M. H. 2010. *Vertebrate Fauna of Korea*, vol.5, no.1: *Bats*. In *Flora and Fauna of Korea*. p. 123. National Institute of Biological Resources, Incheon, Korea.
  26. Yoon, M. H., Han, S. H., Oh, H. S. and Kim, J. G. 2004. *The Mammals of Korea*. pp. 36-94. Dongbang Media, Seoul, Korea.

**초록 : 제주도에서 대륙쇠큰수염박쥐(*Myotis aurascens*)의 분포 현황 및 계통 유연관계**

김유경<sup>1</sup> · 박수곤<sup>1</sup> · 김태욱<sup>1</sup> · 박준호<sup>1</sup> · 프라딕 아디카리<sup>1</sup> · 김가람<sup>1</sup> · 박선미<sup>1</sup> · 이준원<sup>1</sup> · 한상현<sup>2\*</sup> ·  
오홍식<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>제주대학교 과학교육학부, <sup>2</sup>제주대학교 교육과학연구소)

본 연구는 제주도 서식이 명확히 확인되지 않았던 대륙쇠큰수염박쥐(*M. aurascens*)의 분포 현황과 계통 유연관계를 조사하기 위하여 수행되었다. 제주도 남서부의 진지동굴 3개 지역에서 대륙쇠큰수염박쥐 무리가 관찰되었다. 형태형질에 대한 비교결과에서 제주도 대륙쇠큰수염박쥐는 한반도 집단에 비해 HBL과 Hfu는 짧고, TL, EL, FAL, Tra는 더 길었다. 제주도 집단의 FAL, Hfcu는 유럽 집단보다 더 넓은 크기 변이를 나타내었다. 서식장소에 대한 주기적인 방문조사 결과, 같은 장소에서 대륙쇠큰수염박쥐들이 재확인이 되지 않았고, 이는 해안과 내륙의 진지동굴을 활동기 동안에 일간 휴식처로 이용하는 것으로 추정되었다. 본 연구에서 이용된 모든 제주도 박쥐들에서 두 가지 유전자(CYTB, COI)의 염기서열들이 모두 동일하게 나타나, 이들이 모두 동일한 모계의 후손들로 추정되었다. 분자 유전학적 연구결과는 제주도 대륙쇠큰수염박쥐의 서열들이 계통수 상에서 기존에 유럽과 아시아의 *M. aurascens* 서열들과 동일한 분지에 있었다. 뿐만 아니라, 제주도 집단에서 얻은 염기서열들은 한반도에서 보고된 대륙쇠큰수염박쥐의 서열과 가장 근연인 것으로 확인되었다. 결과적으로 본 연구를 통해 제주도에서 자연 서식이 확인된 대륙쇠큰수염박쥐들은 모두 동일한 모계선조에서 기원하였고, 한반도나 다른 지역 집단들과는 형태적, 유전적으로 다른 배경을 보유하고 있어, 한반도를 경유하여 제주도로 이주해 온 집단으로 판단된다. 이상의 결과는 향후 제주도 포유동물의 유입경로와 생물지리학적 상관관계를 이해하는 데 있어 중요한 기초자료가 될 것이다.