

How Many Species of Pleuroceridae are in Korea? 한국의 다슬기과 패류는 몇 종일까?

Hyun-Chol Hong, Jae Jin Kim, Sei-Chang Kim, T. Lee* and D.
O'Foighil*

Department of Biology and Medicinal Science, and Bio-Med RRC, Paichai University,

*Museum of Zoology, University of Michigan

서론

다슬기 과(科) 패류는 담수산 권패류로 한국을 비롯하여 일본, 대만, 중국 등 아시아 지역과 중남미와 아프리카 등지에 널리 분포되어 있으며, 일부 흡충류의 중간숙주 역할을 하기 때문에 공중보건학적으로도 중요한 패류이다(김 등 1986).

한국에서의 다슬기류는 Martens(1905)가 패각을 중심으로 14 종 3 아종으로 분류한 이후 Burch and Jung(1987)는 *K. globus ovalis*를 신아종으로 추가하였다.

그동안 여러 연구자들이 패각의 형태나 핵형분석 그리고 동위효소 등을 이용하여 한국산 다슬기의 분류나 계통유연관계를 밝히려고 노력하여 왔지만 아직도 많은 논란이 있다.

유전자의 진화속도는 부분적으로 매우 다양한 부위가 있어 계통간에 유전학적 차이를 알아보기에 용이하며, 또한 모든 생물에 매우 보편적인 부위가 있어 universal primer를 제작하는데 용이하기 때문에(Hills and Dixon, 1991), 최근에는 일부 rDNA 염기서열 분석을 통한 계통분류학적 관계를 알아보려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

Lydeard 등(1997), Holznagel 등(2000)은 16S mitochondrial rDNA를 통해 북미산 다슬기류의 계통유연관계를 분석보고 한바 있으나 한국산 다슬기류에 대한 이들 유전자 분석에 대한 연구는 아직 없다.

따라서 본 연구는 우리 나라에 분포하고 있는 다슬기류가 유전학적으로 과연 몇 종으로 분류될 수 있는지를 알아보기 위하여 16S mitochondrial rDNA의 염기서열을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 다슬기류의 채집 및 보관

논란의 여지는 있지만 일단 Martens(1905)의 분류에 따라 채집된 다슬기를 분류하였다. *Semisulcospira gottschei*(경기도 양수리), *S. nodiperda*(강원 영월), *S. multicincta*, *S. tegulata*(충남 아산), *S. coreana*(충북 괴산, 영동), *S. extensa*(충북 영동), *S. forticosta*(경북 문경), *S. libertina*(전북 무주, 경북 문경), *Koreanomelania nodifila*(강원 영월), *K. nodiperda pertinax*(강원 평창), *Koreoletoxis globus ovalis*(강원 평창)들을 2001년 5월부터 8월 사이에 채집하여 95% 에탄올에 고정시켰다.

2. Polymerase Chain Reaction(PCR) and DNA sequencing

95%알콜에 고정된 족 근육 약 20-30 mg씩을 잘라내어 면도날로 잘게 다진 후 DNeasyTM Tissue Kit(QIAGEN)를 이용하여 DNA를 추출하였다.

16S mitochondrial rDNA 증폭을 위한 Primer는 16Sar(5' -CGCCTGTTTATCA AAAACAT-3')와 16Sbr(5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3')을 이용(Kessing, 1989)하였다.

모든 PCR 반응은 Touchdown 방법을 이용하였으며, PCR 최종 산물은 1% agarose gel에서 원하는 밴드를 확인한 후 QIAEX II gel extraction kit로 정제하였다. Sequencing 반응은 BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Perkin Elmer Applied Biosystems)을 이용하였고, Centri-sep spin columns(Princeton Separation)과 50 Sephadex(Sigma)를 사용하여 sequencing 반응 후 여분의 dye를 제거

하였다. Sequencing은 ABI 377 automated DNA sequencer를 이용하여 수행하였다.

3. Phylogenetic Analyses

전기영동을 통하여 얻은 염기서열 chromatogram 은 Sequence Navigator 1. 0. 1(Applied Biosystems)을 이용하여 정방향과 역방향이 서로 상보적으로 일치하지 육안으로 대조하면서 염기쌍을 정렬시켰다. 정렬된 염기서열들은 Sequence Monkey 2.8.0로 편집한 후 Clustal_X program(Thompson *et al.*, 1994)을 이용하여 편집하고 정렬하였다.

염기서열 자료의 계통학적 유연관계 분석은 PAUP 4.0b3(Swofford, 1998)으로 분석하였으며, 각 분지의 신뢰도를 평가하기 위하여 1,000 회의 bootstrap도 같이 실시하였다.

결과 및 요약

각 종마다 16S mitochondrial rDNA 약 510 bp의 염기서열을 얻을 수 있었다. 한국산 종들은 크게 4가지 그룹으로 나눌 수 있었다. 1) 난생을 하는 *Koreanamelania*, *Koreoleptoxis* 2) *S. extensa* 3) *S. coreana*(충북 영동산) 4) 나머지 *Semisulcospira*군,

먼저 제 1 그룹인 알다슬기류 중 난생 종인 *K. nodifila*, *K. nodiperda pertinax* 형태적 차이는 있으나 염기서열은 100% 상동성을 나타내었으며, *Koreoleptoxis globus ovalis*와는 구분이 되었다.

두 번째 그룹은 *S. extensa*와 양수리산 다슬기로 중국에서 채집한 다슬기류와 가까운 유연관계를 보였다. 세 번째 영동에서 채집된 *S. coreana*와 양수리산 *S. gottschei*는 나머지 *Semisulcospira*와는 다르게 알다슬기류와 근연 종으로 나타났는데, 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

나머지 *S. coreana*, *S. multicincta*, *S. tegulata*, *S. libertina*에서는 염기서열의 차이가 3개 미만으로 한 종으로 볼 수밖에 없었으며, *S. forticosta*, *S. nodiperda*, *S. gottschei* *S. libertina* (경북 문경) 소그룹은 7개 이하(< 2%)의 염기 변화를 보임으로써 일반적으로 종 간의 염기서열의 차이 5%를 넘지 않았다.

성체의 패각만으로 분류에 의존하였던 다슬기류의 16S mitochondrial rDNA 분석한 결과 염기서열의 차이는 극히 미약하여 패각의 다양성과는 전혀 상반되는 결과를 보였다.

참고문헌

- Burch, J.B and Jung, Y. (1987) A new freshwater prosobranch snail (Mesogastropoda: pleuroceridae) from Korea. *Walkerana*, 2(8): 287-293.
- Hillis, D. M., Dixon M. T. (1991) Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66(4): 411-453.
- Holznagel, W. E., Lydeard, C. (2000) A molecular phylogeny of North American Pleuroceridae (Gastropoda: Cerithioidea) based on mitochondrial 16S rDNA sequence. *J. Moll. Stud.*, 66: 233-257
- Lydeard, C., Holznagel, W.E., Garner, J., Hartfield, P. & Pierson, M. (1997) A molecular phylogeny of Mobile River drainage pleurocerid snails (Caenogastropoda: Cerithioidea). *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 7(1): 117-128.
- Marten, E., V. (1905) Koreanische Süsswasser-Mollusken. *Zoologischen Jahrbucher, suppl.* 8: pp. 23-70, + 3 plates.
- Swofford, D. L. (1998) PAUP 4.03b: *Phylogenetic Analysis Using Parsimony*, version 4. 0. Sinauer Associate, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- 김재진 (1995) 한국산 *Semisulcospira*속 (다슬기과: 복족강) 패류 5종의 동위효소 변이. *한국패류학회지*, 11(2): 171-179.